



unopar

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO STRICTO SENSU
MESTRADO EM SAÚDE E PRODUÇÃO DE RUMINANTES**

RENAN CARLOS VICENTIN DE CAMPOS SILVA

**AVALIAÇÃO DA TAXA DE PREENHEZ EM FÊMEAS NELORE
SUBMETIDAS À INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL EM TEMPO
FIXO COM UTILIZAÇÃO PRÉVIA DE VACINA CONTRA
VÍRUS DA DIARREIA VIRAL BOVINA**

Arapongas
2020

RENAN CARLOS VICENTIN DE CAMPOS SILVA

**AVALIAÇÃO DA TAXA DE PREENHEZ EM FÊMEAS NELORE
SUBMETIDAS À INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL EM TEMPO
FIXO COM UTILIZAÇÃO PRÉVIA DE VACINA CONTRA
VÍRUS DA DIARREIA VIRAL BOVINA**

Dissertação apresentada à Universidade Pitágoras Unopar, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Saúde e Produção de Ruminantes.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Elis Lorenzetti

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

S586a SILVA, Renan Carlos Vicentin de Campos
Avaliação da taxa de prenhez em fêmeas Nelore submetidas à inseminação artificial em tempo fixo com utilização prévia de vacina contra vírus da diarreia viral bovina / Renan Carlos Vicentin de Campos Silva. – Arapongas, 2020.
51 p. il.

Orientador: Elis Lorenzetti.
Dissertação (Mestrado) - UNOPAR, Mestrado em Saúde e Produção de Ruminantes, 2020.

1. BVDV. 2. IATF. 3. Programa reprodutivo. I. Lorenzetti, Elis. II. Título.

CDU 591.2

RENAN CARLOS VICENTIN DE CAMPOS SILVA

AVALIAÇÃO DA TAXA DE PREENHEZ EM FÊMEAS NELORE SUBMETIDAS À
INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL EM TEMPO FIXO COM UTILIZAÇÃO PRÉVIA DE
VACINA CONTRA VÍRUS DA DIARREIA VIRAL BOVINA

Dissertação apresentada à Universidade Pitágoras Unopar, no Mestrado em Saúde e Produção de Ruminantes, área de concentração Saúde animal, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre conferida pela Banca Examinadora formada pelos professores:



Orientadora: Profa. Dra. Elis Lorenzetti
UNOPAR Arapongas



Prof. Dr. Sérgio Tosi Cardim
UNOPAR Arapongas



Prof. Dr. Flávio Antônio Barca Júnior
UNOPAR Arapongas

Arapongas, 16 de dezembro de 2020.

Dedico este trabalho aos meus pais Angela e José Manoel, aos meus avós Ivone, Nivea e Lindolfo, pois luto a cada dia para que possa ser uma pessoa em que um dia meus filhos se inspirarão, assim como me inspiro neles, além de todos os envolvidos neste trabalho.

AGRADECIMENTOS

Nesta jornada de dois anos, me surpreendi com tanto conhecimento adquirido e pelo tanto que fui desafiado. Não foi nada fácil conciliar trabalho e estudo nos moldes em que segue minha jornada profissional, pela correria do dia a dia e por tudo que passamos para que possamos dar nosso melhor no ambiente de trabalho.

O fato de querer estar sempre em constante aprendizado me fez querer buscar algo a mais do que já vinha fazendo, mesmo estando com oito anos de graduado.

Gostaria de agradecer a Deus em primeiro lugar, pois sem ele nada disto seria possível, e também aos meus pais Angela e José Manoel, a minha avó Ivone e meu avô Lindolfo, todos por sempre me dar o total apoio, e é pelo exemplo de vida de cada um deles que tento ser uma pessoa melhor, um profissional melhor, sempre com respeito pelo próximo.

Sou imensamente grato a minha Orientadora Prof^a. Dr^a. Elis Lorenzetti, por todo conhecimento adquirido nesses anos, sendo das matérias que tivemos até a elaboração do projeto, por sempre me forçar a ir além do que eu imaginava que iria forçando a cada vez ser melhor a confecção deste trabalho.

Aos membros da banca de qualificação Prof^a. Dr^a. Amanda Fonseca Zangirolamo e Prof. Dr. Sérgio Tosi Cardim pelas importantes sugestões e contribuições.

A Prof^a. Dr^a. Fabíola Cristine de Almeida Rego Grecco e ao Prof. Dr. Luiz Fernando Coelho da Cunha Filho, por me receberem tão bem neste programa de uma instituição que não era a minha de graduação, porém sempre me fizeram sentir que estava em casa, além de todos os conhecimentos adquiridos com eles.

Queria agradecer e não poderia deixar de falar na figura do meu ex gerente, João Ivo, pelo fato de me dar total apoio nesta caminhada na busca deste título que será de muita importância na minha vida pessoal e profissional, por me dispensar de dias de serviço para que pudesse assistir as aulas do programa.

A Cocamar cooperativa, local onde trabalho, gostaria de deixar aqui o meu muito obrigado, por fazer com que este sonho se tornasse realidade, sabendo que não seria fácil a jornada e que teria que abdicar de dias de trabalho para que pudesse concluir este projeto.

E agradeço também a todos envolvidos neste projeto.

“Suas raízes de tão entranhadas na terra, não permitirão jamais que a árvore seja derrubada pelos ventos do modismo.” (Almir Sater)

SILVA, Renan Carlos Vicentin de Campos. **Avaliação da taxa de prenhez em fêmeas Nelore submetidas à inseminação artificial em tempo fixo com utilização prévia de vacina contra vírus da diarreia viral bovina.** 2020. 51 p. Dissertação (Mestrado em Saúde e Produção de Ruminantes), Universidade Pitágoras Unopar. Arapongas, 2020.

RESUMO

O objetivo do presente estudo foi avaliar a taxa de prenhez de fêmeas bovinas da raça Nelore que receberam vacina contendo cepas vivas modificadas do vírus da diarreia viral bovina (BVDV) tipo 1 e 2 durante o programa reprodutivo de inseminação artificial em tempo-fixo (IATF). Foram utilizadas 225 fêmeas bovinas da raça Nelore (*Bos taurus indicus*), com escore de condição corporal (ECC) entre 3.0 e 4.0, sendo 82 novilhas (24 a 30 meses de idade) e 143 vacas (48 a 96 meses de idade) multíparas lactantes, e período pós-parto variando de 35 a 60 dias. Em um dia aleatório do ciclo estral, as fêmeas receberam um protocolo hormonal de sincronização da ovulação para IATF e, aleatoriamente, foram destinadas ao grupo não vacinado/controle ou grupo vacina. No Dia 0 do protocolo de IATF, o grupo vacina recebeu uma única aplicação intramuscular, de 2 mL de vacina reprodutiva (Bovela[®], Boehringer Ingelheim Saúde Animal, São Paulo, Brasil), que apresenta em sua formulação cepas de vírus vivo modificado contra BVDV tipo 1 e 2. O grupo controle não recebeu vacina e todos os animais foram manejados juntos. Para IATF, foi utilizado um protocolo convencional de 3 manejos a base de progesterona e estradiol, sendo a inseminação realizada no Dia 10 por um único técnico e o diagnóstico de gestação no Dia 40 por ultrassom transretal. A taxa de prenhez foi analisada por modelo de regressão logística binária, sendo que o tratamento e a categoria foram considerados efeitos fixos e o ECC como covariável ($p \leq 0,05$). Aos 40 dias de estação de monta, a taxa de prenhez sofreu influência do uso da vacina reprodutiva [grupo vacina 72,3% (69/95) vs. grupo controle 56,1% (73/130); $p=0,01$], mas não da categoria de fêmea [novilha 65,8% (54/82) vs. vaca 61,5% (88/143); $p=0,68$]. No entanto, uma interação vacina*categoria ($p=0,05$) revelou maior taxa de prenhez para novilhas vacinadas em relação as novilhas e vacas não vacinadas [novilha*vacinada 77,5% (31/40), novilha*controle 54,8% (23/42), vaca*vacinada 69,1% (38/55) e vaca*controle 56,8% (50/88)]. Ao final da estação de monta a taxa de prenhez não sofreu influência da vacinação ($p=0,42$), da categoria ($p=0,19$) ou da interação da categoria com vacinação ($p=0,44$). Concluiu-se que a utilização de vacina reprodutiva contendo cepas vivas modificadas de BVDV tipo 1 e 2, aumenta a taxa de prenhez aos 40 dias da estação de monta em novilhas e vacas multíparas, mas não altera a taxa ao final da estação reprodutiva.

Palavras-chave: BVDV, IATF, Programa reprodutivo, Vacina Reprodutiva.

SILVA, Renan Carlos Vicentin de Campos. **Evaluation of pregnancy rate in Nellore females submitted to fixed-time artificial insemination with previous use of vaccine against bovine viral diarrhoea virus.** 2020. 51 p. Dissertação (Mestrado em Saúde e Produção de Ruminantes), Universidade Pitágoras Unopar. Arapongas. 2020.

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the pregnancy rate of Nellore bovine females that received vaccine containing modified live strains of bovine viral diarrhoea virus (BVDV) type 1 and 2 during the breeding program of fixed-time artificial insemination (FTAI). Two hundred twenty-five Nellore bovine females (*Bos taurus indicus*), with a body condition score (BCS) between 3.0 and 4.0, 82 heifers (24 to 30 months of age) and 143 lactating multiparous cows (48 to 96 months of age), and the postpartum period varying from 35 to 60 days were used. In a random day of the estrous cycle, females received a hormonal protocol for ovulation synchronization for FTAI and were randomly assigned to the unvaccinated/control or vaccine group. On Day 0 of the FTAI protocol, the vaccine group received a single intramuscular application of 2 mL of reproductive vaccine (Bovela[®], Boehringer Ingelheim Saúde Animal, São Paulo, Brazil), which contains modified live virus strains against BVDV type 1 and 2. The control group received no vaccine and all the animals were managed together. For IATF a conventional 3-management protocol based on progesterone and estradiol was used, with insemination performed on Day 10 by a single technician and pregnancy diagnosis by transrectal ultrasound on Day 40. The pregnancy rate was analyzed using a binary logistic regression model, with the treatment and category being considered fixed effects and the BCS as covariable ($P \leq 0.05$). At 40 days of breeding season, the pregnancy rate was influenced by the use of the reproductive vaccine [vaccine group 72.3% (69/95) vs. control group 56.1% (73/130); $P=0.01$], but not in the female category [heifer 65.8% (54/82) vs. cow 61.5% (88/143); $P=0.68$]. However, a vaccine*category interaction ($P=0.05$) revealed a higher pregnancy rate for vaccinated heifers compared to unvaccinated heifers and cows [vaccinated*heifer 77.5% (31/40), control*heifer 54.8% (23/42), vaccinated*cow 69.1% (38/55) and control*cow 56.8% (50/88)]. At the end of the breeding season, the pregnancy rate was not influenced by vaccination ($P=0.42$), category ($P=0.19$) or interaction of the category with vaccination ($P=0.44$). It was concluded that the use of reproductive vaccine containing modified live strains of BVDV type 1 and 2, increases the pregnancy rate at 40 days of breeding season in heifers and multiparous cows, but does not change the rate at the end of the breeding season.

Keywords: Breeding program, BVDV, FTAI, Reproductive vaccine.

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO II

Tabela 1. Taxa de prenhez ao final da estação de monta em novilhas e vacas vacinadas ou não com vacina reprodutiva previamente à primeira inseminação artificial em tempo-fixo.....	46
---	----

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO II

- Figura 1. Taxa de prenhez aos 40 dias de estação de monta em fêmeas bovinas da raça Nelore submetidas à inseminação artificial em tempo-fixo, após receber (Grupo vacina) ou não (Grupo controle) esquema de vacina reprodutiva contra vírus da diarreia viral bovina tipo 1 e 2, previamente ao programa de sincronização da ovulação..... 42
- Figura 2. Taxa de prenhez aos 40 dias de estação de monta de novilhas e vacas da raça Nelore submetidas à inseminação artificial em tempo-fixo, após receber esquema de vacina reprodutiva contra vírus da diarreia viral bovina tipo 1 e 2, previamente ao programa de sincronização da ovulação..... 42
- Figura 3. Taxa de prenhez aos 40 dias da estação de monta em novilhas e vacas vacinadas ou não com vacina reprodutiva contra vírus da diarreia viral bovina tipo 1 e 2, previamente à inseminação artificial em tempo-fixo..... 43

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

BCS - *Body condition score*

BoHV-1 - Alfaherpesvírus bovino tipo 1, Vírus da rinotraqueíte infecciosa bovina

BoHV-5 - Alfaherpesvírus bovino tipo 5

BRSV - Vírus respiratório sincicial bovino

BVD - Diarreia viral bovina

BVDV - Vírus da diarreia viral bovina / *Bovine viral diarrhea virus*

BVDV-1 - Vírus da diarreia viral bovina tipo 1

BVDV-2 - Vírus da diarreia viral bovina tipo 2

BVDV-3 - Vírus da diarreia viral bovina tipo 3

cp - Citopática

DM - Doença das mucosas

ECC - Escore de condição corporal

ELISA - *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*

EUA - Estados Unidos da América

FTAI - *Fixed-Time Artificial Insemination*

IATF - Inseminação artificial em tempo-fixo

IBR - Rinotraqueíte infecciosa bovina

kb - Kilobase

mg - Miligrama

MHz - Mega-Hertz

mL - Mililitro

mm - Milímetro

N - Número de amostras

ncp - Não citopática

nm - Nanômetro

p - Valor de P

PI - Persistentemente infectado

RT-PCR - Transcrição reversa seguida da reação em cadeia da polimerase

SARS-CoV-2 - Coronavírus da síndrome respiratória aguda grave 2

TI - Transitoriamente infectado

% - Porcentagem

°C - Grau celsius

SUMÁRIO

CAPÍTULO I

1. INTRODUÇÃO	12
2. REFERENCIAL TEÓRICO	14
2.1 Etiologia	14
2.2. Epidemiologia	15
2.3 Patogenia	17
2.4 Sinais Clínicos	18
2.5 Diagnóstico	20
2.6 Controle e Prevenção	21
2.7 Vacinação	22
2.8 Referências	25
3. HIPÓTESE	33
4. OBJETIVOS	34
4.1 Objetivo Geral	34
4.2 Objetivos Específicos	34

CAPÍTULO II

Artigo Científico - Avaliação da taxa de prenhez em fêmeas Nelore submetidas à inseminação artificial em tempo fixo com utilização prévia de vacina contra vírus da diarreia viral bovina

Resumo	36
Introdução	37
Material e Métodos	39
<i>Local, animais e manejo</i>	39
<i>Delineamento experimental</i>	39
<i>Inseminação artificial em tempo-fixo e diagnóstico de gestação</i>	40
<i>Análise estatística</i>	41
Resultados e Discussão	41
Conclusão	46
Referências	46

CONCLUSÕES **50** |

Apêndice 1 - Taxa de prenhez ao final da estação de monta em novilhas e vacas da raça Nelore após receber (Grupo vacina) ou não (Grupo controle) esquema de vacina reprodutiva previamente a estação de monta	51
--	-----------

CAPÍTULO I

1. INTRODUÇÃO

O Brasil possui o maior rebanho bovino comercial do mundo, com aproximadamente 214,69 milhões de cabeças (EMBRAPA, 2019; ABIEC, 2020), sendo considerado no mercado da carne, o segundo maior produtor e o maior exportador do mundo (USDA, 2019). O Brasil segue batendo recordes na exportação de carne bovina chegando a 1,847 milhões de toneladas, com uma receita de US\$ 7,59 bilhões (ABIEC, 2020) representando um crescimento de 12,4% nas exportações e um aumento de 15,5% na receita, em relação a 2018. No entanto, em 2020, as previsões globais de exportação e de crescimento diminuíram devido à pandemia COVID-19, doença ocasionada pelo coronavírus da síndrome respiratória aguda grave 2 - SARS-CoV-2 (USDA, 2020).

Quanto a bovinocultura de leite, a produção leiteira do Brasil no ano de 2018 foi superior a 33,8 bilhões de litros de leite, tendo um acréscimo de 1,6% em relação a 2017, gerando renda superior a 39 bilhões de reais, o que rendeu a terceira colocação em produção de leite de vaca no mundo com 33.490,810 toneladas, ranking liderado pelos Estados Unidos da América (EUA) com uma produção de 97.734,736 toneladas, seguido pela Índia com 83.633,570 toneladas (FAOSTAT, 2017; EMBRAPA, 2019).

Em 2018 foram ordenhadas 16.357,485 vacas, sendo que os maiores rebanhos pertenciam aos estados de Minas Gerais (3.147,732 animais), Goiás (1.930,594 animais) e Paraná (1.356,589 animais) (IBGE, 2018). Minas Gerais é o estado que apresenta a maior produção (8,9 bilhões de litros; 26,4% da produção nacional), seguido pelo estado do Paraná (4,4 bilhões de litros), e pelo estado do Rio Grande do Sul, que apesar de ter um rebanho menor que o estado de Goiás, apresenta maior produção de leite por animal, chegando a 4,2 bilhões de litros de leite (IBGE, 2018).

A ocorrência de diversas doenças, tais como: mastite, doenças respiratórias, doenças metabólicas, afecções de casco, endo e ectoparasitoses e doenças reprodutivas, representam fatores limitantes dentro da indústria pecuária. Tais doenças, diminuem a produtividade, a vida útil dos animais na propriedade, aumentam as taxas de descarte de animais, aumentam os custos com tratamento o que acaba por reduzir significativamente a lucratividade da propriedade, e a

competitividade dos bens produzidos, gerando um grande impacto econômico. Devido à sua natureza insidiosa e disseminada, as doenças reprodutivas, acabam por diminuir o desempenho reprodutivo dos animais afetados e conseqüentemente a produção de bezerros (BOTELHO et al., 2018; ZANATTO et al., 2019).

Dentre os principais problemas reprodutivos que acometem os bovinos, destacam-se anestro, falha na taxa de concepção, infertilidade, morte embrionária e/ou fetal, infecções uterinas, repetição ou ausência de cio, abortamento, natimortalidade, nascimento de bezerros fracos e retenção de placenta. Por conseqüência, os problemas reprodutivos podem desencadear alterações, nos parâmetros reprodutivos do rebanho, como aumento do intervalo de partos, aumento no número de doses de sêmen utilizadas, bem como diminuição no número de animais nascidos e desmamados, acarretando em prejuízos consideráveis (JUNQUEIRA et al., 2006; ALFIERI et al., 2019).

Cerca de 50% das falhas reprodutivas podem ser atribuídas a causas de origem infecciosa após os 30 dias de concepção (ALFIERI et al., 2019). Os agentes etiológicos frequentemente detectados em episódios de distúrbios reprodutivos são: bactérias (*Brucella abortus*, *Leptospira* spp., *Mycoplasma* sp. e *Campylobacter fetus*), vírus (alfaherpesvírus bovino tipo 1 (BoHV-1) e vírus da diarreia viral bovina (BVDV)), protozoários (*Tritrichomonas foetus* e *Neospora caninum*), fungos (*Fusarium* spp.) e micotoxinas (zearalenona), que podem atuar tanto de forma isolada quanto em associação (CORTEZ et al., 2006; JUNQUEIRA et al., 2006; TRÉS et al., 2011; BOTELHO et al., 2018).

O vírus BVDV está relacionado a uma série de síndromes que afetam os sistemas dos hospedeiros bovinos, tais como sistemas respiratório, digestório, linfático, circulatório, imunológico, músculo esquelético, sistema nervoso central e sistema reprodutivo (DIAS; SÂMARA, 2010). A doença associada ao BVDV pode levar a uma grande variedade de sinais clínicos, que vão desde infecções inaparentes ou com sinais leves da doença, até a forma aguda fatal. Pode também desenvolver enfermidade gastroentérica aguda ou crônica, infecção respiratória em bezerros, síndrome hemorrágica com trombocitopenia, patologia cutânea e imunossupressão (FLORES et al., 2005).

BVDV é considerado um dos principais patógenos dos bovinos, e apesar de ter sido identificado e associado à doença gastroentérica, os problemas reprodutivos ocasionados por este agente etiológico viral têm sido frequentemente relacionados à

perdas econômicas e falhas nos índices reprodutivos de rebanhos bovinos. As consequências da infecção pelo BVDV e a presença de sinais clínicos variam de acordo com as propriedades genéticas e antigênicas do vírus, *status* imunológico do hospedeiro, virulência da cepa viral, idade gestacional do hospedeiro, dentre outros fatores (BIANCHI et al., 2017).

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Etiologia

BVDV é um vírus que pertence à família *Flaviviridae*, gênero *Pestivirus* (ICTV, 2020). O gênero *Pestivirus* é composto por 11 espécies: BVDV-1 (*Pestivirus A*), BVDV-2 (*Pestivirus B*), vírus da peste suína clássica (*Pestivirus C*), vírus da doença da fronteira (*Pestivirus D*), *pronghorn antelope Pestivirus* (*Pestivirus E*), *porcine Pestivirus* (*Pestivirus F*), *giraffe Pestivirus* (*Pestivirus G*), *HoBi-like vírus* (*Pestivirus H*), *Aydin-like Pestivirus* (*Pestivirus I*), *rat Pestivirus* (*Pestivirus J*) e *Pestivirus atípico de suínos* (*Pestivirus K*) (ICTV, 2020).

A maioria das cepas vacinais pertence ao Vírus da diarreia viral bovina tipo 1 (BVDV-1), e este por sua vez pode ser classificado em 21 subgrupos (BVDV-1a a BVDV-1u) que possuem baixa a moderada virulência (NEILL et al., 2019). Vírus da diarreia viral bovina tipo 2 (BVDV-2) possui virulência variável, pois já foi isolado em surtos de diarreia viral bovina (BVD) aguda e pode ser classificado em três subgrupos (BVDV-2a, BVDV-2b e BVDV-2c) (FINO et al., 2012; BIANCHI et al., 2017).

O vírion dos pestivírus é considerado pequeno apresentando de 40 a 60 nm de diâmetro, o nucleocapsídeo é icosaédrico e está intimamente relacionado com o envelope (FLORES et al., 2005). Por ser um vírus envelopado, BVDV é mais suscetível à inativação por solventes e detergentes utilizados no ambiente (VIU et al., 2014).

Seu genoma é composto por uma molécula de RNA linear, fita simples, polaridade positiva com aproximadamente 12,5 kb. Durante a replicação, o genoma é traduzido em uma poliproteína e, simultaneamente, clivado para formar as proteínas estruturais (C, E^{ms}, E1, E2) e não estruturais (N^{pro}, p7, NS2-3, NS4A, NS4B, NS5A, NS5B) (DONIS et al., 1995; FLORES et al., 2018). As proteínas estruturais são utilizadas na montagem da progênie viral e as proteínas não

estruturais auxiliam na clivagem da poliproteína e na síntese de novas fitas de RNA (VILCEK et al., 2004). Os resultados do processo replicativo podem não afetar a integridade celular, como no caso de cepas não citopáticas de BVDV (BVDV ncp) ou podem causar destruição celular, como no caso de cepas citopáticas de BVDV (BVDV cp) (DONIS et al., 1995).

BVDV-1 e -2 (*Pestivirus A e B*) já foram descritos no Brasil e estão amplamente disseminados tanto em rebanhos com aptidão leiteira, quanto em rebanhos de corte, bem como cepas de *Pestivirus H* que inclui a cepa viral D32/00 “HoBi”, previamente denominado como vírus *HoBi-like* ou Vírus da diarreia viral bovina tipo 3 (BVDV-3) (MARQUES et al., 2016).

Quando vacas prenhes são infectadas por uma cepa não citopática de BVDV entre 40 e 120 dias de gestação, o vírus pode passar a barreira placentária e pode infectar o feto, e conseqüentemente, o animal que venha a nascer, acaba se tornando imunotolerante, uma vez que seu organismo considera BVDV como *self*. Nesse caso, os animais são persistentemente infectados (PI) e representam a principal fonte de infecção, transmissão e perpetuação da doença no rebanho (DEZEN et al., 2013).

2.2 Epidemiologia

Segundo Flores et al. (2000) BVDV foi descrito pela primeira vez em Nova York, por Olafson no ano de 1946. Este vírus é amplamente distribuído no mundo todo, promovendo um impacto econômico significativo na cadeia produtiva de bovinos (PINIOR et al., 2017). No Brasil, o primeiro relato clínico-patológico foi descrito por Correa no ano de 1968, o caso foi descrito como uma doença gastroentérica compatível com a forma clássica de BVD, a doença das mucosas (DM) e os estudos sorológicos começaram no Rio Grande do Sul no início da década de 70, a partir do soro de um bezerro coletado para uso em cultivos celulares (FLORES et al., 2005).

O vírus tem a capacidade de infectar uma variedade de ruminantes domésticos e silvestres, podendo também infectar suínos, no entanto, os bovinos são considerados seus hospedeiros naturais (FINO et al., 2012).

A doença está amplamente distribuída no mundo todo, sendo considerada uma das principais afecções dos bovinos (FLORES et al., 2003). Nos países europeus existem programas de controle e erradicação da doença, que começaram

na década de 90 nos países escandinavos, e que alcançaram o *status* de livre em aproximadamente 10 anos. Nesses países a vacinação não era realizada e a circulação de animais foi proibida para que seus rebanhos pudessem ser monitorados sorologicamente, no entanto, na Escócia, Alemanha, Bélgica e Irlanda, os programas de controle e erradicação de BVD seguem até hoje (FINO et al., 2012; METCALFE et al., 2019).

A transmissão de BVDV pode ser tanto de forma horizontal quanto vertical. A transmissão horizontal acontece de forma direta, por contato entre as mucosas, o que inclui a monta natural, e o contato direto entre os animais; ou pela forma indireta podendo ocorrer por meio da ingestão ou inalação de aerossóis, secreções nasais, secreções oculares, saliva, leite e sêmen; e também pela forma iatrogênica (FLORES et al., 2005). A transmissão vertical e os problemas ocasionados por esta contaminação irão depender do tipo de cepa cp ou ncp, virulência da cepa, além da idade gestacional em que o animal for infectado pelo BVDV pela via transplacentária. Pode ocorrer também a contaminação do bezerro pela ingestão do colostro (FINO et al., 2012).

A principal fonte de infecção, transmissão e perpetuação de BVDV nos rebanhos bovinos, são os animais PI, pois estes animais eliminam uma alta concentração de vírus em todas as suas secreções e excreções e acabam por expor os animais suscetíveis à infecções agudas (FLORES et al., 2000; FULTOM et al., 2020). Outra forma de introduzir a doença nos rebanhos acontece pela introdução de animais na propriedade, podendo ser animais na fase aguda da doença (animais transitoriamente infectados - TI), touros PIs, ou até mesmo a aquisição de fêmeas PIs gestantes na maioria das vezes de animais PIs (FINO et al., 2012).

Amostras oriundas da Argentina ($n=2$), Brasil ($n=10$), Egito ($n=1$), Finlândia ($n=8$) e Eslováquia ($n=1$) foram analisadas em um estudo conduzido por Vilcek et al. (2004), sendo que todos os rebanhos foram positivos para BVDV e foram detectados BVDV-1a, BVDV-1b, BVDV-1d e BVDV-2 na América do Sul e BVDV-1d, BVDV-1e, BVDV-1f e BVDV-1j no Egito, Finlândia e Eslováquia.

No Uruguai, Guarino et al. (2008) realizaram um estudo onde foi verificada soroprevalência de BVDV em 69% ($n=6358$) dos animais e em 100% ($n=230$) dos rebanhos analisados. No Chile em um estudo conduzido por Reinhard et al. (1990) a prevalência nas amostras analisadas foi de 73,8% ($n=1064$), sendo que estas pertenciam a 40 rebanhos diferentes.

No Brasil, vários estudos foram conduzidos e indicaram que a prevalência de BVDV em amostras analisadas é alta, tais como nos estados do Paraná (73,5% de 937), Maranhão (65,7% de 920), Goiás (64% de 3553), Rio Grande do Sul (58,8% de 697); Minas Gerais (57,6% de 245), São Paulo (56,5% de 131) e Bahia (56% de 220) (SÂMARA et al., 2004; FLORES et al., 2005; BRITO et al., 2010; CHAVES et al., 2012).

2.3 Patogenia

A infecção ocorre pela via oronasal e a replicação de BVDV se dá por meio do epitélio do sistema respiratório superior, orofaringe e dos tecidos linfoides regionais (GROOMS, 2004). O vírus também tem predileção pelas células das linhagens germinativas de ambos os sexos, encontrados também no sêmen e nos folículos ovarianos, além de tecidos em constante divisão, como as placas de *Peyer* e o feto, sendo locais de replicação viral (FINO et al., 2012).

A infecção transplacentária por BVDV até os 40 dias de gestação, na maioria dos casos leva a morte embrionária (FALKENBERG et al., 2019). Infecções entre 80 e 150 dias de gestação, pode levar a malformações fetais (hipoplasia cerebelar, microcefalia, hidrocefalia, mielinização deficiente na medula espinhal, atrofia ou displasia de retina, catarata, microftalmia, retardo do crescimento, braquignatismo, artrogripose), afetando principalmente o sistema nervoso central, que se encontra em processo de formação e diferenciação. Infecções no terço final da gestação, leva a uma infecção transitória, podendo resultar em morte fetal, natimortos, nascimento de bezerros normais e soropositivos (RIDPATH et al., 2012; LANYON et al., 2014; AGERHOLM et al., 2015). A infecção da fêmea gestante por uma cepa ncp de BVDV seguida da transmissão transplacentária durante os primeiros 180 dias de gestação pode resultar em morte embrionária, mumificação, abortamento, imunotolerância e malformação fetal (KHODAKARAM-TAFTI; FARJANIKISH, 2017).

A infecção de vacas prenhes entre o 40^o e 120^o dias de gestação por cepas ncp de BVDV pode levar ao nascimento de bezerros imunotolerantes e PIs (FERREIRA et al., 2008; MARTIN et al., 2016) porque nesse período da gestação o sistema imunológico do feto ainda está em formação, e passa a reconhecer as proteínas virais como próprias do organismo fazendo com que os animais não produzam anticorpos contra BVDV (DIAS et al., 2010; FINO et al., 2012).

Outra forma de manifestação da BVD é a DM, que acomete exclusivamente animais PI, quando estes são infectados, entre 6 a 24 meses de idade, com uma cepa cp de BVDV antígenicamente homóloga ou originadas de mutações ou recombinações genéticas da cepa ncp de BVDV presente no animal PI (WEBER et al., 2014).

2.4 Sinais Clínicos

Na primo-infecção, o animal acometido por BVDV apresenta um período de incubação de 5 a 7 dias e uma viremia transitória, com 10 a 15 dias de duração, podendo estar associado a leucopenia de curto prazo, linfopenia e/ou trombocitopenia, imunossupressão, diarreia, febre, além de anorexia, erosões orais leves e ulcerações, e secreções nasais e oculares (DIAS; SÂMARA, 2010; LANYON et al., 2014; KHODAKARAM-TAFTI; FARJANIKISH, 2017).

A gravidade e as consequências das infecções agudas pelo BVDV dependem dos seguintes fatores: virulência da cepa viral, biotipo de BVDV (cp ou ncp), *status* imunológico do animal, prenhez (fase gestacional) e presença de infecções secundárias (BAKER, 1995; LANYON et al., 2014). A infecção pelo BVDV está relacionada a várias manifestações clínicas, desde infecções subclínicas em animais imunocompetentes até doenças gastroentéricas, respiratórias, tegumentares, reprodutivas, imunossupressoras e infecções persistentes (LIMA et al., 2004; PLATT et al., 2017).

Dentre as manifestações da doença, a forma subclínica ou leve, tem alta morbidade e baixa letalidade, sendo a forma mais frequente de infecção por BVDV, caracterizada por febre leve, leucopenia, inapetência, diarreia leve, esta forma acomete indivíduos imunocompetentes soronegativos os quais entram em contato com o vírus após o nascimento (KHODAKARAM-TAFTI; FARJANIKISH, 2017).

Outra forma clínica da doença é a DM, sendo que a forma aguda é invariavelmente fatal e caracteriza-se por febre, anorexia, taquicardia, erosões em mucosas oral e nasal, sialorreia, desidratação e diarreia aquosa profusa (FINO et al., 2012). A DM crônica caracteriza-se por febre, diarreia e inapetência por vários dias, acometendo animais que não morreram pela forma aguda da doença. Outros sinais clínicos que também podem ocorrer são deformidades em cascos, erosões em mucosa oral e na pele, pelagem áspera e seca, sendo que a falha na cicatrização dessas erosões de pele pode ser um achado clínico importante da doença. Esses

casos crônicos podem perdurar por até 18 meses levando o animal a óbito por inanição (FINO et al., 2012; BIANCHI et al., 2017).

Devido a sua natureza imunossupressora, BVDV pode ocorrer em associação com outros agentes etiológicos como vírus respiratório sincicial bovino (BRSV), vírus da rinotraqueíte infecciosa bovina (BoHV-1) e *Mannheimia haemolytica*, pode ocasionar doença respiratória nos bovinos, tanto em trato respiratório superior, quanto trato respiratório inferior (DIAS; SÂMARA, 2010).

Quanto à doença aguda gastroentérica ocasionada pelo BVDV, esta costuma ser fatal na maioria dos casos, e está associada a isolados altamente virulentos de BVDV-2, e os animais apresentam depressão grave, dificuldade respiratória, anorexia, diarreia aquosa abundante, desintéria, febre até 42°C, conjuntivite e agalactia em vacas leiteiras (RADOSTITIS et al., 2007).

Os sinais clínicos relacionados ao sistema reprodutivo, não se limitam somente a abortos ou malformações fetais, mas também estão associados a mortalidade embrionária tanto precoce quanto tardia, que estão ligadas diretamente a repetições de cio, retenção de placenta, nascimento de bezerros fracos e natimortalidade (JUNQUEIRA et al., 2006; FINO et al., 2012; FALKENBERG et al., 2019). As falhas reprodutivas representam o maior impacto ocasionado pelo BVDV e se manifestam de acordo com o estágio gestacional, biotipo (cp/ncp) e virulência da cepa viral (FINO et al., 2012).

Quando em contato com o ovário, BVDV pode infectar o tecido ovariano, causando ooforite e ausência de ovulação, o que acaba por afetar diretamente a funcionalidade, interrompendo funções endócrinas e fisiológicas, diminuindo a fertilidade do animal acometido, além de reações inflamatórias na mucosa uterina e tubas uterinas, devido ao tropismo do vírus por células germinativas de ambos os sexos (OGUEJIOFOR et al., 2019; DIAS; SÂMARA, 2010).

Fray et al. (2002) analisaram a modulação da secreção de hormônios sexuais em 12 fêmeas positivas para BVDV de uma mesma propriedade, onde todas foram submetidas a protocolo de sincronização de cio. BVDV pode interromper a secreção espontânea de hormônios esteroides e resultar em um atraso na secreção de progesterona, em relação ao tempo de ovulação, o que demonstra que BVDV tem a capacidade de diminuir a fertilidade dos animais, assim como pode retardar o desenvolvimento embrionário e comprometer o reconhecimento materno da prenhez.

Em touros, a infecção pelo BVDV pode ocasionar baixa qualidade do sêmen, diminuição da motilidade e concentração espermática, além de defeitos morfológicos principalmente a nível de cabeça dos espermatozoides (GROOMS, 2004; DIAS; SÂMARA, 2010).

2.5 Diagnóstico

A suspeita da doença ocorre por meio das manifestações clínicas, tais como: aborto, nascimento de animais fracos, perdas embrionárias, má formação fetal, morte neonatal, além de casos de doença entérica e/ou respiratória com componentes hemorrágicos, assim como erosões e ulcerações em sistema digestório (FLORES, 2003). No entanto, para a obtenção de um diagnóstico conclusivo devem ser utilizados testes laboratoriais (FINO et al., 2012). Os testes laboratoriais mais utilizados são o isolamento viral, a RT-PCR, a imuno-histoquímica e o *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* (ELISA) (KHODAKARAM-TAFTI; FARJANIKISH, 2017).

De acordo com Flores (2003) a amostra de eleição para realizar o diagnóstico é sangue com anticoagulante (para animais PI e em infecção aguda), soro (preferencialmente pareado), órgãos (baço, timo, intestino e linfonodos), no caso de fetos, placenta e placentomas, além de órgãos e tecidos com lesões macroscópicas evidentes. Com estas amostras é possível realizar testes de diagnóstico para identificação de anticorpos virais específicos, antígenos específicos e a detecção do RNA viral (EVANS et al., 2019).

As técnicas de soroneutralização e ELISA são utilizadas para a identificação de anticorpos virais em animais expostos ao BVDV ou a antígenos virais (vacinas), e a soropositividade do animal indica apenas uma exposição prévia ao agente (FLORES, 2003; EVANS et al., 2019). Estas técnicas são amplamente utilizadas como triagem.

O isolamento viral em cultivo celular, como por exemplo, células *Madin-Darby Bovine Kidney* seguido por identificação através de imunofluorescência e/ou imunoperoxidase é considerado o padrão ouro para a identificação de BVDV, tanto para a detecção de casos isolados da doença quanto em programas de controle e erradicação (SALIKI; DUBOVI, 2004; FLORES, 2003).

O uso de RT-PCR com primers específicos para várias regiões do genoma, como por exemplo a região 5' *untranslated region* é muito comum, pelo fato de ser

uma técnica rápida, capaz de identificar com sucesso tanto BVDV-1 quanto BVDV-2, além de altamente sensível. É uma técnica utilizada para a identificação de infecções agudas e de animais PI e é indicado repetir os testes com intervalo de quatro semanas para concluir o diagnóstico (SALIKI; DUBOVI, 2004; LANYON et al., 2014).

2.6 Controle e Prevenção

Por se tratar de uma doença disseminada em todo o mundo, assim como no Brasil, tanto em rebanhos de corte quanto em rebanhos leiteiros, a alta prevalência deste agente tem justificado toda preocupação na constante identificação dos fatores de risco, tendo em vista medidas de controle e profilaxia, com intuito de minimizar os impactos e os efeitos desta infecção (DEZEN et al., 2013; BARBOSA et al., 2019).

Por não existir tratamento, temos que nos atentar que a chave do sucesso no controle está na prevenção da doença, onde os animais PIs por serem o principal reservatório e fonte de infecção para o rebanho devem ser identificados e eliminados do rebanho, tendo em vista que esses animais têm a capacidade de eliminar grandes quantidades do vírus ao longo da vida em todas as suas secreções e excreções e desta forma, contaminar o ambiente e animais suscetíveis (KHODAKARAM-TAFTI; FARJANIKISH, 2017).

Diversas são as práticas que podem ser realizadas para o controle da doença nos rebanhos, tais como: i) identificar e eliminar os animais positivos para BVDV do rebanho, ii) realizar a quarentena destes animais isolando dos demais e de comedouros e bebedouros compartilhados até que estes obtenham resultado sorológico negativo, iii) não adquirir animais provenientes de propriedades não testadas, especialmente a aquisição de fêmeas prenhes, pois estas podem vir gestando animais PIs, e iv) incluir cercas duplas nas divisas para evitar o contato entre rebanhos vizinhos (EVANS et al., 2019).

Além disso, é necessário estar atento ao nascimento de novos animais PI, sejam eles de fêmeas oriundas de outras propriedades (rebanhos abertos), ou até de fêmeas do próprio rebanho (rebanho fechado), além dos cuidados com touros positivos ou até mesmo PIs, submetidos a monta natural, visto que alguns estudos apontam que sêmen, pode conter BVDV (GROOMS, 2004).

É de extrema importância em qualquer programa de controle e erradicação da doença, a identificação dos animais positivos, podendo esta ser feita por meio de sorologia ou RT-PCR, esta última sendo considerada de maior eficácia para identificação de BVDV (LANYON et al., 2014; SALIKI; DUBOVI, 2004).

Dezen et al. (2013) realizaram exames de RT-PCR em 692 animais, sendo 27 bezerras lactentes, 43 bezerras desmamadas, 235 novilhas, 331 vacas, 57 vacas secas e 2 touros, em uma propriedade leiteira localizada no estado do Paraná onde foram identificados dois (0,26%) animais PI, sendo que segundo Houe (1995) este valor pode aumentar em até duas vezes quando animais com menos de 6 meses de idade são analisados.

Em um estudo conduzido por Dias et al. (2010) foi realizado um levantamento de animais PI em 26 rebanhos de corte e leite não vacinados contra BVDV nos estados de São Paulo e Minas Gerais, onde foram colhidas 5 amostras de animais de 6 a 12 meses de cada rebanho que foram submetidas a técnica de VN para pesquisa de anticorpos neutralizantes contra BVDV-1 e BVDV-2. Para a pesquisa de PIs foram selecionados os rebanhos onde pelo menos 3 dos 5 animais foram positivos para BVDV-1 ou BVDV-2 na VN com títulos superiores a 128, sendo realizada sorologia pareada com intervalo de 30 dias. As amostras de soro sanguíneo que não foram reagentes em pelo menos um dos testes de VN e em todas as amostras, reagentes ou não, de animais com idade inferior a 6 meses, foram submetidas à RT-PCR onde foi possível identificar animais PI em um dos 26 rebanhos analisados, sendo que dois (2,63%) animais com menos de 6 meses de idade eram PIs oriundos de um rebanho com 76 animais.

Aliada às medidas de controle e prevenção que podem ser implementadas em um rebanho, a vacinação é uma boa ferramenta (PLATT et al., 2017; FULTOM et al., 2020).

2.7 Vacinação

Devido ao alto custo de produção e a margem de lucro reduzida das propriedades, os produtores relutam em realizar a detecção dos animais PIs presentes nos rebanhos, devido ao custo do exame de RT-PCR, já que este inicialmente precisa ser realizado em todos os animais do rebanho e posteriormente repetido nos animais positivos por 3 a 4 vezes com intervalos de 30 dias, e também

devido à dificuldade em detectar estes animais, visto que somente 0,2 a 2% dos animais do rebanho são animais PI (HOUE, 1995).

Com isso, destaca-se a importância da vacinação das fêmeas em idade reprodutiva como método de controle e profilaxia da doença, visando aumentar a imunidade dos animais e desta forma, prevenir a ocorrência de doença clínica, assim como a viremia que é necessária para que ocorra a infecção transplacentária e conseqüentemente a ocorrência de animais PIs (PLATT et al., 2017).

Existem muitas vacinas comerciais para BVD, sendo algumas delas inativadas, outras vivas modificadas com virulência reduzida, e outras ainda, vivas termosensíveis, sendo conjugadas com outros agentes virais e agentes bacterianos (NEWCOMER et al., 2017).

As vacinas inativadas conferem maior segurança em relação as vacinas vivas, pelo fato da cepa inativada não ter a capacidade de replicar no organismo do animal vacinado, porém é necessário realizar reforços para alcançar bons índices de imunidade, o que acaba sendo considerado uma desvantagem deste tipo de vacina (NEWCOMER et al., 2017). As vacinas vivas modificadas, tem a tendência de estimular muito mais o sistema imune do animal proporcionando também a imunidade celular, e ainda sem a necessidade de reforços, além de serem capazes de proteger melhor as vacas prenhes e seus fetos, porém somente é possível utilizar em animais prenhes, se estes já foram previamente imunizados, não podendo portanto, ser realizada a vacinação de animais prenhes na primeira vacinação (PLATT et al., 2017).

As vacinas mais comuns são aquelas conjugadas com BoHV-1 e alfa herpesvírus bovino tipo 5 (BoHV-5), *Leptospira* spp. (sendo que a quantidade de sorovares varia de acordo com o laboratório) e BVDV-1 e BVDV-2 (FERREIRA et al., 2018). Alguns laboratórios também incluem em suas vacinas cepas de *Campylobacter* sp., *Histophilus somni*, parainfluenza bovina tipo 3 e BRSV, sendo que esses três últimos agentes presentes em algumas das vacinas, estão relacionados com problemas respiratórios, mesmo assim algumas empresas trazem estes agentes em suas formulações sendo comercializadas tanto para doenças reprodutivas quanto para doenças respiratórias (SINDAN, 2020).

Muitos técnicos de campo relutam em usar a vacina contra agentes causadores de doenças reprodutivas por alegarem que as mesmas podem diminuir a taxa de concepção dos animais submetidos a protocolos de inseminação artificial

em tempo fixo (IATF), por este motivo Ferreira et al. (2018) analisaram o uso de duas vacinas comerciais. Uma vacina conjugada de BVDV, BoHV-1 e *Leptospira* (*L. canicola*, *L. grippotyphosa*, *L. hardjo*, *L. icterohaemorrhagiae* e *L. Pomona* e a outra vacina somente *Leptospira* (mesmas cepas da anterior), onde 765 fêmeas multíparas destinadas a reprodução foram divididas em três grupos e foram submetidas ao mesmo protocolo de IATF. O grupo 1 e o grupo 2 foram vacinados com as respectivas vacinas no D-0 do protocolo e a dose reforço da vacina foi realizada no D-30, sendo que foi possível concluir que a vacinação não interferiu na taxa de concepção dos animais avaliados por meio da ultrassonografia realizada 30 e 90 dias após a IATF, sendo considerada perda gestacional as fêmeas que estavam prenhes aos 30 dias após IATF e aos 90 dias do início do protocolo estavam vazias.

Um estudo conduzido por Neto et al. (2019) buscou avaliar alguns protocolos vacinais na região do pantanal em 763 novilhas da raça Nelore, onde os animais foram divididos em 4 lotes, sendo que o primeiro era o grupo controle, o segundo foi submetido a vacina de Leptospirose, o terceiro foi submetido a uma vacina contendo BVDV e BoHV-1 e o quarto grupo foi vacinado com uma vacina contendo BVDV, BoHV-1 e sorovares de *Leptospira*. Os animais foram vacinados 30 dias antes da IATF e o reforço foi realizado no dia da IATF (D-0), entretanto, não foi possível verificar diferença estatística entre o desempenho reprodutivo de animais vacinados comparado com animais não vacinados.

Já Aono et al. (2013) conduziram um estudo nos estados do Mato Grosso do Sul e Mato Grosso, onde foram avaliadas 12724 fêmeas da raça Nelore em idade reprodutiva de várias propriedades, em quatro experimentos distintos onde foi avaliada a perda gestacional por meio de ultrassonografia no D-30 e no D-120 após IATF. Nos experimentos 1, 2 e 3 havia propriedades que continham animais nunca vacinados, propriedades com animais vacinados somente para leptospirose (duas doses no ano) e propriedades com animais vacinados contra BoHV-1, BVDV e leptospirose (vacinação anual). No experimento 4, animais que já eram submetidos a vacinação contra leptospirose (duas doses anuais) e foi introduzido o protocolo de vacinação sendo a primeira dose 30 dias antes da IATF e o reforço no dia da IATF e avaliando da mesma forma as perdas gestacionais por meio de ultrassonografia no D-30 e no D-120. Com estes experimentos foi possível concluir que as perdas

gestacionais foram menores nos animais vacinados do que nos animais que não haviam sido vacinados e os que eram vacinados somente contra leptospirose.

2.8 Referências

ABIEC - **Associação Brasileira das Indústrias Exportadoras de Carnes**, 2020. <<http://abiec.com.br/>>. Acesso em 14 de abril de 2020.

AGERHOLM, J.S.; HEWICKER-TRAUTWEIN, M.; PEPERKAMP, K.; WINDSOR, P.A. Virus-induced congenital malformations in cattle. **Acta Veterinaria Scandinavica**, v.57, n.1, p.54, 2015.

ALFIERI, A.A.; LEME, R.A.; AGNOL, A.M.D.; ALFIERI, A.F. Sanitary program to reduce embryonic mortality associated with infectious diseases in cattle. **Animal Reproduction**, v.16, n.3, p.386-393, 2019.

AONO, F.H.; COOKE, R.F.; ALFIERI, A.A.; VASCONCELOS, J.L.M. Effects of vaccination against reproductive diseases on reproductive performance of beef cows submitted to fixed-timed AI in Brazilian cow-calf operations. **Theriogenology**, v.79, p.242-248, 2013.

BAKER J.C. The clinical manifestations of bovine viral diarrhea infection. **The Veterinary clinics of North America. Food animal practice**, v.11, n.3, p.425-445, 1995.

BARBOSA, V.M.; GONDIM, C.C.; NASCIUTTI, N.R.; OLIVEIRA, P.M.; ALFIERI, A.A.; FRITZEN, J.T.T.; HEADLEY, S.A. Risk factors associated with viral infections (BoHV-1 and BVDV) in crossbreed dairy herds with reproductive failures, Uberlândia, MG. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.71, n.4, p.1243-1250, 2019.

BIANCHI, M.V.; KONRADT, G.; DE SOUZA, S.O.; BASSUINO, D.M.; SILVEIRA, S.; MÓSENA, A.C.S.; CANAL, C.W.; PAVARINI, S.P.; DRIEMEIER, D. Natural outbreak

of BVDV-1d-induced mucosal disease lacking intestinal lesions. **Veterinary Pathology**, v.54, n.2, p.242-248, 2017.

BOTELHO, M.P.A.; HIRSCH, C.; LAGE A.P.; ROCHA, C.M.B.M.; DORNELES, E.M.S.; CARDOSO, P.G.; COSTA, G.M. Prevalence of *Tritrichomonas foetus* and *Campylobacter fetus* subsp. *venerealis* among bulls slaughtered in the state of Minas Gerais, Brazil. **Semina: Ciências Agrárias**, v.39, n.5, p.2039-2048, 2018.

BRITO, W.M.E.D.; ALFAIA, B.T.; CAIXETA, S.P.M.B.; RIBEIRO, A.C.C.; MIRANDA, T.M.T.; BARBOSA, A.C.V.C.; BARTHASSON, D.L.; LINHARES, D.C.; FARIA, B.O. Prevalência da infecção pelo vírus da diarreia viral bovina (BVDV) no estado de Goiás, Brasil. **Revista de Patologia Tropical**, v.39, n.1, p.7-19, 2010.

CHAVES, N.P.; BEZERRA, D.C.; SOUZA, V.E.; SANTOS, H.P.; PEREIRA, H.M. Frequência e fatores associados à infecção pelo vírus da diarreia viral bovina em bovinos leiteiros não vacinados no estado do maranhão. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.79, n.4, p.495-502, 2012.

CORTEZ, A.; HEINEMANN, M.B.; CASTRO, A.M.M.G.; SOARES, R.M.; PINTO, A.M.V.; ALFIERI, A.A.; RICHTZENHAIN, L.J. Genetic characterization of Brazilian bovine viral diarrhea virus isolates by partial nucleotide sequencing of the 5'-UTR region. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.26, p.211-216, 2006.

DEZEN, S.; OTONEL, R.A.A.; ALFIERI, A.F.; LUNARDI, M.; ALFIERI, A.A. Bovine viral diarrhea virus (BVDV) infection profile in a high production dairy herd with vaccination program against BVDV. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.33, p.141-147, 2013.

DIAS, F.C.; SÂMARA, S.I. Aspectos relevantes da infecção pelo vírus da diarreia viral bovina (BVDV). **Biológico**, v.72, n.1, p.1-9, 2010.

DIAS, F.C.; MÉDICI, K.C.; ALEXANDRINO, B.; MEDEIROS, A.S.R.; ALFIERI, A.A.; SAMARA, S.I. Ocorrência de animais persistentemente infectados pelo vírus da

diarreia viral bovina em rebanhos bovinos nos Estados de Minas Gerais e São Paulo. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.30, n.11, p.933-939, 2010.

DONIS R.O. Molecular biology of bovine viral diarrhoea virus and its interactions with the host. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v.11, n.3, p.393-423 1995.

EMBRAPA - **Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária**, 2019. <<https://www.google.com/search?client=firefox-b-d&q=anuario+embrapa+2019>>. Acesso em 28 de maio de 2020.

EVANS, C.A.; PINIOR, B.; LARSKA, M.; GRAHAM, D.; SCHWEIZER, M.; GUIDARINI, C.; DECARO, N.; RIDPATH, J.; GATES, M.C. Global knowledge gaps in the prevention and control of bovine viral diarrhoea (BVD) virus. **Veterinary Microbiology**, v.206, p.78-83, 2019.

FALKENBERG, S.M.; DASSANAYAKE, R.P.; WALZ, P.; CASAS, E.; NEILL, J.D.; RIDPATH, J.F. Frequency of bovine viral diarrhoea virus detected in subpopulations of peripheral blood mononuclear cells in persistently infected animals and health outcome. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v.207, p.46-52, 2019.

FAOSTAT - **FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS, 2017**. Disponível em <<https://www.fao.org>>. Acesso em 29 de maio de 2020.

FERREIRA, L.C.L.; FERNANDES, H.J.; SILVA, A.G.; FERNANDES, C.E.; DUTRA, I.S.; PUPIN, R.C.; LEMOS, R.A.A. Impact of vaccination on the reproductive performance of multiparous Nelore cows. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.38, n.3, p. 456-461, 2018.

FERREIRA, L.C.L.; FLORES, E.F.; DRIEMEIER, D.; MELO, O.; LEMOS, R.A.A. Doença das mucosas associada à dermatite generalizada em bovinos, Mato Grosso do Sul. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.28, n.6, p.285-292, 2008.

FINO, T.C.M.; MELO, C.B.; RAMOS, A.F.; LEITE, R.C. Diarreia Bovina a Vírus (BVD) - uma breve revisão. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v.34, n.2, p.131-140, 2012.

FLORES E.F. Vírus da diarreia viral bovina. **Biológico**, v.65, n.1/2, p.3-9, 2003.

FLORES, E.F.; CARGNELUTTI, J.F.; MONTEIRO, F.L.; BAUERMANN, F.V.; RIDPATH, J.F.; WEIBLEN, R.A. Genetic profile of bovine pestiviruses circulating in Brazil (1998-2018). **Animal Health Research Reviews**, v.19, n.2, p.134-141, 2018.

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

FLORES, E.F.; WEIBLEN, R.; VOGEL, F.S.F.; ROEHE, P.M.; ALFIERI, A.A.; PITUCO, E.M. A infecção pelo vírus da diarreia viral bovina (BVDV) no Brasil: histórico, situação atual e perspectivas. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.25, p.125-134, 2005.

FRAY, M.D.; MANN, G.E.; CLARKE, M.C.; CHARLESTON. B. Bovine viral diarrhoea virus: its effects on estradiol, progesterone and prostaglandin secretion in the cow. **Theriogenology**, v.51, p.1533-1546, 2002.

FULTON, R.W.; COOK, B.J.; PAYTON, M.E.; BURGE, L.J.; STEP, D.L. Immune response to bovine viral diarrhoea virus (BVDV) vaccines detecting antibodies to BVDV subtypes 1a, 1b, 2a and 2c. **Vaccine**, v.38, n.24, p.4032-4037, 2020.

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

GUARINO, H.; NUNES, A.; REPISO, M.V.; GIL, A.; DARGATZ, D.A. Prevalence of serum antibodies to bovine herpesvirus-1 and bovine viral diarrhoea virus in beef cattle in Uruguay. **Preventive Veterinary Medicine**, v.85, n.1-2, p.34-40, 2008.

HOUE, H. Epidemiology of bovine viral diarrhoea virus. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v.11, n.3, p.521-547, 1995.

IBGE. **Censo Agropecuário, Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística**. 2018. Disponível em: <<http://www.ibge.org.br>>. Acesso em 28 de maio de 2020.

ICTV - International Committee of Taxonomy of Viruses. **Flaviviridae**. 2020. Disponível em: <<https://www.ictvonline.org>>. Acesso em 28 de maio de 2020.

JUNQUEIRA, J.R.C.; FREITAS, J.C.; ALFIERI, A.F.; ALFIERI, A.A. Avaliação do desempenho reprodutivo de um rebanho bovino de corte naturalmente infectado com BoHV-1, BVDV e *Leptospira hardjo*. **Semina: Ciências Agrárias**, v.27, n.3, p.471-480, 2006.

KHODAKARAM-TAFTI, A.; FARJANIKISH, G.H. Persistent bovine viral diarrhoea virus (BVDV) infection in cattle herds. **Iranian Journal of Veterinary Research**, v.18, n.3, p.154-163, 2017.

LANYON, S.R.; HILL, F.I.; REICHEL, M.P.; BROWNLIE, J. Bovine viral diarrhoea: pathogenesis and diagnosis. **The Veterinary Journal**, v.199, n.2, p.201-209, 2014.

LIMA, M.; FLORES, E.F.; WEIBLEN, R.; VOGEL, F.S.F.; ARENHART, S. Caracterização de amostras atenuadas do Vírus da diarréia viral bovina (BVDV) tipos 1 e 2 para uso em vacinas. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.24, n.1, p.35-42, 2004.

MARQUES, A.L.A.; MAIA, L.A.; AGUIAR, G.M.N.; WEBER, M.N.; SIMOES, S.V.D.; AZEVEDO, S.S. Detecção do vírus 'HoBi'-like (BVDV-3) em bovino no semiárido do Estado da Paraíba. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.36, n.11, p.1081-1086, 2016.

MARTIN, C.C.; BACCILI, C.C.; SILVA, B.T.; NOVO, S.M.F.; SOBREIRA, N.M.; PITUDO, E.M.; GOMES, V. Detection of bovine viral diarrhoea virus infection in newborn calves before colostrum intake. **Semina: Ciências Agrárias**, v.37, n.3, p.1379-1388, 2016.

METCALFE, L.V.A. An Update on the status of BVD control and eradication in Europe. **Journal of Veterinary Science & Medicine**, v.7, n.1, p.4, 2019.

NETO, E.S.; NOGUEIRA, E.; JARDIM, R.; ABREU, U.G.P.; PELLEGRIN, A.O.; STERZA, F.A.M.; JULIANO, R.S. Reproductive performance of Nellore heifers raised in extensive system undergoing different vaccination protocols in fixed-time artificial insemination (FTAI). **Ciência Rural**, v.49, n.11, e20180902, 2019.

NEILL, J.D.; WORKMAN, A.M.; HESSE, R.; BAI, J.; PORTER, E.P.; MEADORS, B.; ANDERSON, J.; BAYLES, D.O.; FALKENBERG, S.M. Identification of BVDV2b and 2c subgenotypes in the United States: Genetic and antigenic characterization. **Virology**, v.528, p.19-29, 2019.

NEWCOMER, B.W.; CHAMORRO, M.F.; WALZ, P.H. Vaccination of cattle against bovine viral diarrhoea virus. **Veterinary Microbiology**, v.206, p.78-83, 2017.

OGUEJIOFOR, C.F.; THOMAS, C.; CHENG, Z.; WATHES, D.C. Mechanisms linking bovine viral diarrhoea virus (BVDV) infection with infertility in cattle. **Animal Health Research Reviews**, v.20, n.1, p.72-85, 2019.

PINIOR, B.; FIRTH C.L.; RICHTER, V.; LEBL, K.; TRAUFFLER, M.; DZIECIOL, M.; HUTTER, S.E.; BURGSTALLER, J.; OBRITZHAUSER, W.; WINTER, P.; KÄSBOHRER, A.A systematic review of financial and economic assessments of bovine viral diarrhoea virus (BVDV) prevention and mitigation activities worldwide. **Preventive Veterinary Medicine**, v.137, p.77-92, 2017.

PLATT, R.; KESL, L.; GUIDARINI, C.; WANG, C.; ROTH, J.A. Comparison of humoral and T-cell-mediated immune responses to a single dose of Bovela[®] live

double deleted BVDV vaccine or to a field BVDV strain. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v.187, p.20-27, 2017.

RADOSTITS, O.M.; GAY, C.C.; HINCHCLIFF, K.W. *Veterinary Medicine: A textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs and goats*. 10th ed., Saunders-Elsevier, Edinburgh, 2007. 1248, 1277p.

REINHARDT, G.; RIEDEMANN, S.; ERNST, S.; AGUILAR, M.; ENRIQUEZ, R.; GALLARDO, J. Seroprevalence of bovine viral diarrhoea/mucosal disease in southern Chile. **Preventive Veterinary Medicine**, v.10, n.1-2, p.73-78, 1990.

RIDPATH, J.F.; BAUERMANN, F.V.; FLORES, E.F. **Flaviviridae**. In: FLORES, E.F. *Virologia veterinária: virologia geral e doenças víricas*. 2.ed. Santa Maria: UFSM, 2012. p.657-689.

SALIKI, J.T.; DUBOVI, E.J. Laboratory diagnosis of bovine viral diarrhoea virus infections. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**. v.20, n.1, p.69-83, 2004.

SÂMARA, S.I.; DIAS, F.C.; MOREIRA, S.P.G. Ocorrência da diarréia 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, n.6, p.396-403, 2004.

SINDAN - **SINDICATO NACIONAL DA INDÚSTRIA DE PRODUTOS PARA SAÚDE ANIMAL**. Disponível em: <<http://www.sindan.org.br>>. Acesso em 09 de julho de 2020.

TRÉS, J.E.; PEREIRA, R.C.G.; OLIVEIRA, J.P.; DIREITO, G.M.; JESUS, V.L.T.; JACOB, J.C.F. Influência da zearalenona sobre a reprodução de novilhas mestiças. *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*, v.33, n.1, p.48-50, 2011.

USDA - **United States Department of Agriculture**. 2019. Brazil Once Again Becomes the World's Largest Beef Exporter. Disponível em:

<<https://www.ers.usda.gov/amber-waves/2019/july/brazil-once-again-becomes-the-world-s-largest-beef-exporter/>> Acesso em 07 de novembro de 2020.

USDA - **United States Department of Agriculture**. 2020. Livestock and Poultry: World Markets and Trade. Disponível em: <https://apps.fas.usda.gov/psdonline/circularslivestock_poultry.pdf> Acesso em 14 de abril de 2020.

VILCEK, S.; DURKOVIC, B.; KOLESÁROVÁ, M.; GREISER-WILKE, I.; PATON, D. Genetic diversity of international bovine viral diarrhoea virus (BVDV) isolates: identification of a new BVDV-1 genetic group. **Veterinary Research**, v.35, n.5, p.609-615, 2004.

VIU, M.A.O.; DIAS, L.R.O.; LOPES, D.T.; VIU, A.F.M.; FERRAZ, H.T. Diarreia viral bovina: revisão. **PUBVET**, v.8, n.3, Ed.252, Art.1670, 2014.

WEBER, M.N.; SILVEIRA, S.; MACHADO, G.; GROFF, F.H.S.; MÓSENA, A.C.S.; BUDASZEWSKI, R.F.; DUPONT, P.M.; CORBELLINI, L.G.; CANAL, C.W. High frequency of bovine viral diarrhea virus type 2 in Southern Brazil. **Virus Research**, v.191, p.117-124, 2014.

ZANATTO, D.C.S.; GATTO, I.R.H.; LABRUNA, M.B.; JUSI, M.M.G.; SÂMARA, S.I.; MACHADO, R.Z.; ANDRÉ, M.R. Coxiella burnetii associated with BVDV (Bovine Viral Diarrhea Virus), BoHV (Bovine Herpesvirus), Leptospira spp., Neospora caninum, Toxoplasma gondii and Trypanosoma vivax in reproductive disorders in cattle. **Brazilian Journal of Veterinary Parasitology**, v.28, n.2, p.245-257, 2019.

3. HIPÓTESE

O uso de vacina reprodutiva contendo cepas vivas modificadas do vírus da diarreia viral bovina tipo 1 e 2 resulta em melhor taxa de gestação de fêmeas bovinas da raça Nelore submetidas a um programa de inseminação artificial em tempo-fixo.

4. OBJETIVOS

4.1 OBJETIVO GERAL

- Avaliar a performance reprodutiva em fêmeas bovinas da raça Nelore (*Bos taurus indicus*) submetidas a protocolo de inseminação artificial em tempo-fixado (IATF), utilizando protocolo de vacinação reprodutiva contendo cepas vivas modificadas do vírus da diarreia viral bovina (BVDV) tipo 1 e 2.

4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar o efeito da vacina reprodutiva contra BVDV sobre a taxa de prenhez à IATF no início e ao final da estação de monta;

- Determinar a taxa de prenhez em novilhas Nelore vacinadas com cepas vivas modificadas de BVDV tipo 1 e 2, submetidas à IATF;

- Determinar a taxa de prenhez em vacas Nelore vacinadas com cepas vivas modificadas de BVDV tipo 1 e 2, submetidas à IATF.

CAPÍTULO II

**AVALIAÇÃO DA TAXA DE PREENHEZ EM FÊMEAS NELORE SUBMETIDAS À
INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL EM TEMPO FIXO COM UTILIZAÇÃO PRÉVIA DE
VACINA CONTRA VÍRUS DA DIARREIA VIRAL BOVINA**

Avaliação da taxa de prenhez em fêmeas Nelore submetidas à inseminação artificial em tempo fixo com utilização prévia de vacina contra vírus da diarreia viral bovina

Resumo

O objetivo do presente estudo foi avaliar a taxa de prenhez de fêmeas bovinas da raça Nelore que receberam vacina contendo cepas vivas modificadas do vírus da diarreia viral bovina (BVDV) tipo 1 e 2 durante o programa reprodutivo de inseminação artificial em tempo-fixo (IATF). Foram utilizadas 225 fêmeas bovinas da raça Nelore (*Bos taurus indicus*), com escore de condição corporal (ECC) entre 3.0 e 4.0, sendo 82 novilhas (24 a 30 meses de idade) e 143 vacas (48 a 96 meses de idade) multíparas lactantes, e período pós-parto variando de 35 a 60 dias. Em um dia aleatório do ciclo estral, as fêmeas receberam um protocolo hormonal de sincronização da ovulação para IATF e, aleatoriamente, foram destinadas ao grupo não vacinado/controle ou grupo vacina. No Dia 0 do protocolo de IATF, o grupo vacina recebeu uma única aplicação intramuscular, de 2 mL de vacina reprodutiva (Bovela[®], Boehringer Ingelheim Saúde Animal, São Paulo, Brasil), que apresenta em sua formulação cepas de vírus vivo modificado contra BVDV tipo 1 e 2. O grupo controle não recebeu vacina e todos os animais foram manejados juntos. Para IATF, foi utilizado um protocolo convencional de 3 manejos a base de progesterona e estradiol, sendo a inseminação realizada no Dia 10 por um único técnico e o diagnóstico de gestação no Dia 40 por ultrassom transretal. A taxa de prenhez foi analisada por modelo de regressão logística binária, sendo que o tratamento e a categoria foram considerados efeitos fixos e o ECC como covariável ($p \leq 0,05$). Aos 40 dias de estação de monta, a taxa de prenhez sofreu influência do uso da vacina reprodutiva [grupo vacina 72,3% (69/95) vs. grupo controle 56,1% (73/130); $p=0,01$], mas não da categoria de fêmea [novilha 65,8% (54/82) vs. vaca 61,5% (88/143); $p=0,68$]. No entanto, uma interação vacina*categoria ($p=0,05$) revelou maior taxa de prenhez para novilhas vacinadas em relação as novilhas e vacas não vacinadas [novilha*vacinada 77,5% (31/40), novilha*controle 54,8% (23/42), vaca*vacinada 69,1% (38/55) e vaca*controle 56,8% (50/88)]. Ao final da estação de monta a taxa de prenhez não sofreu influência da vacinação ($p=0,42$), da categoria ($p=0,19$) ou da interação da categoria com vacinação ($p=0,44$). Concluiu-se que a utilização de vacina reprodutiva contendo cepas vivas modificadas de BVDV tipo 1 e 2, aumenta a

taxa de prenhez aos 40 dias da estação de monta em novilhas e vacas múltíparas, mas não altera essa taxa ao final da estação reprodutiva.

Palavras-chave: BVDV; IATF; Programa reprodutivo; Vacina Reprodutiva.

Introdução

A ocorrência de falhas reprodutivas relacionadas às doenças infecciosas tem sido apontada como umas das principais causas de prejuízos econômicos, tanto em bovinos de corte, quanto de leite (Junqueira e Alfieri, 2006; Aono et al., 2013; Newcomer et al., 2015). Tal contexto tem ganhado destaque nas últimas décadas, pois a intensificação dos programas reprodutivos associado ao uso em larga escala de técnicas como a inseminação artificial em tempo-fixo (IATF) e a produção *in vitro* de embriões, acabam por aumentar de forma significativa a densidade de animais por área, além de aumentar os níveis de *stress* desses animais, o que tem favorecido a ocorrência de problemas sanitários, tornando-se uma questão cada vez mais desafiadora nos rebanhos (Marques et al., 2018; Alfieri et al., 2019). Portanto, além de uma nutrição adequada, uma atenção especial deve ser dada aos programas sanitários dos rebanhos, visando a implementação de estratégias que minimizem os impactos negativos sobre a reprodução e produção animal, de forma a garantir sistemas pecuários mais eficientes e sustentáveis (Cruz et al., 2011; Alfieri et al., 2019).

Uma ampla variedade de fatores pode determinar a ocorrência de perdas gestacionais em bovinos, tal como alterações genéticas, desbalanço nutricional, deficiência mineral e falhas de manejo (Junqueira e Alfieri, 2006). No entanto, as causas infecciosas associadas aos vírus, bactérias e protozoários são responsáveis por até 50% de todas as perdas gestacionais dos rebanhos (Khodakaram-Tafti; Ikede, 2005; Marques et al., 2018). Além disso, a ocorrência de repetição de cio, abortamento, natimorto, nascimento de bezerros fracos, retenção placentária, infecções uterinas e baixos índices reprodutivos ao final da estação de monta também estão associadas a problemas reprodutivos de ordem sanitária (Silke et al., 2002; Newcomer et al., 2017; Richter et al., 2017; Alfieri et al., 2019). Todo este contexto acarreta prejuízos econômicos devido aos custos com diagnóstico, tratamento e/ou ao descarte dos animais.

Agentes etiológicos causadores de problemas reprodutivos, tais como: alfaherpesvírus bovino tipo 1 (BoHV-1), vírus da diarreia viral bovina (BVDV) e *Leptospira* spp., estão amplamente disseminados em rebanhos bovinos de corte e de leite (Walsh et al., 2011; Aono et al., 2013; Pereira et al., 2013; Libonati et al., 2018). No Brasil, um estudo conduzido com vários rebanhos de corte sem histórico de vacinação prévia, apontou que a soroprevalência para BoHV-1 variou de 7 a 74% e para BVDV variou de 9 a 63% (Aono et al., 2013). Estes altos índices de soroprevalência em rebanhos não vacinados sugerem a circulação viral, reforçando o desafio sanitário que os rebanhos comerciais enfrentam, bem como a necessidade de implementação de estratégias de imunização para o controle das manifestações clínicas de ordem sanitárias.

Embora diversas técnicas vem sendo adotadas para o controle e prevenção das perdas gestacionais, como planejamentos nutricionais e práticas de manejo, o uso de vacinas contra as doenças reprodutivas tem se mostrado altamente efetivo (Pereira et al., 2013). Estudo realizado por Aono et al. (2013) em rebanhos Nelore (*Bos taurus indicus*) demonstrou a efetividade da aplicação de vacina reprodutiva, que apresentava cepas de BoHV-1 e BVDV e sorovares de *Leptospira*. Neste estudo, os autores constataram que o esquema de vacinação reduziu a perda gestacional associada a estes patógenos e aumentou a taxa de prenhez ao final da estação de monta em relação ao grupo controle não vacinado.

Pertencente ao gênero *Pestivirus*, família *Flaviviridae*, BVDV é considerado um dos principais patógenos virais causadores de doenças nos rebanhos bovinos. Clinicamente, a infecção pelo BVDV pode se apresentar como enfermidade gastrointestinal, respiratória ou reprodutiva, sendo que a forma reprodutiva se caracteriza por repetição de cio, perda embrionária, abortamento e mumificação (Dezen et al., 2013). A exposição viral do feto entre 18 a 125 dias de gestação pode levar a imunotolerância e infecção persistente (Newcomer et al., 2015). Desta forma a identificação e consequente eliminação de animais torna-se inviável devido ao alto custo, pois menos de 1% dos animais no rebanho são persistentemente infectados (PI), tornando a vacinação o método mais confiável para o controle da doença. O uso da vacina é indicado para prevenir sinais clínicos após exposição ao BVDV e prevenir viremia principalmente transplacentária e futura geração de animais PI (Newcomer et al., 2017).

O uso de vacinas contendo cepas de vírus vivo modificado ou vacinas inativadas apresentam uma boa proteção contra falhas reprodutivas causadas pelo BoHV-1, diminuindo a latência e os casos de aborto em vacas primíparas sem histórico vacinação (Chase et al., 2017). Adicionalmente, Walz et al. (2017) constataram eficácia empregando duas doses de vacina multivalente contendo cepas de BoHV-1, BVDV tipo 1 e tipo 2 e vírus respiratório sincicial bovino (BRSV) pré-estação de monta. Neste contexto, o uso de vacina contendo apenas cepas vivas modificadas de BVDV tipo 1 e tipo 2 para controle de problemas reprodutivos tem sido pouco estudado nos sistemas de criação de bovinos do Brasil. Em vista disso, o objetivo do presente estudo foi avaliar a taxa de prenhez de fêmeas bovinas da raça Nelore (*Bos taurus indicus*) que receberam vacinação contendo cepas vivas de BVDV tipo 1 e tipo 2 no primeiro dia do protocolo de IATF.

Material e Métodos

Local, animais e manejo

O experimento foi realizado durante a estação de monta de 2019/2020 em uma fazenda comercial de bovinos de corte que realiza o sistema de cria e cria no município de Tamarana, Paraná, Brasil (Latitude: 23° 48' 33" Sul, Longitude: 51° 9' 42" Oeste). Nesta região o clima é caracterizado por ser do tipo subtropical úmido (Cfa - classificação de Köppen) com invernos apresentando temperaturas inferiores a 18°C e sem estações secas definidas, e com verões quentes, apresentando temperaturas superiores a 22°C e média pluviométrica de 1.525 mm (Moura, 2001).

Foram utilizadas 225 fêmeas bovinas da raça Nelore (*Bos taurus indicus*) que foram mantidas em pastagem de *Brachiaria brizantha* cultivar marandu e receberam suplementação mineral e água *ad libitum*. Os animais apresentavam escore de condição corporal entre 3.0 e 4.0 (escala de 1 a 5) segundo a metodologia descrita por Machado et al. (2008). Das fêmeas selecionadas para o estudo, 82 eram novilhas e tinham entre 24 a 30 meses de idade e 143 eram vacas múltiparas (48 a 96 meses de idade) lactantes, com período pós-parto variando de 35 a 60 dias.

Delineamento experimental

Durante a estação de monta, as fêmeas receberam um protocolo hormonal de sincronização da ovulação para IATF. Neste mesmo dia, de forma aleatória, as

fêmeas foram distribuídas em dois grupos experimentais: grupo não vacinado/controle (N = 130 animais, sendo 42 novilhas e 88 vacas múltíparas) e grupo vacina (N = 95 animais, sendo 40 novilhas e 55 vacas múltíparas).

Todas as fêmeas foram manejadas num mesmo lote, embora somente o grupo vacina recebeu vacinação no Dia 0 do protocolo de IATF. O esquema vacinal consistiu numa única aplicação intramuscular, de vacina reprodutiva (Bovela[®], Boehringer Ingelheim Saúde Animal, São Paulo, Alemanha) seguindo orientações do fabricante. A vacina apresenta em sua formulação cepas de vírus vivo modificado (dupla deleção) contra diarreia viral bovina (BVD) tipo 1b e tipo 2a.

Inseminação Artificial em Tempo-Fixo (IATF) e diagnóstico de gestação

O protocolo de IATF foi iniciado em todas as fêmeas do experimento em um dia aleatório do ciclo estral (Dia 0), com a aplicação de 2 mg de benzoato de estradiol (Syncrogen[®], GlobalGen Vet Science, Jaboticabal, São Paulo, Brasil) e a inserção de um dispositivo intravaginal de primeiro uso, impregnado com 1 g de progesterona (Repro neo[®], GlobalGen Vet Science, Jaboticabal, São Paulo, Brasil) nas vacas e um dispositivo contendo 0,5 g de progesterona (Repro one[®], GlobalGen Vet Science, Jaboticabal, São Paulo, Brasil) nas novilhas.

Após 8 dias (Dia 8) foi retirado o dispositivo de progesterona e aplicado em todos os animais 300 UI de gonadotrofina coriônica equina (eCGen[®], GlobalGen Vet Science, Jaboticabal, São Paulo, Brasil), 0,526 mg de cloprostenol (Induscio[®], GlobalGen Vet Science, Jaboticabal, São Paulo, Brasil) e cipionato de estradiol (0,6 mg para novilha e 1 mg para vacas; Cipion[®], GlobalGen Vet Science, Jaboticabal, São Paulo, Brasil).

No dia 10 (48 horas após a retirada do dispositivo intravaginal) um único técnico realizou a inseminação de todas as fêmeas empregando sêmen convencional de um único touro, descongelado a temperatura de 36°C por 30 segundos. O diagnóstico de gestação foi realizado em todas as fêmeas 30 dias após a IATF (Dia 40) por exame ultrassonográfico transretal (Ultrassom Sonoscape A5 Vet equipado com transdutor linear retal de 7.5 MHz), sendo que a gestação foi confirmada pela presença do concepto viável no útero.

No mesmo dia que foi realizado o diagnóstico de gestação do primeiro manejo de IATF (Dia 40), as fêmeas que não ficaram gestantes receberam novamente os mesmos fármacos do Dia 0, iniciando assim, o protocolo de ressincronização para

uma 2ª IATF (empregou-se os mesmos hormônios descritos no primeiro protocolo de IATF, sendo que a IA foi realizada no Dia 50). Após dez dias de inseminação (Dia 60), touros Nelore foram inseridos no lote de vacas na proporção de 1 touro para 25 vacas, com a finalidade de realizar a monta natural das fêmeas que retornassem estro até o final da estação reprodutiva (Dia 80). Ao final da estação de monta, todos os animais foram reavaliados para determinar o *status* gestacional global.

Análise estatística

A taxa de prenhez foi analisada por modelo de regressão logística binária, sendo considerado no modelo o efeito do tratamento (controle e vacina) e da categoria de fêmeas submetidas à IATF (novilha e vaca) e interação (vacina*categoria). Na presença de um efeito significativo, os grupos foram analisados pelo teste de proporção para duas amostras (2 x 2), a fim de se estabelecer o *ranking* entre as variáveis categóricas. Para análise descritiva, os dados estão apresentados como porcentagem (%). Todas as análises foram realizadas no programa estatístico Minitab[®], versão 18.1. Foi adotado um nível de significância $\leq 0,05$ para indicar um efeito das variáveis categóricas e suas interações.

Resultados e Discussão

O diagnóstico gestacional realizado 40 dias após a estação de monta revelou um efeito da vacinação ($p=0,01$) sobre a taxa de prenhez, sendo que o grupo vacina demonstrou uma prenhez de aproximadamente 16 pontos percentuais superior ao grupo controle (Figura 1). Neste mesmo período, a taxa de prenhez não sofreu efeito da categoria de fêmea ($p=0,68$; Figura 2), mas foi influenciada pela interação vacina*categoria ($p=0,05$; Figura 3).

Ao analisar o efeito associado do esquema vacinal (controle e vacina) e de diferentes categorias (vacas e novilha), foi observado que a interação novilhas vacinadas alcançaram a maior taxa de prenhez (Figura 3; $p=0,05$), sendo superior as vacas e novilhas não vacinadas, mas semelhante as vacas que receberam esquema vacinal prévio.

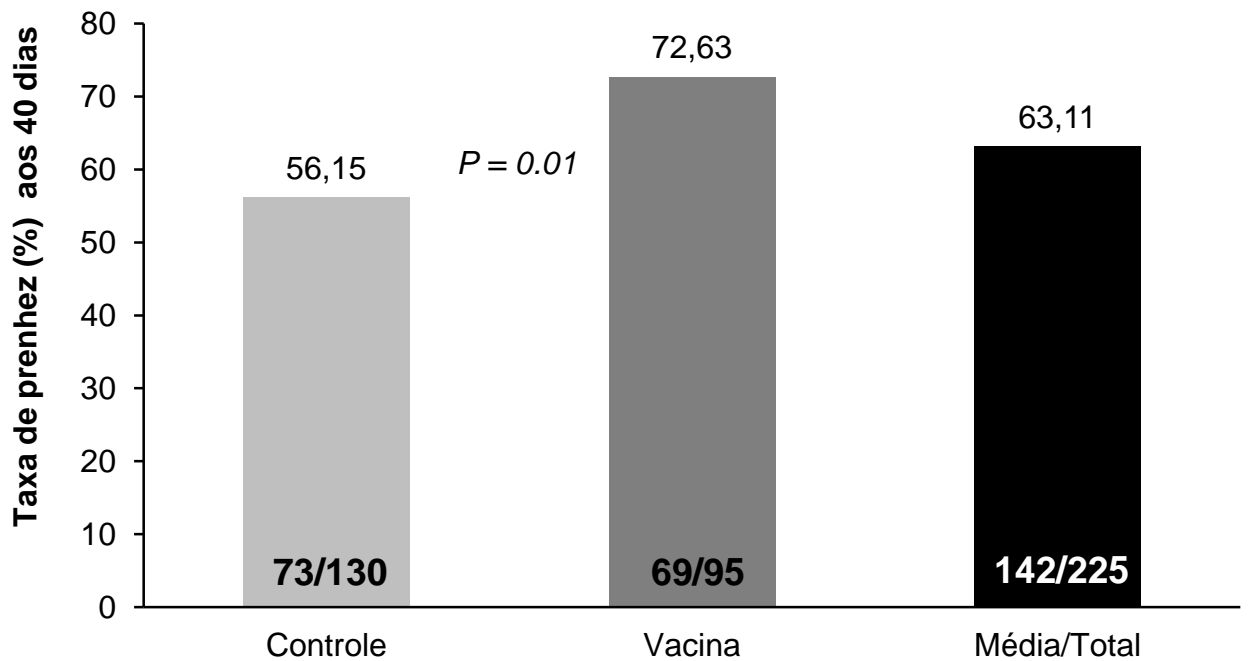


Figura 1 – Taxa de prenhez aos 40 dias de estação de monta em fêmeas bovinas da raça Nelore submetidas à inseminação artificial em tempo-fixo, após receber (Grupo vacina) ou não (Grupo controle) esquema de vacina reprodutiva contra vírus da diarreia viral bovina tipo 1 e 2, previamente ao programa de sincronização da ovulação.

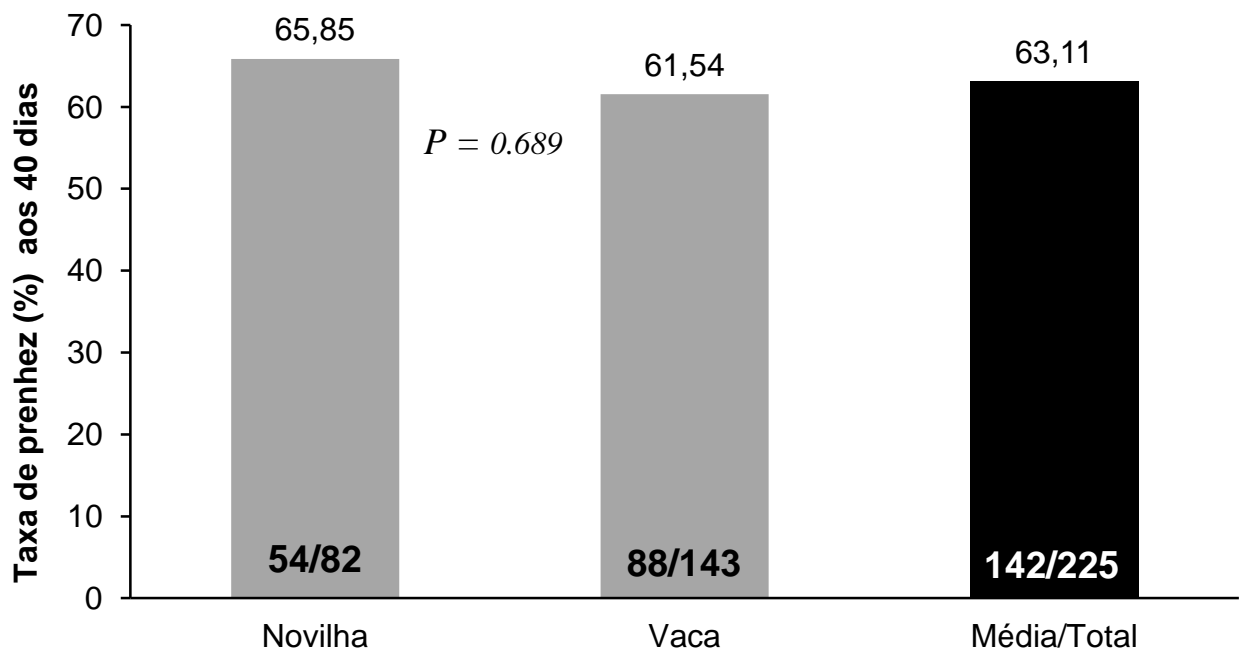


Figura 2 – Taxa de prenhez aos 40 dias de estação de monta de novilhas e vacas da raça Nelore submetidas à inseminação artificial em tempo-fixe, após receber esquema de vacina reprodutiva contra vírus da diarreia viral bovina tipo 1 e 2, previamente ao programa de sincronização da ovulação.

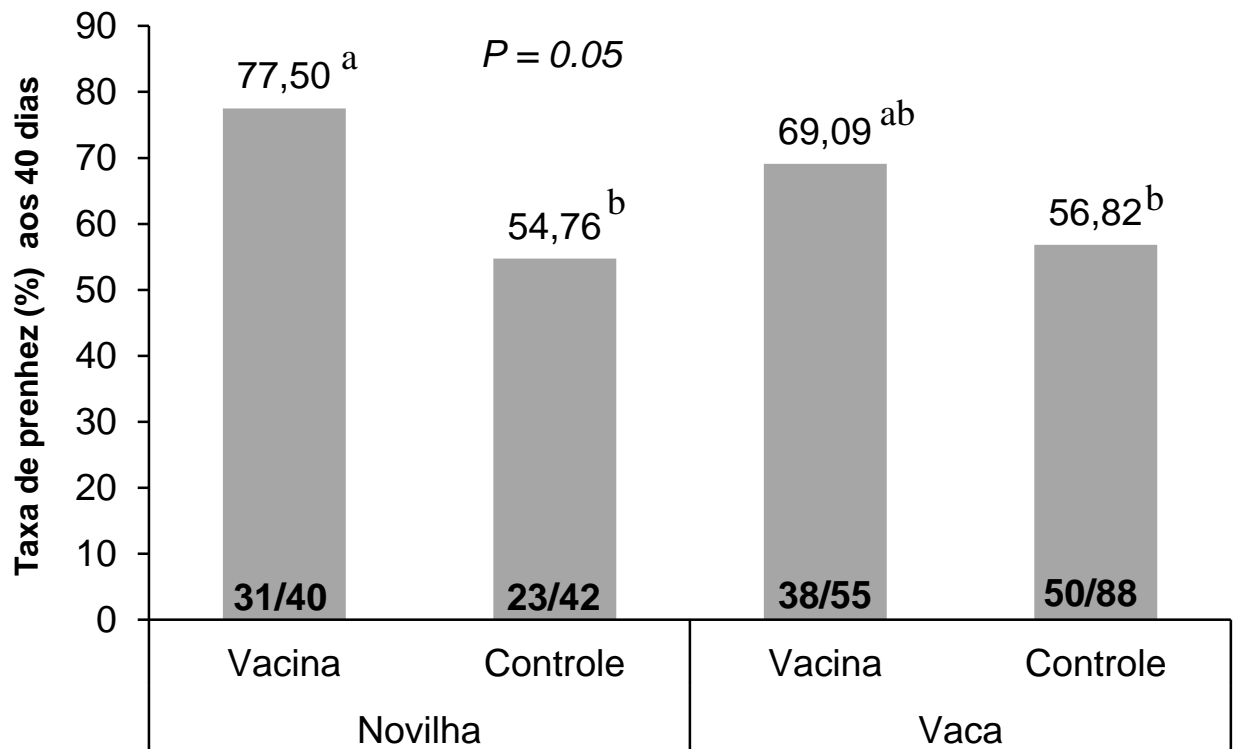


Figura 3 - Taxa de prenhez aos 40 dias da estação de monta em novilhas e vacas vacinadas ou não com vacina reprodutiva contra vírus da diarreia viral bovina tipo 1 e 2, previamente à inseminação artificial em tempo-fixe.

Letras minúsculas (a, b) indicam diferenças na taxa de prenhez entre os grupos.

A ocorrência de perdas gestacionais ao final da estação de monta é considerada normal quando apresenta uma taxa aproximada de 5% no rebanho, porém quando associado a presença de doenças como rinotraqueíte infecciosa bovina (IBR), BVD e leptospirose essa taxa pode aumentar de forma variável (Neto et al., 2019). A utilização de vacinas contra BVD visa impedir a forma aguda da doença e perdas reprodutivas nos animais vacinados impedindo a ação do vírus no feto, além de prevenir o nascimento de bezerros PI (Newcomer et al., 2017), os

quais apresentam um papel importante na disseminação da doença no rebanho (Otonel et al., 2014).

Newcomer et al. (2015) evidenciaram que o uso de vacina contra BVD diminui em 40% os casos de abortamento e a contaminação fetal, além de reduzir o risco de infecção fetal a aproximadamente um sétimo se comparado aos animais não vacinados. Neste mesmo estudo, os autores também concluíram que vacinas polivalentes e vacinas vivas modificadas apresentam maior eficácia de proteção, de acordo com a diminuição das perdas gestacionais. De forma semelhante, no presente estudo foi utilizada uma vacina viva modificada que foi eficiente em proporcionar maior taxa de prenhez durante os primeiros 40 dias de estação de monta. Tal efeito é interessante do ponto de vista produtivo uma vez que a intensificação da pecuária tem exigido cada vez mais o uso de estratégias para o maior controle sanitário dos rebanhos, sendo que o uso de vacinas reprodutivas tem se destacado por reduzir os impactos negativos das doenças infecciosas sobre os índices reprodutivos.

Considerando o uso de vacinas reprodutivas para controle das perdas gestacionais, alguns aspectos têm gerado dúvidas, tais como: i) a eficácia das vacinas reprodutivas contra IBR, BVD e leptospirose, ii) se o uso de vacinas vivas modificadas pode causar abortamento, iii) qual a duração da resposta vacinal, iv) além da eficiência reprodutiva de diferentes categorias (Cortese et al., 2015). Neste contexto, um estudo (Ferreira et al., 2018) utilizou uma vacina composta por cepas de BoHV-1 e BVDV e sorovares de *Leptospira* e uma outra vacina contendo apenas sorovares de *Leptospira*, com o objetivo de compreender o impacto dessas vacinas na reprodução de vacas múltiparas nunca vacinadas. Neste estudo, os autores concluíram que não há melhora reprodutiva em vacas vacinadas quando comparado a vacas não vacinadas, sendo que não é necessário realizar vacinação de vacas múltiparas, porém, sugere a vacinação de vacas primíparas devido à baixa quantidade de anticorpos presente no organismo, podendo gerar uma resposta mais efetiva. Em parte, os resultados do presente estudo foram similares aos resultados de Ferreira et al. (2018) uma vez que o melhor resultado foi encontrado em novilhas vacinadas, que embora não tenha diferido de vacas vacinadas, se mostrou superior aos grupos controle de ambas categorias.

De forma semelhante, Aono et al. (2013) avaliaram a eficácia da vacina viva atenuada contendo cepas de BoHV-1, BVDV e sorovares de *Leptospira* quanto a

redução das perdas reprodutivas em rebanho de vacas primíparas e multíparas. Como resultado concluíram que a redução das perdas gestacionais é mais efetiva nas vacas primíparas vacinadas do que nas vacas multíparas. Embora a perda gestacional não tenha sido monitorada no presente estudo, a taxa de prenhez no D40 foi superior nos grupos vacinados (nulíparas e multíparas vacinadas), no entanto, não foi observado diferença entre as categorias como reportado na literatura.

Ao analisar o efeito de interação (vacina*categoria), as nulíparas vacinadas apresentaram mais de 8 pontos percentuais em relação as multíparas vacinadas, no entanto, tal diferença foi apenas numérica, possivelmente devido ao limitado número de animais avaliados. Por outro lado, há relato de que vacas primíparas tem maior necessidade de vacinação que vacas multíparas, possivelmente porque fêmeas multíparas tiveram maior chance de contato com patógenos ao longo do período reprodutivo já vivido e podem estar com o sistema imune mais capacitado para a ocorrência das doenças reprodutivas (Aono et al., 2013).

Adicionalmente, no presente estudo a taxa de prenhez ao final da estação reprodutiva não sofreu influência da vacinação ($p=0,42$), da categoria ($p=0,19$) ou da interação da vacina com a categoria de fêmea ($p=0,44$; Tabela 1, Apêndice 1), indicando que ao final da estação os animais alcançam a mesma taxa de prenhez, independentemente da utilização de vacina. Este resultado possivelmente está associado ao fato de as fêmeas do grupo controle terem tido outras chances de conceberem pela monta natural até o final da estação reprodutiva.

Neste contexto cabe ressaltar que mesmo atingindo o mesmo índice reprodutivo ao final da estação de monta, o fato de emprenhar o maior número de fêmeas ao início da estação de monta apresenta inúmeras vantagens para o sistema produtivo, tais como: i) redução do intervalo de partos, ii) maior concentração nos partos e no desmame dos bezerros, iii) desmame de bezerros mais pesados (por ser bezerros de início de estação) com maior possibilidade de expressar o potencial genético, iv) além de melhorias gerais na eficiência reprodutiva do rebanho (Vasconcelos; Meneghetti, 2006; Marques et al., 2018). Portanto, o uso de vacina reprodutiva se justifica não só por aumentar a prenhez a primeira inseminação, mas também por diminuir possíveis perdas gestacionais e minimizar custos que já tenham sido investidos com protocolos hormonais, além de diminuir custos com doses de sêmen, mão de obra e programas sanitários.

Tabela 1 - Taxa de prenhez ao final da estação de monta em novilhas e vacas vacinadas ou não com vacina reprodutiva previamente à primeira inseminação artificial em tempo-fixo.

Categorias	Grupos		Total / Média
	Controle	Vacina	
	% (n/N)	% (n/N)	
Novilha	78,57 ^{A, a} (33/42)	87,50 ^{A, a} (35/40)	82,93 (68/82)
Vaca	88,64 ^{A, a} (78/88)	89,09 ^{A, a} (49/55)	88,81 (127/143)
Total / Média	85,38 (111/130)	88,42 (84/95)	86,67 (195/225)

Letra maiúscula sobrescrita em uma mesma coluna (A, B) indica diferença entre as categorias (vaca e novilha).

Letra minúscula sobrescrita em uma mesma linha (a, b) indica diferença entre o grupo controle e o grupo vacina.

Conclusão

A utilização de vacina reprodutiva contendo cepas de BVDV tipo 1 e tipo 2, realizada no D-0 do protocolo de IATF, aumenta a taxa de prenhez aos 40 dias da estação de monta em novilhas e vacas múltíparas, mas não altera essa taxa ao final da estação reprodutiva.

Referências

ALFIERI, A.A.; LEME, R.A.; AGNOL, A.M.D.; ALFIERI, A.F. Sanitary program to reduce embryonic mortality associated with infectious diseases in cattle. **Animal Reproduction**, v.16, n.3, p.386-393, 2019.

AONO, F.H.; COOKE, R.F.; ALFIERI, A.A.; VASCONCELOS, J.L.M. Effects of vaccination against reproductive diseases on reproductive performance of beef cows

submitted to fixed-timed AI in Brazilian cow-calf operations. **Theriogenology**, v.79, p.242-248, 2013.

CHASE, C.C.L.; FULTON, R.W.; O'TOOLE, D.; GILLETTE, B.; DALY, R.F.; PERRY, G.; CLEMENT, T. Bovine herpesvirus 1 modified live virus vaccines for cattle reproduction: Balancing protection with undesired effects. **Veterinary Microbiology**, v.206, p.69-77, 2017.

CORTESE V.S. Bovine vaccines and herd vaccination programs, In: Smith B.P. (Ed.), **Large Animal Internal Medicine**, v.5, p.1465-1482, 2015.

CRUZ, C.E.F.; RAYMUNDO, D.J.; CERVA, C.; PAVARINI, S.P.; DALTO, A.G.C.; CORBELLINI, L.G.; DRIEMEIER, D. Records of performance and sanitary status from a dairy cattle herd in southern Brazil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.31, n.1, p.1-9, 2011.

DEZEN, S.; OTONEL, R.A.A.; ALFIERI, A.F.; LUNARDI, M.; ALFIERI, A.A. Perfil da infecção pelo vírus da diarreia viral bovina (BVDV) em um rebanho bovino leiteiro de alta produção e com programa de vacinação contra o BVDV. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.33, n.2, p.141-147, 2013.

FERREIRA L.C.L.; FERNANDES, H.J.; SILVA, A.G.; FERNANDES, C.E.; DUTRA, I.S.; PUPIN, R.C.; LEMOS, R.A.A. Impact of vaccination on the reproductive performance of multiparous Nellore cows. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.38, n.3, p.456-461, 2018.

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

KHODAKARAM-TAFTI A.; IKEDE B.O. A retrospective study of sporadic bovine abortions, stillbirths, and neonatal abnormalities in Atlantic Canada, from 1990 to 2001. **The Canadian Veterinary Journal**, v.46, n.7, p.635-637, 2005.

LIBONATI, H.A.; SANTOS, G.B.; SOUZA, G.N.; BRANDÃO, F.Z.; LILENBAUM, W. Leptospirosis is strongly associated to estrus repetition on cattle. **Tropical Animal Health and Production**, v.50, n.7, p.1625-1629, 2018.

MACHADO, R.; CORRÊA, R.F.; BARBOSA, R.T.; BERGAMASCHI, M.A.C.M. Escore da condição corporal e sua aplicação no manejo reprodutivo de ruminantes. **Circular Técnica, Embrapa**, São Carlos, v.57, 2008.

MARQUES, M.O.; MOROTTI, F.; LORENZETTI, E.; BIZARRO-SILVA, C.; SENEDA, M.M. Intensified use of TAI and sexed semen on commercial farms. **Animal Reproduction**, v.15, n.3, p.197-203, 2018.

MOURA, J.D.P. Algumas reflexões sobre a organização espacial do assentamento Serraria / Tamarana-PR. **Geografia**, Londrina, v.10, n.1, p.63-78, 2001.

NETO, E.S.; NOGUEIRA, E.; JARDIM, R.; ABREU, U.G.P.; STERZA, F.A.M.; PELLEGRIN, A.O.; JULIANO, R.S. Reproductive performance of Nellore heifers raised in extensive system undergoing different vaccination protocols in fixed-time artificial insemination (FTAI). **Ciência Rural**, v.49, n.11, p.e20180902, 2019.

NEWCOMER, B.W.; WALZ, P.H.; GIVENS, M.D.; WILSON, A.E. Efficacy of bovine viral diarrhoea virus vaccination to prevent reproductive disease: A meta-analysis. **Theriogenology**, v.83, n.3, p.360-365, 2015.

NEWCOMER, B.W.; CHAMORRO, M.F.; WALZ, P.H., Vaccination of cattle against bovine viral diarrhoea virus. **Veterinary Microbiology**, v.206, p.78-83, 2017.

OTONEL, R.A.A.; ALFIERI, A.F.; DEZEN, S.; LUNARDI, M.; HEADLEY, S.A.; ALFIERI, A.A. The diversity of BVDV subgenotypes in a vaccinated dairy cattle herd in Brazil. **Tropical Animal Health Production**, v.46, p.87-92, 2014.

PEREIRA, M.H.C.; COOKE, R.F.; ALFIERI, A.A.; VASCONCELOS, J.L.M. Effects of vaccination against reproductive diseases on reproductive performance of lactating

dairy cows submitted to AI. **Animal Reproduction Science**, v.137, n.3-4, p.156-162, 2013.

RICHTER, V.; LEBL, K.; BAUMGARTNER, W.; OBRITZHAUSER, W.; KÄSBOHRER, A.; PINIOR, B. A systematic worldwide review of the direct monetary losses in cattle due to bovine viral diarrhoea virus infection. **The Veterinary Journal**, v.220, p.80-87, 2017.

SILKE, V.; DISKIN, M.G.; KENNY, D.A.; BOLAND, M.P.; DILLON, P.; MEE, J.F.; SREENAN, J.M. Extent, pattern and factors associated with late embryonic loss in dairy cows. **Animal Reproduction Science**, v.71, n.1-2, p.1-12, 2002.

VASCONCELOS, J.L.M., MENEGHETTI, M. Sincronização de ovulação como estratégia para aumentar a eficiência reprodutiva de fêmeas bovinas, em larga escala. In: Simpósio de Produção de Gado de Corte, 5; Simpósio Internacional de Produção de Gado de Corte, 1, 2006, Viçosa, MG. Anais... Viçosa, MG: UFV, 2006, p.529-541.

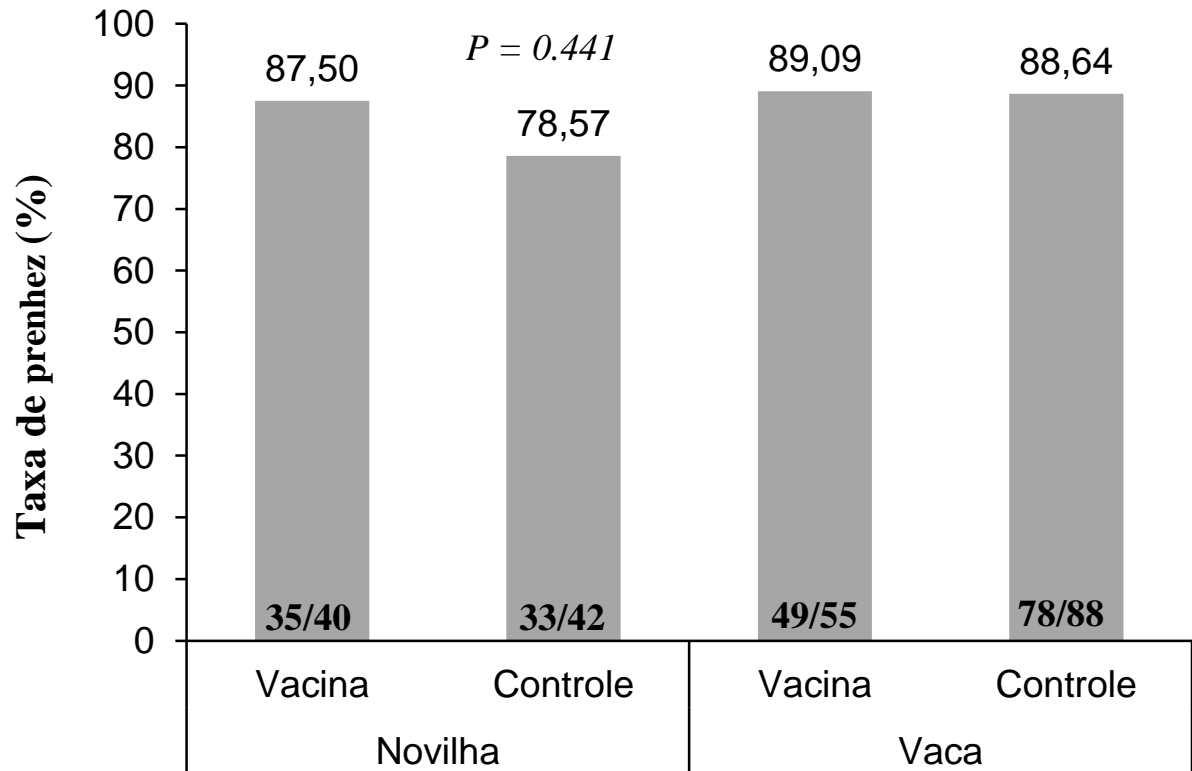
WALSH, S.W.; WILLIAMS, E.J.; EVANS, A.C.O. A review of the causes of poor fertility in high milk producing dairy cows. **Animal Reproduction Science**, v.123, n.3-4, p.127-138, 2011.

WALZ, P.H.; GIVENS, M.D.; RODNING, S.P.; RIDDELL, K.P.; BRODERSEN, B.W.; SCRUGGS, D.; SHORT, T.; GROTELUESCHEN, D. Evaluation of reproductive protection against bovine viral diarrhoea virus and bovine herpesvirus-1 afforded by annual revaccination with modified-live viral or combination modified-live/killed viral vaccines after primary vaccination with modified-live viral vaccine. **Vaccine**, v.35, n.7, p.1046-1054, 2017.

CONCLUSÕES

- A utilização de vacina reprodutiva contendo cepas de BVDV tipo 1 e tipo 2, aumenta a taxa de prenhez aos 40 dias da estação de monta em novilhas e vacas múltiparas;
- A utilização de vacina reprodutiva contendo cepas de BVDV tipo 1 e tipo 2, não altera a taxa de prenhez ao final da estação reprodutiva em novilhas e vacas múltiparas.

APÊNDICE



Apêndice 1 - Taxa de prenhez ao final da estação de monta em novilhas e vacas da raça Nelore após receber (Grupo vacina) ou não (Grupo controle) esquema de vacina reprodutiva previamente a estação de monta.