

**UNIVERSIDADE VILA VELHA - ES
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL**

**AVALIAÇÃO DAS TAXAS DE PREENHEZ, NASCIMENTO E ABORTO EM
NOVILHAS NELORE VACINADAS CONTRA IBR, BVD E LEPTOSPIROSE**

GABRIELA MIGLIO COSTA

**VILA VELHA
AGOSTO / 2019**

UNIVERSIDADE VILA VELHA - ES
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

**AVALIAÇÃO DAS TAXAS DE PRENHEZ, NASCIMENTO E ABORTO EM
NOVILHAS NELORE VACINADAS CONTRA IBR, BVD E LEPTOSPIROSE**

Dissertação apresentada à Universidade Vila Velha, como pré-requisito do Programa de Pós-graduação em Ciência Animal, para a obtenção do título de Mestra em Ciência Animal.

GABRIELA MIGLIO COSTA

VILA VELHA
AGOSTO / 2019

Catálogo na publicação elaborada pela Biblioteca Central / UVV-ES

C838a Costa, Gabriela Miglio.
Avaliação das taxas de prenhez, nascimento e aborto em novilhas nelore vacinadas contra ibr, bvd e leptospirose / Gabriela Miglio Costa – 2019.
37 f. : il.

Orientadora: Bárbara Loureiro.
Dissertação (mestrado em Ciência Animal)
Universidade Vila Velha, 2019.
Inclui bibliografias.

1. Medicina veterinária. 2. Nelore (bovino). 3. Puberdade.
3. Gado - Doenças. I. Loureiro, Bárbara. II. Universidade Vila Velha. III. Título.

CDD 636.89

GABRIELA MIGLIO COSTA

**AVALIAÇÃO DAS TAXAS DE PRENHEZ, NASCIMENTO E ABORTO
EM NOVILHAS NELORE VACINADAS CONTRA IBR, BVD E
LEPTOSPIROSE**

Dissertação apresentada à Universidade Vila Velha, como pré-requisito do Programa de Pós-graduação em CIÊNCIA ANIMAL, para a obtenção do grau de Mestra em CIÊNCIA ANIMAL.

Aprovado (a) em 30 de agosto de 2019,

Banca Examinadora:



Prof. Dr. Fernando Luiz Tobias (UVV)



Prof. Dr. Odael Spadeto Junior (UVV)



Prof. Dra. Bárbara Loureiro (UVV)

Orientadora

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer primeiramente a Deus, que esteve sempre ao meu lado em todas as etapas da minha vida e que me permitiu realizar mais uma conquista.

Aos meus pais que nunca mediram esforços para que eu conquistasse meus sonhos. Obrigada por toda educação, apoio, companheirismo durante toda minha trajetória. Tudo que sou hoje é por causa de vocês.

Aos meus familiares que me apoiaram e que se orgulham de mim por mais esta conquista.

Aos meus amigos que compreenderam meus momentos de ausência durante esse período e que sempre acreditaram em mim.

À minha orientadora Barbara Loureiro, que aceitou me orientar, que sempre esteve disponível quando eu precisei. Obrigada por sempre tirar todas minhas dúvidas e por todos os aprendizados.

Ao professor Mauricio Favoreto, que me ajudou na realização dos experimentos e que sempre esteve presente durante meus estudos.

Ao Renato Viera que me ajudou na realização deste experimento.

E a todos que eu não mencionei e que contribuíram de alguma forma para realização desta conquista.

Obrigada a todos!

SUMÁRIO

1-INTRODUÇÃO.....	7
2-REVISÃO DE LITERATURA.....	9
2.1 Puberdade	9
2.2 Diarreia Viral Bovina	11
2.3 Leptospirose	12
2.4 Rinotraqueíte infecciosa bovina	14
3- OBJETIVO	16
4- ARTIGO CIENTÍFICO	17
ABSTRACT	17
RESUMO	17
INTRODUÇÃO	18
MATERIAL E MÉTODOS	19
RESULTADOS	19
DISCUSSÃO.....	23
CONCLUSÃO.....	25
5- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	26

RESUMO

COSTA, GABRIELA MIGLIO, M.Sc, Universidade Vila Velha – ES, Agosto de 2019. **AVALIAÇÃO DAS TAXAS DE PREENHIZ, NASCIMENTO E ABORTO EM NOVILHAS NELORE VACINADAS CONTRA IBR, BVD E LEPTOSPIROSE.** Orientadora: Profa. Dra. Bárbara Loureiro.

A puberdade nas novilhas é um fator muito importante para o retorno econômico da fazenda. Novilhas que conseguem atingir a puberdade antes dos dois anos de idade terão um número maior de bezerros durante sua vida reprodutiva. Porém essa não é a realidade do Brasil, em muitas fazendas a idade do primeiro parto ocorre entre 36 a 44 meses de idade. Este atraso na puberdade está relacionado a alguns fatores como: nutrição, raça e genética. Outro fator que limita o desempenho da pecuária de corte são as falhas na reprodução, principalmente a mortalidade embrionária ligada as doenças reprodutivas. Dentre elas estão a brucelose bovina, neosporose bovina, rinotraqueíte infecciosa bovina (IBR), diarreia viral bovina (BVD), leptospirose, campilobacteriose. Estas doenças estão disseminadas em grande parte do rebanho bovino brasileiro, e tem um grande impacto na reprodução, pois causa infertilidade, morte embrionária e fetal. Medidas de prevenção como a vacinação ajudam a reduzir estas perdas embrionárias. Sabendo disso, este estudo teve como objetivo, avaliar o efeito da vacinação contra as doenças da BVD, IBR e leptospirose sobre a taxa de prenhez, nascimento e aborto em novilhas Nelore. Foram utilizadas 143 novilhas da raça Nelore, os animais eram criados a pasto (*brachiaria decumbens*), recebiam sal mineral e água *ad libitum* e todas as novilhas haviam sido previamente vacinadas contra brucelose. Os animais foram divididos aleatoriamente em dois grupos, um grupo controle (n=71) que não recebeu a vacinação e o outro grupo que recebeu a vacinação (n=72). Os animais foram subdivididos em < 296 kg e > 296 kg (média de peso geral). A vacina contra IBR/BVD/Leptospirose utilizada nesse experimento foi CattleMaster® 4+L5 (Zoetis). A primeira aplicação da dose da vacina no rebanho foi realizada 21 dias antes do início do protocolo de sincronização e a segunda dose foi realizada no dia zero (D0) do protocolo de sincronização do ciclo estral. Protocolo: D0: aplicação de 2mg de benzoato de estradiol e inserção do implante intravaginal de P4. D8: 0,5mg de cipionato de estradiol, 12,5 mg de dinoprost trometamina, 300 UI de gonadotrofina coriônica equina e foi retirado o dispositivo intravaginal de P4; D10: realizada a IATF. Os animais foram pesados no dia da 1ª e 2ª dose da vacinação. A taxa de prenhez foi avaliada no D30 após IATF por exame de ultrassonografia. As taxas de nascimento e aborto foram calculadas após o parto. Os resultados foram analisados por regressão logística avaliando os efeitos da vacinação, peso e sua interação. As novilhas mais leves vacinadas apresentaram melhor taxa de prenhez quando comparadas as novilhas mais leves não vacinadas (51,25% vs 30,23%; P = 0,056). Entretanto, não houve diferença na taxa de nascimento entre os grupos vacinados ou não vacinados e entre as novilhas mais leves ou mais pesadas.

Palavras chaves: Doenças reprodutivas, puberdade, vacinação

ABSTRACT

COSTA, GABRIELA MIGLIO, M.Sc, University of Vila Velha – ES, August of 2019. **Pregnancy, birth and abortion rates in Nelore heifers vaccinated against BVD, IBR and leptospirosis.** Advisor: Profa. Dra. Bárbara Loureiro.

Puberty in heifers is a very important point for economy's farm. Heifers who are able to reach puberty before two years old, will have a greater number of calves during their reproductive life. However, this isn't the reality in. In many farms, the age of first birth occurs around 36 to 44 months. Are known to interfere on puberty delay, factors like age, nutrition, race and genetics. Other factor that disturb cattle growth are failures in the reproduction process, mainly embryonic mortality associate to reproductive diseases. Among them are included bovine brucellosis, bovine neosporosis, infectious bovine rhinotracheitis (IBR), bovine viral diarrhea (BVD), leptospirosis, campylobacteriosis. These diseases are disseminated in most of the Brazilian cattle herd, and have a great impact on reproduction, as they cause infertility, embryonic and fetal death. Preventive measures such as vaccination help to reduce embryonic losses. Knowing this, this study aimed to evaluate the effect of vaccination on pregnancy rates, birth rate and pregnancy losses in Nelore heifers against BVD, IBR and leptospirosis diseases. Were used 143 Nelore heifers, the animals were created to pasture (*brachiaria decumbens*), received mineral salt and water *ad libitum* and all heifers were vaccinated for brucellosis. The animals were randomly divided into two groups, a control group (n = 71) that did not receive the vaccination and the other group that received the vaccination (n = 72). The animals were randomly subdivided into < 296 kg or > 296 kg (296 kg was the average weight of the group). The IBR / BVD / Leptospirosis vaccine used in this experiment was CattleMaster® 4 + L5 (Zoetis). The first application of the vaccine to the herd was executed 21 days before the initiation of the estrus synchronization protocol and the second dose was performed on day zero (D0) of the protocol. Protocol: D0: 2mg estradiol benzoate application and intravaginal P4 implant insertion. D8: 0.5 mg estradiol cypionate, 12.5 mg dinoprost tromethamine, 300 IU equine chorionic gonadotropin and intravaginal P4 device was removed; D10: performed fixed-time artificial insemination (FTAI). Pregnancy rate was evaluated on D30 after FTAI by ultrasound examination. Birth and abortion rates were calculated after birth. The animals were weighed on the day of the 1st and 2nd vaccination doses. Difference in pregnancy rate was observed in lighter vaccinated heifers when compared to lighter unvaccinated heifers (51,25% vs 30,23%; P = 0,056).

Keywords: reproductive disease, puberty, vaccination

1. INTRODUÇÃO

Os países que investem em melhorar a precocidade sexual das fêmeas, conseguem antecipar a puberdade das novilhas Nelores antes dos dois anos de idade (Wolfe et al., 1990). Com isso, as novilhas entram em reprodução, possibilitando o nascimento de um número maior de bezerros na vida produtiva (Abud, 2011). No Brasil poucos proprietários conseguem antecipar a puberdade das novilhas, fatores como: nutrição, raça e composição genética são características importantes para que a precocidade aconteça (Cardoso et al., 2007).

Na pecuária bovina de corte, o manejo reprodutivo precisa ser eficiente, pois, para uma boa parte dos produtores, a renda é determinada pelo número de bezerros comercializados, então, os insucessos de prenhez representam um fator econômico importante dentro de uma fazenda (Santos et al., 2004). Produtores de gado leiteiro também precisam desenvolver um manejo reprodutivo eficiente, conseqüentemente, para que suas vacas tenham o ciclo de lactação renovado, elas precisam estar prenhas (Lucy, 2001).

A falha na reprodução é um dos mais importantes fatores que limita o desempenho da pecuária de corte brasileira (Silva et al., 2005). Entre os principais problemas de falha reprodutiva nos bovinos destacam-se os erros de: manejo inadequado, infertilidade das vacas ou dos touros, problemas hormonais, nutrição, estresse térmico e mortalidade embrionária. Acredita-se, que a mortalidade embrionária seja o principal contribuinte para essa perda (Diskin et al., 2008). Durante a gestação, a mortalidade embrionária pode ocorrer precocemente (antes do 28º dia de gestação) ou tardiamente (após o 28º dia de gestação) (Pohler et al., 2016).

A mortalidade embrionária em bovinos, tem um impacto econômico significativo para os produtores (Berg, 2007). Segundo Kirk (2003), no Chile um abortamento tardio pode custar entre 500 e 900 dólares, dependendo do valor das novilhas de reposição, da alimentação e do estágio da gestação em que ocorre. No Brasil, cerca de 90 milhões de fêmeas são destinadas a reprodução, e as perdas associadas à morte embrionária, causam muito prejuízo financeiro para os produtores. (Anuário da Pecuária Brasileira, 2011). Segundo Wiltbank et al. (2016), em fazendas leiteiras as perdas embrionárias precoces podem chegar entre 25 – 40 % dependendo da fazenda e as perdas tardias podem chegar a 12%.

Grande parte das perdas gestacionais em bovinos estão associadas a algumas doenças, dentre elas, a brucelose bovina, neosporose bovina, rinotraqueíte infecciosa bovina (IBR), diarreia viral bovina (BVD), leptospirose, campilobacteriose (Enright, 1994; Dubey et al., 1996; Khodakaram-Tafi et al., 2005; McEwan et al., 2005; Riet et al., 2007).

Dentre essas doenças destacam-se a IBR, BVD e a Leptospirose, elas estão presentes em uma grande parte dos rebanhos bovinos e tem um impacto muito grande na reprodução (Junqueira et al., 2006), causando infertilidade, morte embrionária e fetal (Kelling 2007; Mineiro et al., 2007).

O controle dessas doenças infecciosas depende de alguns princípios básicos, como reduzir a transmissão entre animais infectados e saudáveis, além de eliminar o reservatório do patógeno (Walz et al., 2010). Porém, essas doenças que causam falhas reprodutivas são multifatoriais e complexas, o que dificulta o entendimento da patogenia e de métodos de controle e erradicação (McGowan et al., 1993).

Medidas de prevenção devem ser sempre priorizadas e a vacinação regular dos animais é uma medida importante nos programas de prevenção de doenças, podendo alcançar níveis variados de proteção, desde a redução dos patógenos e transmissão, até a prevenção e erradicação (Cerri et al., 2009; Drunen, 2006). Sabendo disso, este estudo

teve por objetivo, avaliar o efeito da vacinação sobre a taxa e perdas de prenhez em novilhas Nelores contra as doenças da BVD, IBR e leptospirose.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Puberdade

No Brasil a idade ao primeiro parto é considerada tardia, ocorrendo cerca de 36 a 44 meses de idade (Nepomuceno et al., 2017). Essa idade elevada pode ser resultado do sistema de criação dos bovinos, geralmente a pasto. Na maioria das vezes, estes animais não conseguem expressar todo seu potencial produtivo e reprodutivo, devido a sazonalidade da produção de forragens, manejo deficiente de pastagens e mudanças climáticas (Nepomuceno, 2013). Já em outros países como os Estados Unidos, essa idade é reduzida, pois eles conseguem antecipar o início da vida reprodutiva das novilhas entorno de 14 a 18 meses de idade, devido ao sistema de criação que investe no manejo nutricional, qualidade da forrageira e genética do rebanho (Eler et al., 2002).

A idade que se inicia a puberdade tem um efeito importante sobre a eficiência produtiva, reprodutiva e econômica do rebanho bovino. O primeiro parto em idades mais avançadas está associado a perdas econômicas em gado leiteiro e de corte (Monteiro et al, 2013). Em uma fazenda de cria de bovinos essa redução de idade é um fator muito importante para viabilidade econômica (Nunez-Dominguez et al., 1991), pois maiores taxas de fertilidade e precocidade sexual resultam em um número maior de bezerros e, conseqüentemente, maior rotatividade de produção e maior lucro para o produtor (Martín et al., 2003). Segundo Eler et al. (2002), a antecipação da puberdade de três anos para dois anos em gado Nelore aumentaria em 16 % o retorno econômico da propriedade.

A puberdade em novilhas é quando ocorre o início da atividade ovariana, resultando na manifestação de estro, associado a uma ovulação e seguido pela formação de um corpo lúteo (CL) (Peters et al, 1987). O processo gradual que sucede à puberdade é chamado de maturação sexual, ela se dá pelo aumento da manifestação de estro e da fertilidade (Byerley et al., 1987). Já a precocidade sexual é quando o animal consegue atingir uma proporção do seu peso adulto, com isso consegue antecipar a puberdade (Delgado et al, 2000).

Quando o animal nasce, alguns mecanismos evitam a ativação do sistema endócrino reprodutivo antes do tempo, permitindo a continuidade do crescimento e desenvolvimento do animal (Patterson et al, 1992). Acredita-se que o momento ideal para que as fêmeas bovinas comecem a vida reprodutiva é quando elas alcançam cerca de 60-65 % do peso vivo comparada às fêmeas adultas, esse peso possibilita o gasto energético com gestação, parto e lactação (Barcellos et al, 2001).

Para que a puberdade ocorra é necessário uma série de eventos hormonais, eles são controlados por interações entre o sistema nervoso central, hipófise e o ovário. O hormônio liberador de gonadotrofina (GnRH) é liberado pelo hipotálamo e estimula a liberação dos hormônios folículo estimulante (FSH) e o luteinizante (LH) que são produzidos pela neurohipófise (Foster et al., 1999). Eles são responsáveis por produzir 17 β -estradiol e a progesterona nos ovários (Kinder et al., 1987). À medida que o sistema nervoso central começa a perceber as mudanças hormonais, a sensibilidade aos esteroides e aos neuro-opioides é diminuída, ocorrendo um aumento na liberação pulsátil do LH (Day et al., 1987), essa frequência dos pulsos vai estimular o aumento da produção de estradiol folicular, com isso, vai ocorrer o primeiro pico pré-ovulatório, seguido da ovulação. Além desses hormônios, a nutrição, peso corporal, genética e bioestimulação são importantes para que a puberdade aconteça (Kinder et al., 1995).

A nutrição é o fator mais importante para as novilhas atingirem a puberdade (Paulino et al., 2004), alguns nutrientes são responsáveis por regular vários hormônios que estão ligados a reprodução (Schillo et al., 1992). Dentre eles está a leptina, que é um hormônio produzido principalmente pelos adipócitos (Portocarrero et al, 1998), sua função vai ser regular o consumo alimentar e o balanço energético pelo estado nutricional do

animal (Halaas et al, 1998). A leptina também é expressa em outros tecidos, como hipotálamo, hipófise, tecidos fetais, glândula mamaria, epitélio gástrico e musculatura esquelética (Bado et al, 1998; Yuen et al., 2002).

Em um estudo realizado por Amstalden et al. (2000), em novilhas perto da puberdade, foi observado que a restrição alimentar diminuiu a expressão do gene da leptina, reduzindo a secreção da pulsátil do LH, devido à elevada sensibilidade ao estradiol e à falta do sinal de GnRH. Nagatani et al. (2000), deixou alguns ovinos sob restrição alimentar e percebeu que a secreção de GH e de LH é modulada pela leptina, isso indica que este hormônio leva informações sobre o estado nutricional para os mecanismos que controlam a função reprodutiva em ruminantes por meio de fatores neuroendócrinos.

Outro hormônio que atua regulando a função reprodutiva é a grelina, que atua como antagonista da leptina na regulação do consumo alimentar. A grelina vai estimular o consumo de alimento e a leptina vai estimular a saciedade (Cummings et al, 2001). Ainda são poucos os estudos que explicam o mecanismo de ação da grelina na reprodução. Sabe-se que sua principal atuação é nos testículos e nos ovários (Tanaka., 2001; Gaytan et al., 2003). A grelina em ratas suprimiu a secreção de LH, enquanto a secreção do FSH não foi alterada, e em machos foi capaz de inibir a testosterona testicular (Fernandez-Fernandez et al., 2004).

A nutrição adequada é fundamental para ter bons índices reprodutivos, caso contrário, os índices serão baixos. Com isso, o reinício da atividade ovariana, a puberdade e maturidade sexual serão atrasadas. A puberdade em novilhas de corte é mais influenciada pela taxa de crescimento no período pré-desmama do que pela taxa de crescimento na fase pós-desmama (Vaz et al, 2012). Segundo um estudo com novilhas mestiças de Brahman realizado por Wiltbank et al. (1985), os animais que obtiveram maior taxa de crescimento no período pré-desmama atingiram a puberdade mais precocemente e com maior peso do que o lote que apresentou crescimento mais lento.

Um estudo realizado por Miguel 2013 constatou que novilhas nelores que receberam suplementação durante o período de pré-desmame tiveram um peso maior do que as novilhas que não foram suplementadas (398 vs 361 kg). Essa suplementação fez com que as novilhas mais pesadas antecipassem a puberdade para os 17 meses, e as que não foram suplementadas a puberdade ocorreu com 20 meses. Essa influência da dieta na antecipação da puberdade também foi constatada por Bergfel 1994 ele realizou um experimento com novilhas de corte onde as novilhas suplementadas apresentaram peso de 263 vs. 221 kg das não suplementadas e a idade na puberdade de 12,4 vs 14,5 meses.

Além da nutrição a genética é importante na manifestação da puberdade, muitas vezes a identificação das novilhas precoces ficam comprometidas, porque alguns produtores pré-determinam a idade ou o peso como condição para o início da vida reprodutiva, não levando em conta a influência dos programas de melhoramento genético para reduzir a idade à puberdade (Dias et al., 2004). O melhoramento genético, pode ser feito por meio de seleção, sistema de acasalamento e cruzamento (Júnior et al., 2016).

Para que ocorra a seleção das matrizes e touros para o melhoramento genético, é necessário ter avaliação de alguns parâmetros como: peso ao nascimento, a desmama, abate, circunferência escrotal, propensão materna, escore de musculabilidade e de carcaça (Sousa et al., 2012). Estudos têm demonstrado que as fêmeas obtidas por meio de cruzamentos são mais precoces na manifestação do primeiro cio e são as mais pesadas durante a desmama em comparação com raças puras (Restle et al., 1999).

Morris et al. (1997) mostraram a importância do melhoramento genético sobre a idade da puberdade em novilhas da raça Angus. Novilhas obtidas de um rebanho selecionado para precocidade sexual anteciparam a puberdade em 81 dias, estando 18 % mais leves do que as novilhas originadas de um rebanho sem um programa de seleção

para essa característica. Em um estudo Restle et al. (1999), testou o efeito genético e a heterose sobre a idade e peso à puberdade de novilhas de corte (Nelore e Charolês). Ele pode observar que em todas as idades avaliadas a média do peso das novilhas cruzadas foi superior à média das novilhas puras. Quanto à idade à puberdade foi constatado que as cruzadas foram em média 89 dias mais precoces na manifestação do primeiro cio, e tiveram uma taxa de prenhez 98,5% versus 73,9% nas raças puras.

Outro fator que pode ser levado em conta para antecipação da puberdade em novilhas é a bioestimulação ou o chamado “efeito-touro”. O touro tem função de estimular a atividade reprodutiva das fêmeas pela ativação do eixo HHG, sendo esse estímulo através dos feromônios ou fisicamente (Chenoweth, 1983; Quadros et al., 2004). Quando novilhas da raça Nelore foram estimuladas com touro 66 % ficaram prenhes versus os 25 % de taxa de prenhez para os animais não estimulados (Soares et al., 2008 e Oliveira et al., (2009).

A resposta das novilhas ao estímulo do macho vai variar dependendo da idade e das condições corporais das novilhas (Silva et al., 2018). A bioestimulação é uma técnica alternativa para alguns produtores, principalmente em regiões onde há dificuldades de alimento, o que melhoraria a taxa de prenhez dessas novilhas no final da estação reprodutiva (Oliveira et al., 2009).

2.2. Diarreia Viral Bovina

A diarreia viral bovina (BVD) é uma importante doença infecciosa na maioria dos países produtores de gado, sendo responsável por grande impacto econômico (Scharnböck et al., 2018). A BVD é uma doença contagiosa, causada pelo vírus da diarreia viral bovina (BVDV), pertencente ao gênero Pestivirus, da família Flaviviridae e possui dois genótipos BVD tipo 1 e tipo 2 (Göktuna et al., 2016).

No Brasil, o BVDV foi isolado pela primeira vez em 1974, através de amostras de soro bovino colhidas em abatedouros. Vários estudos foram desenvolvidos posteriormente e nos últimos anos, tem-se observado soroprevalência da infecção pelo BVDV em diferentes países do mundo que variam de 18 a 93 % (Tan et al., 2006; Duong et al., 2008). Em um estudo, Chaves et al. (2010) coletou 400 amostras de soro na região amazônica maranhense, sendo esses, de fêmeas bovinas leiteiras não vacinadas contra o BVDV. O estudo sorológico revelou que 61,5 % (n= 246) das amostras apresentaram anticorpos contra o BVDV, semelhante aos 66,32 % encontrado por Quincozes et al. (2007), no estado do Rio Grande do Sul.

O BVDV é dividido em biótipos não citopatogênicos (ncp) e citopatogênicos (cp). O biótipo citopatogênico é capaz de induzir apoptose e morte celular com efeito citopático visível em cultivos celulares (Gamlen et al., 2010.) O BVDV não citopatogênico, não tem capacidade de produzir efeito citopático em cultivos celulares. Ele é responsável pela maioria das infecções agudas e pode ser transmitido através de fluidos corporais, incluindo corrimento nasal, urina, leite, sêmen, saliva, lágrimas e fluidos fetais (Meyling et al., 1990). Os animais PIs podem apresentar a doença da mucosa (DM). Ela é causada pelo biótipo NCP de BVDV, que sofrem uma superinfecção com uma estirpe homóloga do biótipo CP do vírus (Baker, 1995). O vírus CP é, geralmente, originado a partir de mutações ou recombinações genéticas do biótipo NPC do próprio animal. A DM ocorre principalmente em animais entre seis meses e dois anos de idade e é fatal (Flores et al., 2005).

As manifestações clínicas desta doença variam desde aborto, falha reprodutiva, imunossupressão, retardo de crescimento, doença da mucosa até infecções secundárias (Lanyon et al., 2014). O BVDV infecta tecidos reprodutivos e interfere no desenvolvimento folicular e embrionário (Grooms, 2004; Grooms et al., 2007). Caso a infecção ocorra aos 110-120 dias, e a gestação se estenda até o parto, é comum o

nascimento de bezerros com deformidades congênitas, natimortos, fracos, débeis, prematuros e com alterações no crescimento (Groom, 2004).

Além da redução da eficiência reprodutiva, o BVDV utiliza o sistema reprodutivo para disseminar-se na população bovina, induzindo a imunotolerância após a infecção fetal, culminando no nascimento de bezerros persistentemente infectados (PI). O contato dos bovinos PI com bovinos não infectados, são a principal fonte de disseminação do vírus, visto que, alguns animais PI são clinicamente saudáveis o que dificulta sua identificação e eliminação do rebanho (Grooms, 2004; Moennig et al., 1995).

Existe a forma de transmissão indireta do BVDV, que se dá por meio de agulhas, pinças, palpação retal, alimentos e água (Gunn, 1993). Embora esses mecanismos de transmissão sejam bem reconhecidos, sua importância prática, em relação à transmissão entre rebanhos, não pode ser considerada tão significativa quanto a transmissão por animais infectados (Lindberg et al., 1999).

Os métodos diagnósticos indiretos, são empregados pela sua praticidade e baixo custo, baseando-se na detecção de anticorpos contra o BVDV no soro ou no leite dos animais. Podem ser quantitativos ou qualitativos. As técnicas mais usadas são a soroneutralização viral (SN) e o ELISA.

Os métodos diagnósticos diretos, baseiam-se na detecção do BVDV ou de seus componentes (proteínas e ácidos nucléicos), e constituem a forma mais objetiva de diagnóstico da infecção. Os mais usados são o isolamento do BVDV em cultivos celulares, a detecção de antígenos virais através das técnicas de imunofluorescência, imunoperoxidase ou ELISA, a detecção de ácidos nucléicos virais através das técnicas de hibridização e PCR (Lanyon et al., 2014).

Algumas medidas podem ser tomadas para o controle e erradicação do BVDV nos rebanhos bovinos, dentre elas a vacinação, eliminação de animais positivos, identificação e eliminação de animais PI, monitoramento do sêmen utilizado e controle rigoroso dos animais que entram na propriedade (Lindberg et al., 2010). As vacinas têm como objetivo proteger os animais da doença, diminuir a circulação do vírus e tentar impedir a transmissão transplacentária e infecção fetal (Van Oirschot et al. 1999).

Arenhart et al. (2008) realizou um estudo experimental no Brasil, usando vacas mistas, para testar a capacidade da vacinação em proteger os fetos da infecção causada pelo BVDV. Ele inoculou o BVDV em vacas gestantes e observou que o grupo não vacinado apresentou uma taxa de aborto de 41 %, enquanto o grupo vacinado apresentou 5 % de aborto, ou seja, a vacina apresentou 90 % de proteção fetal. Frey et al. (2002) realizou um experimento semelhante, onde inoculou o vírus em novilhas gestantes. Todas as novilhas do grupo vacinado deram a luz a bezerros clinicamente saudáveis e soronegativos para BVDV. Já no grupo não vacinado, 67 % dos bezerros nasceram infectados e os outros 33 % nasceram mortos. Já Pence (2005) estudou alguns casos de BVD em rebanhos da Geórgia e percebeu que a reprodução estava sendo afetada por causa do vírus. Em um rebanho de vacas prenhas a taxa de aborto precoce chegou a 23 %

Existem dois tipos principais de vacinas contra o BVDV: as vacinas inativadas e as vacinas vivas modificadas (Van Oirschot et al. 1999, Fulton et al. 2003). As vacinas inativadas são formuladas com uma ou mais cepas do vírus, geralmente induzem níveis moderados de anticorpos. As vacinas vivas modificadas geralmente produzem imunidade mais sólida e duradoura, porém, são potencialmente patogênicas para o feto e não deverão ser administradas em vacas gestantes. (Bolin 1995, Van Oirschot et al. 1999).

2.3. Leptospirose

A leptospirose é uma doença zoonótica que afeta animais domésticos, selvagens e humanos, de distribuição global. O agente etiológico da leptospirose é uma bactéria pertencente à ordem Spirochaetales, família Leptospiraceae e gênero *Leptospira*.

Existem aproximadamente 300 sorotipos de *Leptospira* spp., divididos em 28 grupos (Mori et al., 2017). Foi descrita pela primeira vez por Adolf Weil, em 1886, e isolada anos depois (1915) por Inada e Ido no Japão (Steele et al., 1957). No Brasil várias pesquisas foram feitas em diferentes lugares e constataram que as leptospiroses mais relatadas são os sorovares hardjo e wolffi. (Saito et al., 2013, Pimenta et al., 2014).

A prevalência da bactéria é maior em regiões de clima tropical e subtropical, devido a maior sobrevivência das leptospiroses em ambientes quentes e úmidos. Fatores como suscetibilidade do indivíduo e adaptação ao microrganismo, determinam a gravidade da doença (Vijayachari et al. 2008). As leptospiroses colonizam os túbulos renais proximais de vários mamíferos e são excretadas de forma intermitente na urina dos portadores. A transmissão da leptospirose ocorre principalmente pela exposição à água ou solo contaminados pela urina de animais infectados ou pelo contato direto com animais infectados (Picardeau, 2013).

Campos et al. (2017) realizou uma pesquisa no estado do Piauí onde coletou amostras de soro, sendo 336 de ovinos, 292 de caprinos e 253 de bovinos, totalizando 882 animais de novembro de 2013 a março de 2015. A prevalência em bovinos, ovinos e caprinos corresponderam a 50,5, 40,5 e 34,6 %, respectivamente. Os sorovares que predominaram em bovinos foram o Hardjo / Wolffi.

Mesmo sendo uma doença de suma importância, a leptospirose é, muitas vezes, ignorada por falta de informações e conscientização sobre sua gravidade (Balamurugan et al., 2017). A Leptospirose causa muitos prejuízos econômicos na pecuária, embora o real risco econômico seja difícil de ser determinado. Há relato de um surto na Argentina onde o proprietário teve prejuízos de US\$ 150.000,00 considerando a morte de 100 bezerros e o tratamento dos sobreviventes (Draghi et al., 2011).

A patogenicidade da leptospira inclui a penetração ativa dos microrganismos pelas mucosas, pele escarificada ou íntegra. Vencidas as barreiras da porta de entrada, as leptospiroses multiplicam-se no espaço intersticial e nos humores orgânicos (sangue, linfa e líquido), caracterizando um quadro agudo septicêmico denominado de leptospirose (Simões et al., 2016).

Sua manifestação clínica pode ocorrer de forma aguda, ocorrendo febre, hemoglobinúria, podendo ocorrer raramente aborto, porém na maioria dos casos é considerada inaparente. Na forma crônica apresentam leptospirose, infertilidade, abortos, geralmente ocorridos no terço final de gestação, distúrbios reprodutivos como retenção de placenta, natimortalidade, alterações congênitas, nascimento de bezerros fracos, redução na produção de leite, aumento do intervalo entre partos e subfertilidade, sinais que refletem diretamente na eficiência reprodutiva do animal (Ellis, 1994 ; Langoni et al., 1999 ; Pereira et al., 2013).

A associação de testes sorológicos como o teste de aglutinação microscópica, o teste de triagem (detecção de rebanhos sororeativos) e posterior análise de urina por PCR (abordagem individual), foi considerada adequada para detecção de portadores renais de leptospiroses em bovinos (Otaka et al., 2012).

A prevenção da leptospirose é de suma importância, para que isso aconteça é necessário tomar medidas como controlar os roedores, os quais são os maiores disseminadores do agente etiológico; tratar os animais doentes evitando a contaminação ambiental, medidas de higiene, eliminação do excesso de água estagnada no ambiente e vacinação do rebanho. A vacinação é muito importante pois pode proporcionar imunidade humoral aos animais, protegendo-os e impedindo que a enfermidade seja transmitida entre animais e seres humanos. (Martins et al., 2017).

As vacinas disponíveis no mercado brasileiro, em sua maioria, se caracterizam por serem culturas de leptospiroses inativadas acrescidas de adjuvantes (Langoni et al. 1999). Geralmente essas vacinas são produzidas com os sorovares que tem maior prevalência nos estudos efetuados no país (Siddique et al., 1990). Entre os sorovares

mais utilizados encontram-se o hardjo, wolffi, canicola, icterohaemorrhagiae, pomona, grippotyphosa e Bratislava (Faine et al. 1999).

Dhaliwal et al (1996) testou um programa de vacinação para melhorar seus índices reprodutivos em rebanhos leiteiros que não recebiam vacinas para *Leptospira hardjo*. Ele constatou que as vacas que foram vacinadas apresentaram taxas de concepção de 48,8 vs 29,5 % de vacas não vacinadas e uma taxa de aborto de 5,2 vs 4,6 %. Já Langoni 'b' et al. (1999) investigou as causas de aborto em vacas Holandesas em Botucatu (SP), as vacas não tinham histórico de vacinação contra leptospirose. Ele constatou que 60 % dos fetos abortados tinham evidência de infecção por leptospirose.

2.4. Rinotraqueíte infecciosa bovina

O herpesvírus bovino 1 (BoHV-1) é o agente etiológico das síndromes clínicas que incluem a rinotraqueíte infecciosa bovina (IBR), a vulvovaginite pustulosa infecciosa (VPI), a balanopostite pustulosa infecciosa (BIP) e os distúrbios reprodutivos caracterizados por morte embrionária, fetal e neonatal (Winkler et al., 2000). O BoHV-1 é membro da subfamília Alphaherpesvirinae, família Herpesviridae (Newcomer et al., 2017). Ele pode ser diferenciado em subtipos que possuem duas cepas diferentes, o BoHV-1.1 que é mais virulento do que o BoHV-1.2. (Thiry et al., 2008).

No Brasil, o primeiro relato foi feito no estado da Bahia e em São Paulo (Alice, 1978; Mueller et al., 1978). No estado do Espírito Santo foram examinadas 1.161 amostras de soro sanguíneo de 59 rebanhos de bovinos leiteiros não vacinados contra BoHV-1. Foi diagnosticado anticorpos neutralizantes em 66,75 % dos soros analisados e 100 % dos rebanhos foram considerados positivos (Santos et al., 2014).

O vírus é causador de diversas síndromes clínicas em populações de bovinos ao redor do mundo e aparece listado como uma doença na Organização Mundial de Saúde Animal devido sua importância socioeconômica e de saúde pública (Newcomer et al., 2017; OIE, 2018). A gravidade da doença é influenciada por vários fatores, como a virulência da cepa de BoHV-1, fatores de resistência do hospedeiro - especialmente a idade - e infecção bacteriana concomitante (Kaashoek et al., 1996).

Os sinais clínicos variam, mas no sistema respiratório cursam com secreção nasal mucopurulenta, traqueíte, faringite, laringite e dispneia. No sistema reprodutor, é responsável pelo abortamento (entre o quinto e oitavo mês de gestação), infertilidade temporária, morte embrionária, lesões de oviduto, balanopostite e, caso não ocorra aborto, pode-se observar o nascimento de bezerras fracas ou natimortas. O animal infectado também pode ter lesão no sistema nervoso central e podem apresentar, inicialmente, incoordenação que progride para ataxia, depressão, excitação e tremor. Além disso, conjuntivite, lacrimejamento e fotofobia podem fazer parte do quadro. (Nandi, 2009; HIRSCH & FIGUEIREDO, 2006; Raaperi et al., 2012).

O BoHV-1 tem como principal reservatório o bovino, e a transmissão pode se dar de forma direta ou indireta. A forma direta é a mais relevante, principalmente em rebanhos criados de modo intensivo ou semi-intensivo, porque essa transmissão será via mucosas ou secreções (oculares, genitais, nasais, anexos fetais e sêmen) e inalação. É muito importante o monitoramento em leilões, confinamentos e exposições, pois são formas oportunistas de disseminação (Moreira et al., 2001; Radostits et al., 2007; Urbina et al., 2005).

A transmissão indireta, ocorre principalmente por aerossóis e fômites. O vírus pode sobreviver até um ano no sêmen congelado a - 196 °C, portanto, a inseminação artificial (IA) tem uma grande importância na disseminação da doença em rebanhos saudáveis (Takiuchi et al., 2001; Edwards et al, 1991).

O teste padrão para a identificação de BoHV-1 é através do isolamento viral em cultivo celular. Esse teste apresenta uma desvantagem na coleta, porque o material clínico precisa estar bem conservado, já que a técnica exige a presença de partículas

virais viáveis (Kirkbride, 1992). O teste de ELISA, soroneutralização viral e PRC podem ser utilizados como outros métodos de diagnósticos (Bashir et al., 2011).

Não existe tratamento específico para BoHV 1, portanto, o controle e a profilaxia da IBR são fundamentais para evitar prejuízos. Algumas medidas básicas como deixar os animais recém-chegados de quarentena antes de introduzir ao rebanho, avaliar a qualidade do sêmen, manejo sanitário, eliminação de animais soropositivos e vacinação de todo rebanho podem ser utilizadas para evitar a contaminação ou disseminação da infecção (Ackermann, 2006; Newcomer et al., 2017).

As vacinas que estão disponíveis no Brasil contra o BoHV-1 são as inativadas e as termossensíveis (atenuada), geralmente essas vacinas são formuladas em associação com outros antígenos, como a BVD tipo I e II, PI3, BRSV e *Leptospira spp* (Pituco, 2009). As vacinas inativadas apresentam vantagens frente às atenuadas, por não possibilitar a replicação viral vacinal no organismo do animal, dessa forma é segura para o uso em vacas prenhas, pois não apresentam o risco de supressão imunológica, aborto ou infecção latente pela cepa vacinal (Jones et al., 2011).

As vacinas atenuadas permitem a replicação viral vacinal no organismo do animal, com isso quando aplicadas em vacas gestantes elas abortam. Porém, existem as vacinas atenuadas com vírus vivo mutante termossensíveis, elas impedem a replicação do vírus em temperaturas próximas à temperatura corporal, consequentemente permitem que a gestação continue (Zygraich et al., 1974).

Zimmerman et al. (2007) realizou um estudo onde avaliou a eficácia de uma vacina inativada na proteção contra o aborto induzido pelo BoHV-1. As novilhas foram divididas em dois grupos, um que recebeu a vacina 30 a 60 dias antes da inseminação e outro grupo não recebeu a vacina. Após 180 dias de gestação o vírus foi inoculado nas novilhas e as novilhas vacinadas apresentaram 85,7 % de proteção e as novilhas não vacinadas apresentaram 100 % de abortamento. Newcomer et al. (2017) fez uma meta-análise de 15 estudos na prevenção do aborto em bovinos após a vacinação contra o BoHV-1. Foram avaliadas 7536 gestações entre os grupos vacinados e não vacinados. No grupo vacinado o risco de aborto diminuiu cerca de 60 %.

3. OBJETIVO

O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito da vacinação contra as doenças da BVD, IBR e leptospirose sobre a taxa de prenhez, nascimento e aborto em novilhas Nelores separadas por pesos (≤ 296 e ≥ 296 kg).

4. ARTIGO CIENTÍFICO

O artigo científico foi confeccionado seguindo as instruções aos autores estabelecidas pela revista Pesquisa Veterinária Brasileira (PVB).

AVALIAÇÃO DAS TAXAS DE PRENHEZ, NASCIMENTO E ABORTO EM NOVILHAS NELORE VACINADAS CONTRA IBR, BVD E LEPTOSPIROSE

Costa, Gabriela M.; Favoreto, Maurício G.; Faria, Renato; Loureiro, Bárbara

RESUMO

Um fator que limita o desempenho da pecuária de corte são as falhas na reprodução, principalmente a mortalidade embrionária ligada as doenças reprodutivas como brucelose bovina, neosporose bovina, rinotraqueíte infecciosa bovina (IBR), diarreia viral bovina (BVD), leptospirose, campilobacteriose. Novilhas são mais susceptíveis a infecções, pois seu sistema imune ainda não é capaz de gerar uma boa resposta contra os agentes infecciosos. Medidas de prevenção como a vacinação ajudam a reduzir essas perdas embrionárias. Sabendo disso, este estudo teve por objetivo, avaliar o efeito da vacinação sobre a taxa e perdas de prenhez em novilhas nelores contra as doenças da BVD, IBR e leptospirose. Foram utilizadas 143 novilhas da raça Nelore, os animais eram criados a pasto (*brachiaria decumbens*), recebiam sal mineral e água *ad libitum* e todas as novilhas eram vacinadas contra brucelose, raiva, clostridiose e febre aftosa. Os animais foram divididos aleatoriamente em dois grupos, um grupo controle (n=71) que não recebeu a vacinação e o outro grupo que recebeu a vacinação (n=72). Os animais foram subdivididos em < 296 kg e > 296 kg (média de peso geral). A vacina contra IBR/BVD/Leptospirose utilizada nesse experimento foi CattleMaster® 4+L5 (Zoetis). A primeira aplicação da dose da vacina no rebanho foi realizada 21 dias antes do início do protocolo de sincronização e a segunda dose foi realizada no dia zero (D0) do protocolo de sincronização do ciclo estral. Os animais foram pesados no dia da 1ª e 2ª dose da vacinação. A taxa de prenhez foi avaliada no D30 após IATF por ultrassonografia. As taxas de nascimento e aborto foram calculadas após o parto. Os resultados foram analisados por regressão logística avaliando os efeitos da vacinação, peso e sua interação. As novilhas mais leves vacinadas apresentaram melhor taxa de prenhez quando comparadas as novilhas mais leves não vacinadas (51,25% vs 30,23%; P = 0,056). Entretanto, não houve diferença na taxa de nascimento entre os grupos vacinados ou não vacinados e entre as novilhas mais leves ou mais pesadas. Foi observado um aumento na taxa de aborto nas novilhas vacinadas, independente do grupo de peso, quando comparadas as não vacinadas (37,5% vs 8; P < 0,02).

Palavras-Chave: Bovinos, doenças, fertilidade, reprodução.

ABSTRACT

A limiting factor in the performance of beef cattle are failures in reproduction, especially embryonic mortality involving reproductive diseases such as bovine brucellosis, bovine neosporosis, infectious bovine rhinotracheitis (IBR), bovine viral diarrhea (BVD), leptospirosis, campylobacteriosis. Heifers are more susceptible to infections because their immune system is not yet able to generate a good response against infectious agents. Preventive measures such as vaccination help to reduce these embryonic losses. Knowing this, the present study aimed to evaluate the effect of vaccination on pregnancy rate and losses in Nelor heifers against BVD, IBR and leptospirosis diseases. Were used 143 Nelore heifers, the animals were created to pasture (*brachiaria decumbens*) and received mineral salt and water *ad libitum* and all heifers were vaccinated against brucellosis, rabies, clostridiosis and foot-and-mouth disease. The animals were randomly divided into two groups, a control group (n = 71) that did not receive the vaccination and the other group that received the vaccination (n = 72). The animals were randomly subdivided into < 296 kg or > 296 kg (296 kg was the average weight of the group).

The IBR / BVD / Leptospirosis vaccine used in this experiment was CattleMaster® 4 + L5 (Zoetis). The first application of the vaccine to the herd was executed 21 days before the initiation of the estrus synchronization protocol and the second dose was performed on day zero (D0) of the protocol. Protocol: D0: 2mg estradiol benzoate application and intravaginal P4 implant insertion. D8: 0.5 mg estradiol cypionate, 12.5 mg dinoprost tromethamine, 300 IU equine chorionic gonadotropin and intravaginal P4 device was removed; D10: performed fixed-time artificial insemination (FTAI). Pregnancy rate was evaluated on D30 after FTAI by ultrasound examination. Birth and abortion rates were calculated after birth. The animals were weighed on the day of the 1st and 2nd vaccination doses. Difference in pregnancy rate was observed in lighter vaccinated heifers when compared to lighter unvaccinated heifers (51,25% vs 30,23%; $P = 0,056$). However, no difference was seen in birth rate, regardless of weight group. A higher abortion rate was observed in vaccinated heifers when compared with non vaccinated heifers (37,5% vs 8; $P < 0,02$).

Keyword: Bovine, disease, fertility, reproduction.

INTRODUÇÃO

A puberdade é o início da atividade ovariana, acompanhada da ovulação e formação do corpo lúteo, ou seja, é o início da vida reprodutiva do animal (Peters et al., 1987). Este período é de suma importância, pois, novilhas precoces conseguem ter um retorno mais rápido do investimento e conseguem produzir um número maior de bezerros ao longo da sua vida (Short et al., 1994).

No Brasil a idade do primeiro parto é considerada tardia, ocorrendo entre 36 a 44 meses de idade (Nepomuceno et al., 2017). Muitas vezes o reflexo dessa idade avançada é devido ao manejo de criação das novilhas, onde a maioria é criada exclusivamente a pasto sem nenhum tipo de suplementação (Nepomuceno 2013). Devido ao efeito da sazonalidade da pastagem, os animais demoram mais tempo para entrar na puberdade (Pilau et al., 2009), visto que, o aporte nutricional do animal vai influenciar na liberação dos pulsos de LH, provavelmente pela modulação de GnRH no hipotálamo (Schillo et al., 1992). Em animais subnutridos a puberdade será afetada, pois não ocorrerá a liberação adequada de pulsos de LH e as novilhas terão uma baixa taxa de concepção (Patterson et al., 1992).

Outro fator que vai interferir na vida reprodutiva das novilhas é a sanidade (Nepomuceno 2013). Novilhas são mais susceptíveis a infecções, pois seu sistema imune ainda não é capaz de gerar uma boa resposta contra os agentes infecciosos (Mainar-Jaime et al., 2001). Doenças infecciosas como brucelose bovina, neosporose bovina, rinotraqueíte infecciosa bovina (IBR), diarréia viral bovina (BVD), leptospirose, campilobacteriose (Enright et al., 1994; Dubey et al., 1996; Khodakaram-Tafi et al., 2005; McEwan et al., 2005; Riet et al., 2007) afetam diretamente a reprodução, causando perdas gestacionais, infertilidade, morte embrionária e fetal (Kelling 2007; Mineiro et al., 2007).

Vários estudos têm mostrado que essas doenças já estão disseminadas em todo o rebanho bovino brasileiro (Junquera et al., 2006). Devido a isso, é importante que a propriedade tenha medidas estratégicas para prevenção e controle destas doenças (Drunen et al., 2006). Uma das medidas mais importantes é a vacinação regular dos animais, que atuará como um mecanismo de defesa no organismo contra agentes bacterianos e infecciosos (Hjerpe et al., 1990.)

Sabendo disso, este estudo teve por objetivo, avaliar o efeito da vacinação contra as doenças da BVD, IBR e leptospirose sobre as taxas de prenhez, nascimento e aborto em novilhas Nelores separadas por peso (≥ 296 ou ≤ 296 kg).

MATERIAL E MÉTODOS

Propriedade

O experimento foi realizado em uma propriedade localizada em Cariacica - Espírito Santo (20°13'27.9"S 40°22'11.6"W), entre os meses de março e julho de 2018.

Animais

Foram utilizadas 143 novilhas da raça Nelore com escore de condição corporal 3,0. Os animais eram criados a pasto (*Brachiaria Decumbens*) e recebiam sal mineral e água *ad libitum* e todas as novilhas já haviam sido vacinadas para brucelose, raiva, clostridiose e febre aftosa. Os animais foram divididos aleatoriamente em dois grupos, um grupo controle (n= 71) que não recebeu a vacinação e o outro grupo que recebeu a vacinação (n= 72). A vacina contra IBR/BVD/Leptospirose utilizada nesse experimento foi CattleMaster® 4+L5 (Zoetis). A primeira aplicação da dose da vacina no rebanho foi realizada 21 dias antes do início do protocolo de sincronização e a segunda dose foi realizada no dia zero (D0) do início do protocolo. Os animais foram pesados no dia da 1ª e 2ª dose da vacinação. As novilhas quando inseminadas apresentavam idades entre 13 a 20 meses, e pesos que variavam de 220 a 435 kg. Os animais foram subdivididos por peso. Para análise estatística foram criados dois grupos tomando-se como parâmetro a média de peso total de 296,5 kg. Dentro dos grupos controle e vacinação os animais também foram divididos em maiores que 296,5 kg e menores 296 kg (média de peso de todos os animais).

Inseminação Artificial em Tempo Fixo (IATF)

Todos os animais foram sincronizados utilizando o seguinte protocolo de sincronização de crescimento folicular e ovulação: D0: foi administrado 2 mg de benzoato de estradiol (2 ml I.M, Gonadiol®, Zoetis) e foi inserido um dispositivo intravaginal de P4 contendo 1,9 g de P4 (CIDR, Zoetis); no D8: foi administrado 0,5 mg de cipionato de estradiol (0,25 ml I.M, E.C.P®, Zoetis), 12,5 mg de dinoprost trometamina (2,5 ml I.M de Lutalyse®, Zoetis), 300 UI de gonadotrofina coriônica equina (1,5 ml I.M de Novormon®, Zoetis) e foi retirado o dispositivo intravaginal de P4; no D10; foi feita a IATF de todo o rebanho, com sêmen de diferentes touros. O diagnóstico de gestação foi realizado aos 30 com o auxílio do aparelho de ultrassom (DP10 da Mindray). As taxas de nascimento e aborto foram calculadas no pós parto.

Análise estatística

Os efeitos da vacina, do grupo de peso (< 296 ou > 296 kg) e suas interações nas taxas de prenhez aos 30 dias, taxa de nascidos e taxa de aborto (perda da prenhez após D30) foram avaliados por regressão logística usando o PROC LOGISTIC do SAS (SAS 9.2, North Carolina, USA). O efeito dos touros nas taxas de prenhez, nascidos vivos e abortos foi avaliada por regressão logística e como não houve efeito de touro este parâmetro foi excluído das análises subsequentes.

RESULTADOS

Não houve diferença estatística nas taxas de prenhez no dia 30 de gestação das novilhas entre os grupos controle e vacinados (Figura 1), ≤ 296 ou ≥ 296 kg ou interação entre estes grupos.

Quando as novilhas foram separadas por grupo de peso (< 295 ou > 295 kg), a taxa de prenhez foi maior nas novilhas mais leves vacinadas quando comparadas as novilhas mais leves não vacinadas (P = 0,056). Entretanto, não houve diferença significativa na taxa de prenhez das novilhas maiores de 295 kg vacinadas ou não vacinadas (Figura 2).

Não houve diferença estatística na taxa de nascimentos entre os animais vacinados e não vacinados, quando a mesma foi avaliada sobre todos os animais inseminados (Figura 3). Também não foi observado diferença estatística na taxa de nascimento quando os animais

foram separados por grupo de peso, entretanto, foi observada uma tendência de interação entre vacina*peso ($P=0,089$; Figura 4).

A taxa de aborto, calculada considerando os animais que estavam prenhes no dia 30 da gestação e não pariram, foi maior nas novilhas vacinadas, independente do grupo de peso, quando comparadas as não vacinadas ($P < 0,02$; Figura 5). Não houve influência do peso ou interação peso*vacina na taxa de abortos (Figura 6).

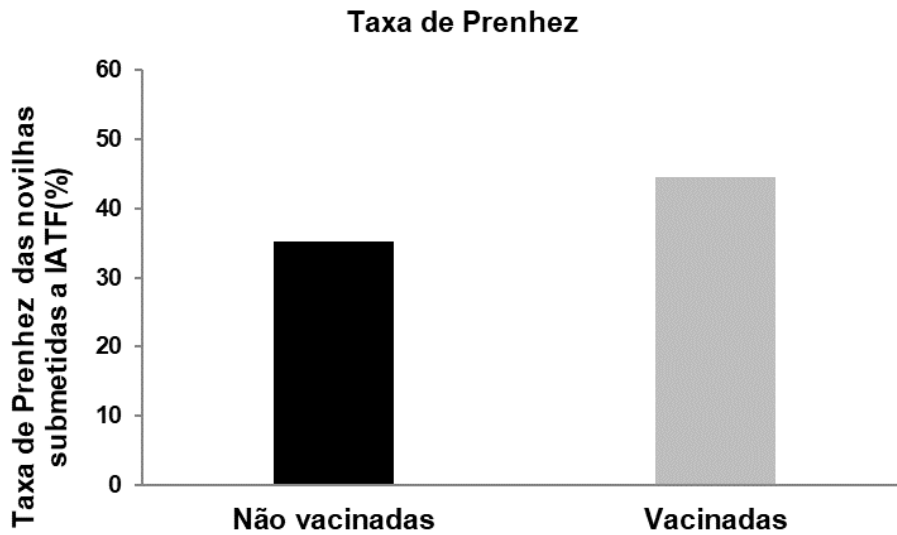


Figura 1. Taxa de prenhez no dia 30 de gestação das novilhas não vacinadas e vacinadas submetidas ao protocolo de IATF. Não houve diferença estatística entre os grupos. NS: Não significativo.

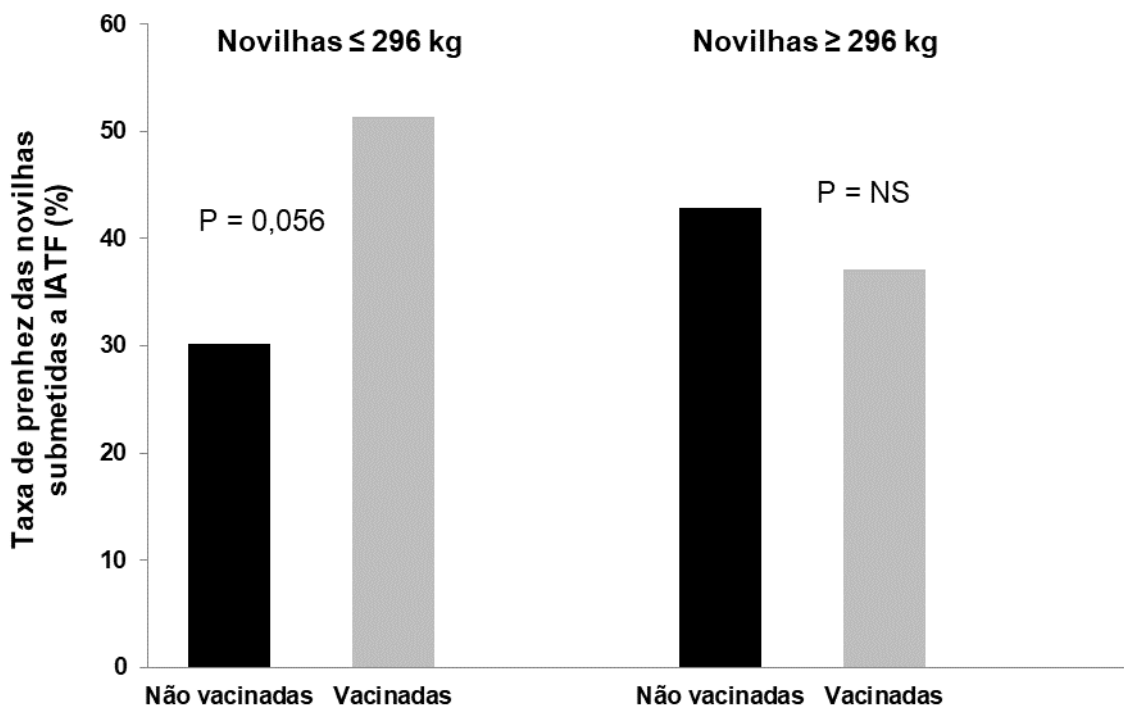


Figura 2. Taxa de prenhez no dia 30 da gestação das novilhas menores que 296 kg e maiores que 296 kg nos grupos vacinadas e não vacinadas. A taxa de prenhez foi maior ($P = 0,056$) nas

novilhas vacinadas menores que 296 kg; não houve diferença estatística nas novilhas maiores que 296 kg.

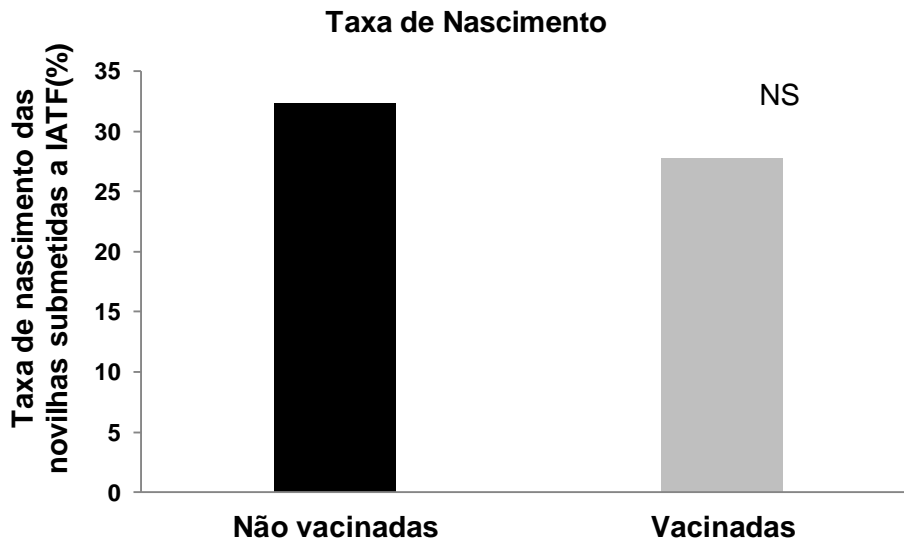


Figura 3. Taxa de nascimento das novilhas não vacinadas e vacinadas submetidas ao protocolo de IATF. Não houve diferença estatística entre os grupos. NS: Não significativo.

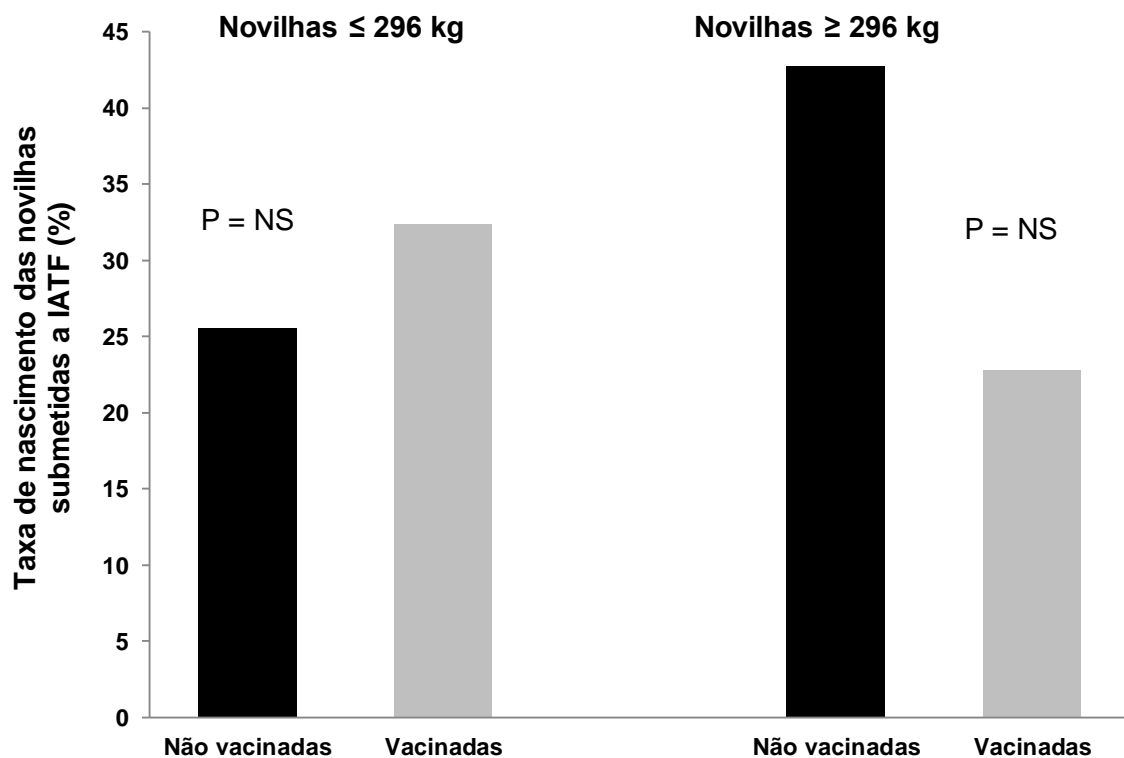


Figura 4. Taxa de nascimento das novilhas menores que 296 kg e maiores que 296 kg nos grupos vacinadas e não vacinadas. Não houve diferença estatística entre vacinados e não vacinados nos diferentes grupos de peso. Interação vacina*peso $P = 0.089$.

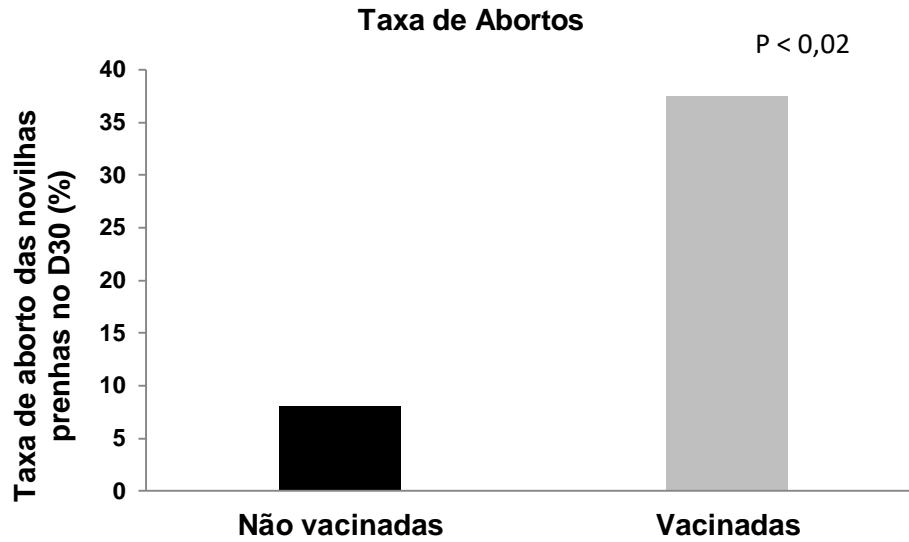


Figura 5. Taxa de abortos do total de novilhas que estavam prenhas no dia 30 de gestação. A taxa de aborto foi maior nas novilhas vacinadas ($P < 0,02$) quando comparadas as não vacinadas.

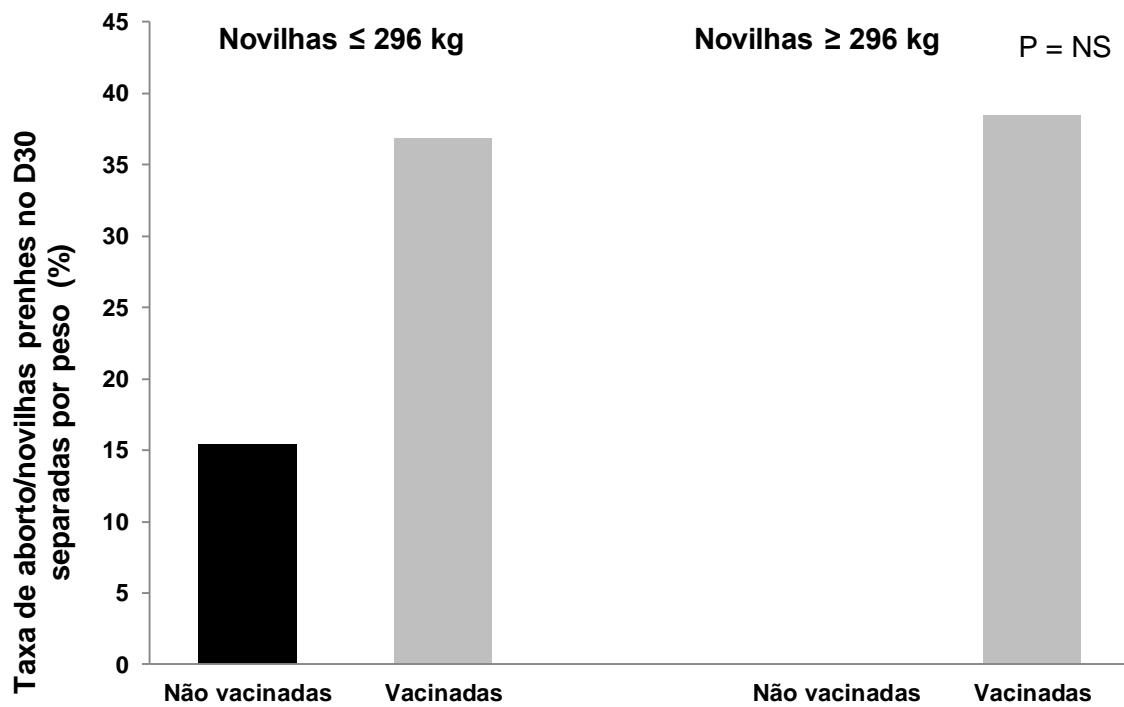


Figura 6. Taxa de abortos do total de novilhas que estavam prenhas no dia 30 de gestação separadas por grupo de peso. Não houve diferença estatística significativa.

DISCUSSÃO

Nesse trabalho não foi observado diferença na taxa de prenhez entre os grupos vacinados e não vacinados. Porém, quando os animais foram separados por grupo de peso, a vacinação apresentou um efeito benéfico nos animais menores que 296 kg. O mesmo não foi observado com os animais maiores que 296 kg. Alguns estudos demonstraram que a vacinação contra IBR, BDV e leptospirose melhorou a taxa de prenhez de vacas Nelore com escore de condição corporal (ECC) 3,0 (55,1 vs. 49,8 %; Aono et al., 2012) e de vacas Holandesas e Girolandas também com o mesmo ECC (47,8% vs. 34,4%; Pereira et al., 2012).

O peso à primeira inseminação está diretamente ligado aos índices reprodutivos das novilhas. Para que as novilhas cheguem à puberdade com um peso ideal elas precisam ter um bom ganho de peso no período pré e pós desmame (Sammelmann et al., 2001). Novilhas mais pesadas ao desmame são mais precoces na manifestação da atividade sexual (Restle et al., 1999) e apresentam melhores índices reprodutivos. Novilhas que com 14 meses atingiram 321 kg apresentaram taxa de prenhez de 85,71 %, enquanto novilhas que atingiram apenas 265 kg apresentaram taxa de prenhez de 55 %, todas as novilhas foram inseminadas por IATF (Vaz et al. 2012).

O peso à primeira inseminação parece estar muito mais ligado ao sucesso reprodutivo do que a idade em si. Novilhas que apresentavam em média 300 kg, mas idades entre 14/15 e 26/27 meses não apresentaram diferença nas taxas de prenhez, mostrando que o peso é fator fundamental para o sucesso da reprodução, independente da idade das novilhas (Gottschall et al., 2005). Neste trabalho observamos um efeito benéfico da vacinação na taxa de prenhez apenas em animais menores que 296 kg. A nutrição tem função importante na resposta imune. Glicose, ácidos graxos não esterificados e glutamina são os principais combustíveis energéticos utilizados pelas células imunes (Ingvarsen et al., 2012).

Alguns microminerais vão atuar como antioxidante no sistema celular, melhorando a resposta imunológica, aumentando a resistência às infecções, a manutenção da atividade dos hormônios hipofisário e as sínteses biológicas de degradação oxidativa (Pasa, 2011). Já a leptina vai atuar diretamente nas células imunológicas estimulando a hematopoese, a imunidade das células T, a fagocitose e a produção de citocinas. A concentração de leptina plasmática aumenta durante a gravidez e começa a diminuir 1 a 2 semanas antes do parto e atinge o ponto mais baixo no início da lactação. A redução da leptina plasmática no parto, pode ter efeitos negativos na função das células imunes e no sistema nervoso central (Masuzaki et al., 1997; Weingarten, 1995).

É sabido que o sistema endócrino e imune são altamente integrados e não funcionam independentes. Novilhas em torno de 12 meses apresentam menor resposta imune, medida pela atividade dos anticorpos IgG contra antígenos tipo 2 (Hine et al., 2011). Além de estarem próximo ao limite inferior de peso ideal para início da atividade reprodutiva, as novilhas Nelore também são, por causa da idade, raça e ausência de manejo contínuo, altamente responsivas a estresse.

A liberação de cortisol está associada ao aumento dos estímulos ao estresse e demonstrou ter um impacto negativo no desempenho da imunidade do animal. Animais que apresentam estresses podem ter dificuldade em fornecer uma resposta imune suficiente quando desafiados com patógenos (Fell et al., 1999; Curley, 2006). Dois componentes que estão bem distinguidos e envolvidos na ativação da resposta ao estresse são o eixo hipotálamo-pituitário-adrenal (HPA) e o sistema nervoso autônomo (SNA), que em desequilíbrio, pode resultar em alterações na resposta imune (Chenoskova et al. 2002). A ativação do SNA, ocorre rapidamente e permite uma resposta adaptativa ao estressor, enquanto o eixo HPA, apresenta uma resposta mais lenta, envolvendo a liberação dos glicocorticóides, os quais, dependendo da quantidade em que são secretados, podem levar à imunossupressão (Marketon, 2008).

Em um estudo realizado por Oliphint (2006), ele observou uma menor concentração de IgG específica após vacinação em novilhos Brahman estressados quando comparados a novilhos mais calmos, além de uma maior concentração de cortisol no plasma. Em um estudo em ratos, foi demonstrado que o estresse agudo e não o crônico está diretamente relacionado a concentração de IgG e a habilidade de linfócitos de produzirem IgM

e proliferarem (Bauer et al., 2001). Desta forma, a vacinação pode ter influenciado não só o sistema imune, mas também o eixo hipotalâmico-hipofisário-gonadal-adrenal.

A capacidade destes agentes infecciosos em causar abortos e eficiência protetiva da vacinação foi demonstrada em diversos estudos de inoculação experimental. Zimmerman et al. (2013) inoculou o vírus BoHV-1 em novilhas com aproximadamente 193 dias de prenhez com o objetivo de testar a eficiência da vacinação na proteção fetal. Os autores observaram que o grupo vacinado apresentou apenas 7,7 % dos fetos infectados e que o grupo não vacinado apresentou 94,7 % de infecção fetal. Givens et al. (2012), testou a eficácia da vacinação na proteção contra o aborto e a infecção fetal após exposição proposital do BVDV. O grupo vacinado apresentou 100 % de proteção fetal, já o grupo não vacinado apresentou 40 % de aborto. Já Norton et al. (1989) realizou um estudo na Austrália, onde o objetivo era estudar as causas dos abortos em vacas leiteiras que não eram vacinadas contra doenças reprodutivas. O autor observou através de exame sanguíneo, patologia e microbiologia, que a leptospira hardjo causou cerca de 49,9 % de abortos em vacas leiteiras. Por isso, é de suma importância observar se os animais são livres do agente infeccioso antes da vacinação e dos protocolos de fertilização.

Junqueira et al. (2006), realizou um estudo em uma propriedade onde a maioria das novilhas eram da raça Nelore, não eram vacinadas para IBR, BVD e leptospirose e apresentavam sorologia positiva para essas doenças. Os autores observaram uma taxa de prenhez de 78,3 %, entretanto, a taxa de aborto após 60 dias foi de 29,1 %. Bem como no trabalho citado, a taxa de aborto dos animais vacinados encontrada neste trabalho está acima do considerado aceitável, enquanto a taxa de aborto dos animais não vacinados manteve-se dentro do recomendado na literatura para bovinos de corte que é de 5 % (Bridges et al., 2013).

Devido ao grande número de aborto nas novilhas vacinadas, houve um decréscimo na taxa de prenhez até o momento do parto, não sendo observada diferença na taxa de nascimento entre os grupos.

CONCLUSÃO

Novilhas menores que 296 kg apresentaram maior taxa de prenhez aos 30 dias, entretanto, não houve diferença na taxa de nascimentos devido a alta taxa de aborto nas novilhas vacinadas.

5. REFERÊNCIAS

- Abud. L.J. 2011. Fatores que a influenciam o início da puberdade. Seminário apresentado junto à Disciplina Seminários Aplicados do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Goiás.
- Ackermann M., Engels M. 2005. Pros e contra a erradicação do IBR. *Vet Microbiol.* 113, 293-302.
- Alice F.J. 1978. Isolamento do vírus da rinotraqueíte infecciosa bovina (IBR) no Brasil. *Revista Brasileira de Biologia.* 38: 919-920.
- Amstalden M., Garcia M. R., Williams S. W., Stanko R. L., Nizielski S. E., Morrison C. D., Williams, G. L. 2000. Leptin gene expression, circulating leptin, and luteinizing hormone pulsatility are acutely responsive to short-term fasting in prepubertal heifers: relationships to circulating insulin and insulin-like growth factor I. *Biology of reproduction.* 63: 127-133.
- Anualpec: Anuário da Pecuária Brasileira. São Paulo, Brazil: Instituto FNP and Agra Pesquisas Ltda; 2011.
- Aono F.H., Cooke R.F., Alfieri A.A., Vasconcelos J.L. 2013. Effects of vaccination against reproductive diseases on reproductive performance of beef cows submitted to fixed-timed AI in Brazilian cow-calf operations. *Theriogenology.* 79: 242-248.
- Arenhart S., Silva L.F., Henzel A., Ferreira R., Weiblen R., Flores E.F. Proteção fetal contra o vírus da diarreia viral bovina (BVDV) em vacas prenhes previamente imunizadas com uma vacina experimental atenuada. 2008. *Pesquisa Veterinária Brasileira.* 28: 461-470.
- Bado A., Levasseur S., Attoub S., Kermorgant S., Laigneau J.P., Bortoluzzi M.N., Moizo L., Lehy T., Guerre-Millo M., Le Marchand-Brustel Y., Lewin M.J.M. 1998. The stomach is source of leptin. *Nature.* 394:790-793.
- Baker J.C. 1995. The clinical manifestations of bovine viral diarrhea infection. *Vet. Clin. North Am.: Food Anim. Pract.* 11:425-445.
- Balamurugan V., Alamuri A., Bharathkumar K., Siddanagouda S.P., Govindaraj G.N., Nagalingam M., Krishnamoorthy P., Rahman H., Shome R.B. 2017. Prevalence of *Leptospira* serogroup-specific antibodies in cattle associated with reproductive problems in endemic states of India. *Tropical Animal Health and Production.* 50: 1131-1138.
- Barcellos J.O.J., Prates E.R., Mühlbach P.R.F., Ospina H., Bernardi M.L., López J. 2001. Influência da estrutura corporal na idade à puberdade de novilhas Braford. In: Reunião anual da sociedade brasileira de zootecnia. 38, p. 397-398.
- Bashir S., Singh R., Sharma B., Yadav S. 2011. Development of a sandwich ELISA for the detection of bovine herpesvirus type 1. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine.* 4: 363-366.
- Bauer M. E., Perks P., Lightman S. L., Shanks N. 2001. Restraint stress is associated with changes in glucocorticoid immunoregulation. *Physiology & behavior.* 73: 525-532.
- Berg D.K., Leeuwen J.V., Beaumont S., Berg M., Pfeffe P.L. 2007. Embryo loss in cattle between Days 7 and 16 of pregnancy. *Theriogenology* 73: 250-260.
- Bergfeld E.G.M., Kojima F.N., Cupp A.S., Wehrman M.E., Peters, K.E.; Garcia-Winder M., Kinder J.E. 1994. Ovarian follicular development in prepubertal heifers is influenced by level of dietary energy intake. *Biology of Reproduction.* 51:1051-1057.

- Bergmann J.A.G. 1999. Seleção de zebuínos para precocidade sexual. In: Simpósio de reprodução de gado de corte. 51-64
- Bolin S. 1995. Control of bovine viral diarrhoea virus infection by use of vaccination. *Vet. Clin. North Am.* 11:615-626.
- Bridges G. A., Day M. L., Geary T. W. 2013. Função Uterina e Manutenção da Prenhez. XVII Curso Novos Enfoques na Produção e Reprodução de Bovinos
- Burdick N. C., Randel R. D., Carroll J. A., Welsh T. H. 2011. Interactions between temperament, stress, and immune function in cattle. *International Journal of Zoology.*
- Byerley D. J., Staigmiller R. B., Berardinelli J. G., Short R. E. 1987. Pregnancy rates of beef heifers bred either on pubertal or third estrus. *Journal Animal Science.*65: 645-650.
- Campos Â.P., Miranda D.F.H., Rodrigues H.W.S., Lustosa M.D.S.C., Martins G.H.C., Mineiro A.L.B.B. 2017. Seroprevalence and risk factors for leptospirosis in cattle, sheep, and goats at consorted rearing from the State of Piauí, northeastern Brazil. *Trop Anim Health Prod.* 49: 899-90.
- Cardoso D., Nogueira G.P. 2007. Mecanismos neuroendócrinos envolvidos na puberdade de novilhas. *Arq. Ciênc. Vet.Zool.* 10: 59-67.
- Chaves N.P., Bezerra D.C., Sousa V.E., Santos H.P., Pereira H.M. 2010. Frequência de anticorpos e fatores de risco para a infecção pelo vírus da diarréia viral bovina em fêmeas bovinas leiteiras não vacinadas na região amazônica maranhense, Brasil. *Ciência Rural.* 40: 1448-1451.
- Cerri R.L.A. Rutigliano H.M., Chebel R.C., Santos J.E.P. 2009. Period of dominance of the ovulatory follicle influences embryo quality in lactating dairy cows. *Society for Reproduction and Fertility* 137: 813- 823.
- Chenoskova V., Melmed S. 2002. Minireview: neuro-immuno-endocrine modulation of the hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) axis by gp130 signaling molecules. *Endocrinology.* 143: 1571-4.
- Chenoweth P.J. 1983. Reproductive management procedures in control of breeding. *Animal Production Australian.* 15: 28.
- Ciccioli N.H., Charles-Edwards S.L., Floyd C., Wettemann R. P., Purvis H.T., Lusby K.S., Horn G. W., Lalman D.L. 2005. Incidence of puberty in beef heifers fed high or low-starch diets for different periods before breeding. *Journal Animal Science.* 83: 2653-2662.
- Cummings D.E., Weigle D.S., Frayo R.S., Breen P.A., Ma M.K., Dellinger E.P., Purnell J.Q., 2002. Plasma ghrelin levels after diet-induced weight loss or gastric bypass surgery. *N. Engl. J. Med.* 346: 1623-1630.
- Curley, K.O., Jr. 2006. Technical Note: Exit velocity, as a measure of cattle temperament, is repeatable and associated with serum concentration of cortisol in Brahman bulls. *J. Anim. Sci.* (Submitted).
- Day M.L., Imakawa K., Wolfe P. L., Kittok R. J., Kinder J. E. 1987. Endocrine mechanisms of puberty in heifers. Role of hypothalamus-pituitary estradiol receptors in the negative feedback of estradiol on luteinizing hormone secretion. *Biology of Reproduction.* 37: 1054-1065.
- Delgado E. F.; Lanna D. P. 2000. Eficiência biológica e econômica de bovinos de corte. In: Convenção Nacional da Raça Canchim. São Carlos. Anais... São Carlos: Embrapa, p.14-39

Dhaliwal G.S., Murray R.D., Dobson H., Montgomery J., Ellis W.A. 1996. Effect of vaccination against *Leptospira interrogans* serovar hardjo on milk production and fertility in dairy cattle. *The Veterinary Record*.138: 334-335.

Dias L.T., El Faro L., Albuquerque L.G. 2004. Efeito da idade de exposição de novilhas à reprodução sobre estimativas de herdabilidade da idade ao primeiro parto em bovinos Nelore. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, Belo Horizonte. 56: 370-373.

Diskin M.G., Morris D.G. 2008. Embryonic and early foetal losses in cattle and other ruminants. *Reprod Domest Anim*. 43: 260-7.

Draghi M.G., Brihuega B., Benítez D., Sala J.M., Biotti G.M., Pereyra M., Homse A., Guariniello L. 2011. Leptospirosis outbreak in calves from Corrientes Province, Argentina. *Rev. Argent. Microbiol*. 43: 42-44

Drunen S.V., Little H. 2006. Rationale and perspectives on the success of vaccination against bovine herpesvirus-1. *Vet. Mic*. 113: 275-82.

Dubey J.P., Lindsay D.S. 1996. A review of *Neospora caninum* and neosporosis. *Revista de Medicina Veterinária Parasitologia*. 67: 1-59.

Duong M.C., Alenius S., Huong L.T.T., Björkman C. 2008. Prevalence of *Neospora caninum* and bovine viral diarrhoea virus in dairy cows in Southern Vietnam. *Veterinary Journal*. 175: 390-394.

Edwards S., Newman R.H., White H. 1991. The virulence of British isolates of BHV-1 in relationship to viral genotype. *British Veterinary Journal*. 47: 216-231.

Eler J.P., Silva J.A., Ferraz J.B., Dias F., Oliveira H.N., Evans J.L., Golden B.L. 2002. Genetic evaluation of the probability of pregnancy at 14 months for Nelore heifers. *Journal of Animal Science* 80: 951-954.

Ellis W.A. 1994. Leptospirosis as a cause of reproductive failure. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*. 10: 463-478.

Enright F.M., Samartino L. 1994. Mechanism of abortion in *Brucella abortus* infected cattle. *Process Animal health association*. 98: 88-95.

Faine S., Adler B., Bolin C., Perolat P. 1999. *Leptospira and Leptospirosis*. 2^a ed. MedSci, Melbourne. 353p.

Fell, L.R., I.G. Golditz, K.H. Walker, and D.L. Watson. 1999. Associations between temperament, performance and immune function in cattle entering a commercial feedlot. *Aust. J. Exp. Agric*. 39:795-802.

Fernandez-Fernandez R., Tena-Sempere M., Aguilar E., Pinilla L. 2004. Ghrelin effects on gonadotropin secretion in male and female rats. *Neurosci. Lett*. 362: 103-107.

Flores E.F., Weiblen R., Vogel F.S.F., Roehe P.M., Alfieri A.A. & Pituco E.M. 2005. A infecção pelo vírus da Diarréia Viral Bovina (BVDV) no Brasil - histórico, situação atual e perspectivas. *Pesq. Vet. Bras*. 25:125-134.

Foster D.L., Nagatani S. 1999. Physiological perspectives on leptin as a regulator of reproduction: role in timing puberty. *Biology of Reproduction*. 60: 205-215.

Frey H-R., Eicken K., Grummer B. 2002. Foetal protections against bovine virus diarrhoea virus after two-step vaccination. *J Vet Med*. 49: 489-493.

Fulton R.W., Ridpath J.F., Confer A.W., Saliki J.T., Burge L.T. & Payton M.E. 2003. Bovine viral diarrhoea virus antigenic diversity: impact on disease and vaccination programmes. *Biol.* 31:89-95.

Gamlen T., Richards K.H., Mankouri J., Hudson L., McCauley J., Harris M., Macdonald A. 2010. Expression of the NS3 protease of cytopathogenic bovine viral diarrhoea virus results in the induction of apoptosis but does not block activation of the beta interferon promoter. *Journal of General Virology.* 91: 133– 144.

Gaytan F., Barreiro M.L., Chopin L.K., Herington A.C., Morales C., Pinilla L., Casanueva F.F., Aguilar E., Di'éguez C., Tena-Sempere M. 2003. Immunolocalization of ghrelin and its functional receptor the type 1a growth hormone secretagogue receptor, in the cyclic human ovary. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 88: 879–887.

Givens M.D., Marley S.D., Jones C.A., Ensley D.T., Galik P.K., Zhang Y., Riddell K.P., Joiner K.S., Brod E., Rodning B.W. 2012. Protective effects against abortion and fetal infection following exposure to bovine viral diarrhoea virus and bovine herpesvirus 1 during pregnancy in beef heifers that received two doses of a multivalent modified-live virus vaccine prior to breeding. *Journal of American Veterinary Medical Association.* 241: 484-495

Göktuna P.T., Alpay G., Öner E.B., Yeşilbaş K. 2016. The role of herpesviruses (BoHV-1 and BoHV-4) and pestiviruses (BVDV and BDV) in ruminant abortion cases in western Turkey. *Trop Anim Health Prod.* 48: 1021–1027.

Gottschall C. S., Ferreira E. T., Márques P. R., Rosa A. A. G., Tanure S., Lourenzen G., Viero V. 2005. Desempenho reprodutivo de novilhas conforme o peso e a idade ao primeiro acasalamento. *Veterinária em Foco.* 2:211-220.

Grooms D.L. 2004. Reproductive consequences of infection with bovine viral diarrhoea virus. *The Veterinary Clinics of North America. Food Animal Practice.* 20: 5-19.

Grooms D.L., Steven R.B., Coe P.H., Borges R.J., Coutu C.E. 2007. Fetal protection against exposure to bovine viral diarrhoea virus following administration of a vaccine containing an inactivated bovine viral diarrhoea virus fraction to cattle. *American Journal of Veterinary Research.* 68: 1417-1422,

Gunn H.M. 1993. Role of fomites and flies in the transmission of bovine viral diarrhoea virus. *Vet Rec.* 132: 584-585.

Halaas J.L., Friedman G.C. 1998. Leptin and the regulation of the body weight in mammals. *Nature*, v. 395, p. 763-770.

Hine B. C., Cartwright S. L., Mallard B. A. 2011. Effect of age and pregnancy status on adaptive immune responses of Canadian Holstein replacement heifers. *Journal of dairy science*, 94:981-991.

Hirsch C., Dias. O.L.R. 2006. Diarreia bovina a vírus/ doenças das mucosas e rinotraqueíte infecciosa bovina. *Pubvet.* 8: 1670.

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

Ingvartsen K. L., Moyes K. 2013. Nutrition, immune function and health of dairy cattle. *Animal*, 7: 112-122.

Jones C., Da Silva LF., Sinani D. 2011. Regulation of the latency-reactivation cycle by products encoded by the bovine herpesvirus 1 (BHV-1) latency-related gene. *J Neurovirol.* 17:535-45.

- Júnior C.P.B., Borges L.S., Sousa P.H.A.A., Oliveira M.R.A., Cavalcante D.H., Andrade T.V., Barros C.D., Júnior S. C. S. 2016. Melhoramento Genético em Bovinos de Corte (*Bos indicus*). *Nutritime Revista Eletrônica*. 13: 4558-4564.
- Junqueira J.R.C., Freitas J.C., Alfieri A.F., Alfieri A.A. 2006. Avaliação do desempenho reprodutivo de um rebanho bovino de corte naturalmente infectado com BoVH-1, BVDV e Leptospirose hardjo. *Semina. Ciências Agrárias*. 27: 471-480.
- Kaashoek M.J., Straver P.H., Van R.E., Quak J., Oirschot V.J.T. 1996. Virulence, immunogenicity and reactivation of seven bovine herpesvirus 1.1 strains: clinical and virological aspects, *Vet. Rec.* 139: 416-421
- Kelling C.L. 2007. Viral Diseases of the Fetus. *Current Therapy in Large Animal Theriogenology*. 399-408.
- Kinder J.E., Day M.L., Kittok R.J. 1987. Endocrine regulation of puberty in cows and ewes. *J. Reprod. Fertil.* 34:167.
- Kinder J. E., Bergfeld E. G. M., Wehrman M. E., Peters K. E.; Kojima F.N. 1995. Endocrine basis for puberty in heifers and ewes. *J Reprod Fertil Suppl.*49:393-407.
- Kirk, J.H., 2003. Infectious abortions in dairy cows. *Ext. Fact Sheet*. 23: 120-125.
- Kirkbride, C.A. 1992. Etiologic agents in a 10 year study of bovine abortions and stillbirths. *J. Vet. Diagn. Invest.* 4: 160-175.
- Khodakaram-Tafi A., Ikede B.O. 2005. A retrospective study of sporadic bovine abortions, stillbirths, and neonatal abnormalities in Atlantic Canada from 1990 to 2001. *Can. Vet. J.* 46: 635-637.
- Langoni H., Souza L.C., Silva A.V., Luvizotto M.C., Paes A.C., Lucheis S.B.1999. Incidência de abortamento de leptospirose em gado leiteiro brasileiro. *Prev. Veterinário. Med.* 11: 271 - 275.
- Langoni 'b' H., Del Fava C., Cabral K.G., Silva A.V., Chagas S.A.P. 1999. Aglutininas antileptospíricas em búfalos do Vale do Ribeira, Estado de São Paulo. *Ciência Rural* 29:305-307.
- Lanyon S.R., Fraser I.H., Reichel M.P., Brownlie J. 2014. Bovine viral diarrhoea: Pathogenesis and diagnosis. *The Veterinary Journal*. 199: 201-209.
- Lindberg A., Houe H. 2005. Characteristics in the epidemiology of bovine viral diarrhoea virus (BVDV) of relevance to control. *Prev Vet Med.* 72: 55-73.
- Lindberg A., Alenius S., 1999. Principles for the eradication of bovine viral diarrhoeal virus (BVDV) infections in cattle populations. *Vet Microbiol.* 64: 197-222.
- Lucy M.C. 2001. Reproductive loss in high-producing dairy cattle: where will it end? *J. Dairy Sci.* 84: 1277-1293.
- Mainar-Jaime RC., Berzal-Herranz B., Arias P., Rojo-Vázquez F.A. 2001. Epidemiological pattern and risk factors associated with BVDV infection in a non-vaccinated dairy-cattle population from the Asturias region of Spain. *Prev. Vet. Med.* 52:63-73.
- Marketon JI., Glaser R. 2008. Stress hormones and immune function. *Cellular Immunology*. 252:16-26.
- Martín L.N., Silva L.O.C., Rosa N.A., Gondo A. 2003. Análise da curva de crescimento da circunferência escrotal de touros da raça Canchim e do grupo genético MA. *Archives of Veterinary Science*. 8: 75-79.

- Martins G., Lilenbaum W. 2017. Control of bovine leptospirosis: aspects for consideration in a tropical environment, *Research in Veterinary Science*. 112: 156–160.
- Masuzaki H, Ogawa Y, Sagawa N, Hosoda K, Matsumoto T, Mise H, Nishimura H, Yoshimasa Y, Tanaka I, Mori. T, Nakao K. 1997. Nonadipose tissue production of leptin: Leptin is a novel placenta-derived hormone in humans. *Nat Med*. 3:1029–33.
- McEwan B., Carman S. 2005. Animal health laboratory reports – cattle. Bovine abortion update, 1998–2004. *Can. Vet. J.* 46: 46.
- McGowan M.R., Kirkland P.D., Richards S.G., Littlejohns. I.R. 1993. Increased reproductive losses in cattle infected with bovine pestivirus around the time of insemination. *Veterinary Record*. 133: 39–43.
- Meyling A., Houe H., Jensen A.M. 1990. Epidemiology of bovine virus diarrhoea virus. *The Veterinary Clinics of North America. Food Animal Practice*. 11: 521-547.
- Miguel, M.C.V. 2013 Maturação sexual em bezerras nelore com suplementação alimentar. Tese de Doutorado, Universidade Estadual de São Paulo, São Paulo. 122p.
- Mineiro A.L.B.B., Bezerra E.E.A., Vasconcellos S.A., Costa F.A.L., Macedo N.A. 2007. Infecção por leptospira em bovinos e sua associação com transtornos reprodutivos e condições climáticas; *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*. 59: 1103-1109.
- Moennig V., Liess B. 1995. Pathogenesis of intrauterine infections with bovine viral diarrhoea virus. *Vet Clin North Am Food Anim Pract*. 11: 477-487.
- Monteiro F.M., Mercadante M.E.Z., Barros C.M., Satrapa R.A., Silva J.A.V., Oliveira L.Z., Saraiva N.Z., Oliveira C.S., Garcia J.M., 2013. Reproductive tract development and puberty in two lines of Nelore heifers selected for postweaning weight. *Theriogenology*. 80:10-17.
- Moreira S.P.G., Samara S.I., Arita G.M.M., Ferreira F., Pereira G.T. 2001. Monitoração de anticorpos neutralizantes para o vírus da rinotraqueíte infecciosa bovina em bezerros. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*. 38: 127-130.
- Mori Marcella., Bakinahe R., Vannoorenberghe F., Maris J., Jong E., Tignon M., Marin M., Desqueper D., Fretin D., Behaeghel I. 2017. Reproductive Disorders and Leptospirosis: A Case Study in a Mixed-Species Farm (Cattle and Swine). *Vet. Sci*. 4: 64.
- Morris C.A., Wilson J.A. 1997. Progress with selection to change age at puberty and reproductive rate in Angus cattle. *Proc. of the N. Z. Soc. of Anim. Prod.*, Palmerston North. 57: 9-11.
- Mueller S.B.K., Ikuno A.A., Campos M.T.G.R. 1978. Isolamento e identificação do vírus da rinotraqueíte infecciosa dos bovinos de um rim de feto de bovino (IBRI/IPV). *Arquivos do Instituto Biológico*. 45: 187-190.
- Nagatani S., Zeng Y., Keisler D.H., Foster D.L., Jaffe C.A. 2000. Leptin regulates pulsatile luteinizing hormone and growth hormone secretion in the sheeo. *Endocrinol*. 41: 3965-3974.
- Nandi S., Kumar M., Manohar M., Chauhan R.S. 2009. Bovine herpes virus infections in cattle. *Animal Health Research Reviews*. 10: 85–98.
- Nepomuceno D.D. 2013. Efeito do manejo nutricional sobre a maturação do eixo reprodutivo somatotrófico no início da puberdade de novilhas Nelore. Tese de Doutorado, Universidade Estadual de São Paulo. p139.

- Nepomuceno D.D., Pires A.V., Ferraz M.V.C., Biehl M.V., Gonçalves J. R., Moreira E.M., Day M.L. 2017. Effect of pre-partum dam supplementation, creep-feeding and post-weaning feedlot on age at puberty in Nelore heifers. *Livestock Science*. 195: 58-62.
- Newcomer B.W., Cofield L.G., Walz P.H., Givens D.M. 2017. Prevention of abortion in cattle following vaccination against bovine herpesvirus 1: A meta-analysis. *Preventive Veterinary Medicine*. 138: 1-8.
- Norton J.H., Tranter W.P., Campbell R.S. 1989. A farming systems study of abortion in dairy cattle on the Atherton Tableland. 2. The pattern of infectious disease. *Aust Vet J*. 66:163-167.
- Nunez-Dominguez R., Cundiff L.V., Dickerson G.E., Gregory K.E., Kock R.M., 1991. Lifetime production of beef heifers calving first at two vs three years of age. *Journal of Animal Science*. 69: 3467-3479.
- Pasa C. 2011. Relação reprodução animal e os minerais. *Biodiversidade*. 9:1.
- Pereira M.H., Cooke R.F., Alfieri A.A., Vasconcelos J.L. 2013. Effects of vaccination against reproductive diseases on reproductive performance of lactating dairy cows submitted to AI. *Anim. Reprod. Sci*. 137: 156-162.
- Pence M.E. 2005. "Bovine virus diarrhea (BVD), BVD PI and the new vaccines". Department of Large Animal Medicine. 1389- 1402.
- Pilau A., Lobato J.F.P. 2009. Suplementação energética pré-acasalamento aos 13/15 meses de idade para novilhas de corte: desenvolvimento e desempenho reprodutivo. *Revista Brasileira de Zootecnia*. 38: 2482-2489.
- OIE. 2018. OIE-Listed Diseases, Infections and Infestations in Force in 2018 <http://www.oie.int/animal-health-in-the-world/oie-listed-diseases-2018/> (Accessed 10 January 2019).
- Oliphint R. A. 2006. Evaluation of the inter-relationships of temperament, stress responsiveness and immune function in beef calves. Doctoral dissertation, Texas A&M University.
- Oliveira C.M.G., Lopes D.T., Sousa A.P.F. 2009. Effects of biostimulation and nutritional supplementation on pubertal age and pregnancy rates of Nelore heifers (*Bos indicus*) in a tropical environment. *Animal Reproduction Science*. 113: 38-43.
- Otaka D.Y., Martins G., Hamond C., Penna B., Medeiros M.A., Lilenbaum W. 2012. Serology and PCR for bovine leptospirosis: herd and individual approaches. *Vet Rec*. 170: 338.
- Paulino M.F., Figueiredo D.M., Moraes E.H.B.K., Porto M.O., Sales M.F.L., Acedo T.S., Severino D.J.V., Valadares S.C.F. 2004. Suplementação de bovinos em pastagens: uma visão sistêmica. In: Simpósio de reprodução de gado de corte. 4: 93-144.
- Patterson D.J., Perry R.C., Kiracofe G.H., Bellows R.A., Staigmiller R.B., Corah L.R. 1992. Management considerations in heifers development and puberty. *Journal Animal Science*. 70:4018-4035.
- Pereira M. H., Cooke R.F., Alfieri A.A., Vasconcelos J.L. 2013. Effects of vaccination against reproductive diseases on reproductive performance of lactating dairy cows submitted to AI. *Anim. Reprod. Sci*. 137: 156-162.
- Peters A.R., Ball P.J.H. 1987. *Reproduction in Cattle*. London : Butterworths. p191
- Picardeau M. 2013. Diagnosis and epidemiology of leptospirosis. *Medicine Maladies Infect*. 43: 1-9.

- Pimenta C.L.R.M., Castro V., Clementino I.J., Alves C.J., Fernandes L.G., Brasil A.W.L., Santos C.S.A.B., Azevedo S.S. 2014. Leptospirose bovina no Estado da Paraíba: prevalência e fatores de risco associados à ocorrência de propriedades positivas. *Pesquisa Veterinária Brasileira*. 34: 332–336.
- PITUCO, E.M. 2009. Aspectos clínicos, prevenção e controle da IBR. São Paulo: Centro de pesquisa e desenvolvimento de sanidade animal. (Instituto Biológico. Comunicado Técnico, n. 94).
- Pohler K.G., Peres R.F.G., Green J.A., Graff H., Martins T., Vasconcelos J.L.M., Smith M.F. 2016. Use of bovine pregnancy-associated glycoproteins to predict late embryonic mortality in postpartum Nelore beef cows. *Theriogenology*. 85: 1652–1659.
- Portocarrero C.P., Housenkecht K.L. 1998. Leptin and its receptors: regulators of whole-body energy homeostasis. *Dom. Anim. Endocrinol.* 15:457-475.
- Quadros S.A.F., Lobato J.F.P. 2004. Bioestimulação e Comportamento Reprodutivo de Novilhas de Corte. *Revista Brasileira de Zootecnia*. 3: 679-683.
- Quincozes C.G., Fischer G., Hübner S.O., Vargas G.D., Vidor T. & Brod C.S. 2007. Prevalência e fatores associados à infecção pelo vírus da diarreia viral bovina na região Sul do Rio Grande do Sul. *Semina, Ciênc. Agrárias* 28:269-276.
- Radostits O.M., Gay C.C., Blood D.C., Hinchcliff K.W. 2007. *Veterinary medicine: A textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs and goats*. 10rd ed. Philadelphia, p. 2156.
- Restle J., Polli V.A., Senna D.B., 1999. Efeito de grupo genético e heterose sobre a idade e peso à puberdade e sobre o desempenho reprodutivo de novilhas de corte. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 34: 701-707.
- Riet-Correa F., Schild A.L., Lemos R.A.A., Borges J.R.J. 2007. *Doenças de Ruminantes e Equinos*. 3rd ed. Santa Maria, 130-142.
- Saito M., Villanueva S.Y., Kawamura Y., Lida K., Tomida J., Kanemaru T., Kohno E., Miyahara S., Umeda A., Amako K., Gloriani N.G., Yoshida S. 2013. *Leptospira idonii* sp. nov., isolated from environmental water, *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 63: 2457 – 2462.
- Santos J.E.P., Thatcher W.W., Chebel R.C., Cerri R.L.A., Galvão K.N. 2004. The effect of embryonic death rates in cattle on the efficacy of estrus synchronization programs. *Anim Reprod Sci.* 82: 513–535.
- Santos M.R., Ferreira H.C.F., Santos M.A., Saraiva G.L., Tafuri N.F., Santos G.M., Tobias F.L., Moreira M.A.S., Almeida M.R., Junior A.S. 2014. Antibodies against *Bovine herpesvirus 1* in dairy herds in the state of Espírito Santo, Brasil. *Revista Ceres*. 61: 280-283.
- Scharnböck B., Rocha F.F., Richter V., Funke C., Clair L.F., Obritzhauser W., Baumgartner W., Käsbohrer A., Pinior B. 2018. A meta-analysis of bovine viral diarrhoea virus (BVDV) prevalences in the global cattle population. *Sci Rep.* 26: 14420.
- Schillo K. K., Hall J.B., Hileman S.M. 1992. Effects of nutrition and season on the onset of puberty in the beef heifer. *Journal Animal Science*. 70:3994-4005.
- Semmelmann C.E.N., Lobato J.F.P., Rocha M.G. 2001. Efeito de sistemas de alimentação no ganho de peso e desempenho reprodutivo de novilhas nelore acasaladas aos 17/18 meses. *Revista Brasileira de Zootecnia*. 30:835-843.
- Short R. E., Bellows R. A. 1971. Relationships among Weight Gains, Age at Puberty and Reproductive Performance in Heifers. *Journal of Animal Science*. 32:127-131.

- Short R.E., Staimiller R.B., Bellows R.A., Greer. R.C. 1994. Breeding heifers at one year of age: biological and economic considerations. In: Fields, M.J.; Sand, R.S. Factors affecting calf crop. London. 55-68.
- Siddique I.H., Shah S.M. 1990. Evaluation of polyvalent leptospiral vaccine in hamsters. *Indian Vet. J.* 67:1006-1010.
- Silva M.D., Barcellos J.O.J., Prates Ê.R. 2005. Desempenho Reprodutivo de Novilhas de Corte Acasaladas aos 18 ou aos 24 Meses de Idade. *R. Bras. Zootec.* 34: 2057-2063.
- Silva F.M.B., Lopes D.T., Ferraz H.T., Viu M.A.O., Ramos D.G.S., Saturnino K.C., Fontana C.A.P., Silva J.M.A., Leso F.V. 2018. Estratégias para antecipação da puberdade em novilhas *Bos taurus indicus* pré-púberes. *Pubvet.* 12: 1-13.
- Simões L.S., Sasahara T.H.C., Favaron P.O., Miglino M.A. 2016. Leptospirose – Revisão. *PUBVET.* 10: 138-146.
- Soares A.F.C., Fagundes N.S., Nascimento M.R.B.M., Tavares M., Jacomini, J.O. 2008. Influência da bioestimulação sobre as características ovarianas e a taxa de prenhez em novilhas nelore. *Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal.* 9: 834-838.
- Sousa G.G.T., Júnior S.C.S., Santos K.R., Guimarães J.E.C., Luz C.S.M., Júnior C.P.B., Fonseca W.J.L. 2012. Características reprodutivas de bovinos da raça Nelore do meio Norte do Brasil. *Pubvet.* 6: 1390
- Steele J.H., Mildre M.P.H., Galton M. 1957. Leptospirosis as a world problem. *Veterinary Medicine.* 3: 517-527.
- Takiuchi E., Alfieri A.F., Alfieri A.A. 2001. Herpesvírus bovino tipo 1: Tópicos sobre a infecção e métodos de diagnóstico1 Bovine herpesvirus type 1: infection and diagnosis methods 1. *Semina: Ci. Agrárias, Londrina*, p. 203-209.
- Tanaka M., Hayashida Y., Nakao N., Nakai N., Nakashima K. 2001. Testis-specific and developmentally induced expression of a ghrelin gene-derived transcript that encodes a novel polypeptide in the mouse. *Biochim. Biophys. Acta.* 1522: 62-65.
- Thiry J., Saegerman C., Chartier C., Mercier P., Keuser V., Thiry E. 2008. Serological evidence of caprine herpesvirus 1 infection in Mediterranean France. *Veterinary Microbiology, Amsterdam.* 128: 261-268.
- Tan M.T., Karaoglu M.T., Erol N., Yildirim Y. 2006. Serological and virological investigations of bovine viral diarrhoea virus (BVDV) infection in dairy cattle herds in Aydin Province. *Turkish Journal Veterinary and Animal Sciences.* 30: 299-304.
- Urbina A.M., Riveira J.L.S., Correa J.C.S. 2005. Rinotraqueítis infecciosa bovina em hatos lecheros de la region cotzio-tejaro, Michoacan, Mexico. *Técnica Pecuária en México.* 43: 27-37
- Van Oirschot J.T., Van R., Brusckhe C.J. 1999. An experimental multivalent bovine virus diarrhoea virus E2 subunit vaccine and two experimental conventionally inactivated vaccines induce partial fetal protection in sheep. *Vaccine* 17:1983-1991.
- Vaz R. Z., Restle J. Pacheco P.S., VAZ F.N., Pascoal L.L., VAZ M.B. 2012. Ganho de peso pré e pós desmama no desempenho reprodutivo de novilhas de corte aos quatorze meses de idade. *Revista Ciência Animal Brasileira.* 13:272-281.
- Vijayachari P., Sugunan A.P. and Shriram A.N. 2008. Leptospirosis: an emerging global public health problem. *Journal of Biosciences.* 334: 557-569.

- Walz P.H., Grooms D.L., Passler T., Ridpath J.F., Tremblay R., Step D.L., Callan R.J., Givens M.D. 2010. Control of bovine viral diarrhea virus in ruminants. *J. Vet. Intern. Med.* 24: 476–486.
- Weingarten HP. 1995. Cytokine, and food intake: The relevance of the immune system to student of ingestive behavior. *Neurosci Biobehav Rev.* 20:163–70.
- Wiltbank J.N., Roberts J.N., Rowden L. 1985. Reproductive performance and profitability of heifers feed to weight 272 or 318 kg at the start of the first breeding season. *Journal of Animal Science.* 60: 25-35.
- Wiltbank C.M., Giovanni M.B., Alvaro G.G., Toledo M.Z., Monteiro P.L.J., Melo L.F., Ochoa J.C., Santos J.E.P., Sartori R. 2016. Pivotal periods for pregnancy loss during the first trimester of gestation in lactating dairy cows. *Theriogenology.* 86: 239-253.
- Winkler M.T., Doster A., Jones C. 2000. Persistence and reactivation of Bovine Herpesvirus 1 in the Tonsils of Latently Infected Calvas. *Journal of Virology.* 74:5337-5336.
- Wolfe M.W., Stumpf T.T., Wolfe P.L., Day M.L., Koch R.M., Kinder J.E. 1990. Effect of selection for growth traits on age and weight at puberty in bovine females. *Journal of Animal Science.* 68: 1595-1602.
- Yuen B.S., Owens P.C., Mcfarlane J.R., Symonds M.E., Edwards L.J., Kauter K.G., Mcmillen I.C. 2002. Circulating leptin concentrations are positively related to leptin messenger RNA expression in the adipose tissue of fetal sheep in the pregnant ewe fed at or below maintenance energy requirements during late gestation. *Biol. Reprod.* 67: 911-916.
- Zimmerman A.D., Buterbaugh R.E., Herbert J.M., Hass J.M., Frank N.E., Luempertlii L.G., Chase C.C. 2007. Efficacy of bovine herpesvirus-1 inactivated vaccine against abortion and stillbirth in pregnant heifers. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 231:1386–1389.
- Zimmerman A.D., Klein A.L., Buterbaugh R.E., Rinehart C.L., Chase C.C. 2013. Protection against bovine herpesvirus type 1 (BHV-1) abortion following challenge 8 months or approximately 1 year after vaccination. *Bov. Pract.* 47:124–132.
- Zygraich, N., Lobmann M., Vascoboinic E., Berge E., Huygelen C. 1974. In vivo and in vitro properties of a temperature sensitive mutant of infectious bovine rhinotracheitis virus. *Research in Veterinary Science.* 16:328-335.