

Universidade Federal de Minas Gerais

Conselho de Pós-Graduação

Escola de Veterinária

T  
C300d



DESEMPENHO REPRODUTIVO DE RECEPTORAS, ATÉ 60 DIAS DE  
GESTAÇÃO, E DOADORAS DE EMBRIÕES BOVINOS, FRENTE À  
INFECCÃO POR DIARRÉIA BOVINA A VÍRUS, HERPES VÍRUS  
BOVINO 1, LEUCOSE E LÍNGUA AZUL, EM MINAS GERAIS.

Roberto Soares de Castro

U. F. M. G. - BIBLIOTECA UNIVERSITÁRIA



000234208908

NÃO DANIFIQUE ESTA ETIQUETA

OK  
10/03/1986

Belo Horizonte

Minas Gerais

1988

Roberto Soares de Castro



DESEMPENHO REPRODUTIVO DE RECEPTORAS, ATÉ 60 DIAS DE GESTAÇÃO, E DOADORAS DE EMBRIÕES BOVINOS, FRENTE À INFECÇÃO POR DIARRÉIA BOVINA A VÍRUS, HERPES VÍRUS BOVINO 1, LEUCOSE E LÍNGUA AZUL, EM MINAS GERAIS.

Tese apresentada ao Departamento de Medicina Veterinária Preventiva da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Medicina Veterinária.

Área: Medicina Veterinária Preventiva.

Belo Horizonte  
Minas Gerais  
1988

BIBLIOTECA UNIVERSITÁRIA

31 07 89

MV  
63-2000

0063-69610

636.208 969 2

C355d Castro, Roberto Soares de

Desempenho reprodutivo de receptoras, até 60 dias de gestação, e doadoras de embriões bovinos, frente à infecção por diarreia bovina a vírus, herpes vírus bovino 1, leucose e língua azul, em Minas Gerais / Roberto Soares de Castro. - Belo Horizonte : Escola de Veterinária da UFMG, 1988.

93p. : il.

Tese (Mestrado)

1. Língua azul (Veterinária) - Diagnóstico. 2. Leucose - Diagnóstico. 3. Diarreia bovina a vírus. - Diagnóstico. 4. Herpesvirus bovino 1 - Diagnóstico. 5. Transferência de embrião. 6. Bovinos. I. Título.

BIBLIOTECA UNIVERSITÁRIA

31 07 89

MV  
ES

0063-64610

636.208 969 2

C355d Castro, Roberto Soares de

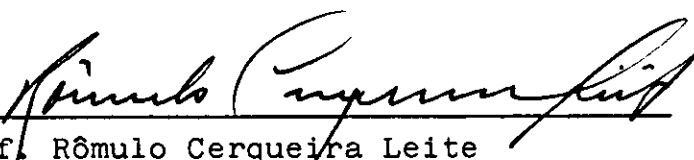
Desempenho reprodutivo de receptoras, até 60 dias de gestação, e doadoras de embriões bovinos, frente à infecção por diarreia bovina a vírus, herpes vírus bovino 1, leucose e língua azul, em Minas Gerais / Roberto Soares de Castro. - Belo Horizonte : Escola de Veterinária da UFMG, 1988.

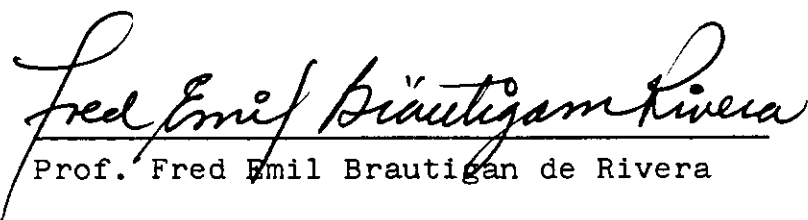
93p. : il.

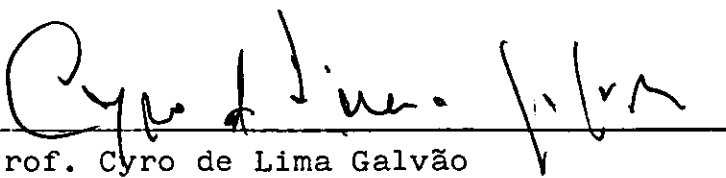
Tese (Mestrado)

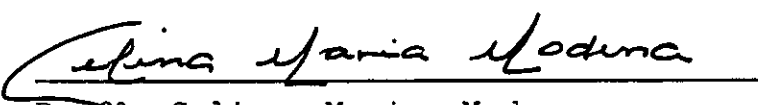
1. Língua azul (Veterinária) - Diagnóstico. 2. Leucose - Diagnóstico. 3. Diarreia bovina a vírus. - Diagnóstico. 4. Herpesvirus bovino 1 - Diagnóstico. 5. Transferência de embrião. 6. Bovinos. I. Título.

Aprovada em: 15/12/1988.

  
Prof. Rômulo Cerqueira Leite  
Orientador

  
Prof. Fred Emil Brautigan de Rivera

  
Prof. Cyro de Lima Galvão

  
Prof<sup>ª</sup>. Celina Maria Modena



Aos meus pais Teresinha e José Farias e aos meus irmãos Selma e Linecy ("in memoria"), Moema, Rômulo, Remo, Malone e Renato, pelo exemplo de família e estímulo.

Crete no futuro da humanidade, aos meus sobri<sub>nhos</sub> Guga, Zan, Nair, Line, Oni, Indirinha, Guguinha, Rominho e aos outros que ainda virão.

### **AGRADECIMENTOS**

Ao povo brasileiro que gera a riqueza e dela não se apropria, e que financia pesquisas cujos resultados nem sempre se revertem em seu benefício.

Sou especialmente grato aos amigos da UFRPE, da UFMG e de outras instituições que colaboraram para a realização deste trabalho.

Este trabalho contou com a colaboração de:

- Universidade Federal Rural de Pernambuco.
- Universidade Federal de Minas Gerais.
- Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES.
- Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA.
- Fundação Laura de Andrade.
- Fulinândia Agropecuária Ltda - FUNAGRO (Grupo Cauê).
- Fazenda Cantagalo.
- Fazenda Campo Verde.
- Fazenda São Lourenço.
- Fazenda Jatobá.
- Fazenda Campestre.





"It is believed that this technique, with improvements, may be valuable in the study of certain fertility problems in cows where a question of normality of the ovum vs. normality of the genital tract is involved."

(WILLETT; BLACK; CASIDA; STONE; BUCKNER. Science, 113 (2931):247, 1951, ao descreverem o nascimento do primeiro bezerro cria de transferência de embrião).



## RESUMO

Foram estudadas as prevalências das infecções por Herpesvirus bovino tipo 1 (HVB1) e vírus da diarréia bovina a vírus (VDBV), através da prova de soroneutralização em microplaca, vírus da leucose enzoótica bovina (VLEB) e da língua azul (VLA), empregando-se a prova de imunodifusão em ágar gel, em doadoras e receptoras de embriões, criadas no Estado de Minas Gerais. Das 410 amostras testadas para HVB1, VDBV e VLA foram encontrados resultados positivos em 209 (50,9%), 153 (37,3%) e 313 (76,3%), respectivamente; das 451 testadas para VLEB 104 (23,0%) deram reações positivas. Esses resultados demonstraram que esses agentes encontram-se amplamente disseminados nessa população, o que poderá ter conseqüências adversas à exportação de embriões, caso os países importadores apresentem exigências sanitárias baseadas na sorologia das doadoras.

O desempenho reprodutivo das doadoras de embriões soropositivas e soronegativas para HVB1, VDBV, HVB1 e VDBV, foi avaliado, e não foi evidenciado diferença estatisticamente significativa ( $p > 0,05$ ) entre as médias de estruturas recuperadas por colheita (4,7; 7,3; 5,7 e 6,4, respectivamente); taxa de fertilização (87,2%; 78,1%; 86,0% e 76,5%); taxa de viabilidade embrionária (78,0%; 73,7%; 73,5% e 71,4%); e taxa de prenhez das receptoras ao considerar apenas os resultados da sorologia das doadoras (51,1%; 51,7%; 36,3% e 36,8%). Esses animais

eram clinicamente normais e apresentavam pelo menos dois ciclos regulares antes de serem empregados como doadoras. Nessas condições vacas soropositivas para HVB1 e/ou VDBV demonstraram ser úteis em programas de transferência de embriões.

A avaliação do desempenho reprodutivo das receptoras foi feita com base na taxa de prenhez até 60 dias após a transferência dos embriões. Não houve diferença estatisticamente significativa ( $p > 0,05$ ) entre as taxas dos grupos de animais portadores de anticorpos neutralizantes anti HVB1 (37,8%), VDBV (60,8%), HVB1 e VDBV (45,9%), e soronegativos (44,1%). O risco relativo (RR) de perdas dos diferentes grupos foi avaliado em um estudo prospectivo. Não houve diferença significativa ( $p > 0,05$ ) entre as taxas de prenhez dos animais soropositivos para HVB1 (38,0%) e soronegativos (42,0%); soropositivos para VDBV (65,0%) e soronegativos (45,0%); e positivos para HVB1 e VDBV (45,0%) e negativos (42,5%). Os RR da incidência de perdas dos conceptos, até 60 dias, foram de 1,07, 0,64 e 0,96 para os grupos positivos para HVB1, VDBV e HVB1/VDBV, respectivamente. As receptoras eram mantidas em rebanhos que não apresentaram surto de rinotraqueíte infecciosa e diarreia bovina a vírus. Assim sendo, não foi possível inferir os riscos de perdas em rebanhos clinicamente afetados.

## SUMÁRIO



	Página
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	3
2.1. Prevalência, no Brasil, e distribuição geográfica da rinotraqueíte infecciosa dos bovinos / vulvovaginite pustular infecciosa, diarreia bovina a vírus/enfermidade das mucosas, leucose enzoótica bovina e língua azul.....	3
2.2. Riscos da transmissão da RIB, DBV, LEB e LA através da transferência de embriões e critérios para formulação de regulamentos sanitários relativos ao comércio de embriões bovinos.....	6
2.3. Influência da infecção pelo Herpesvírus bovino tipo 1 e Vírus da Diarreia Bovina a Vírus sobre a fecundação e mortalidade de conceptos bovinos, nas fases iniciais da gestação.....	15
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	26
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	32
4.1. Prevalências de doadoras e receptoras soropositivas para os vírus HVB1, DBV, LEB e LA, e suas possíveis implicações no comércio de embriões.....	32
4.2. Avaliação do desempenho reprodutivo de doadoras e receptoras de embriões soropositivas para HVB1 e/ou VDBV, e soronegativas.....	40
5. CONCLUSÕES.....	59
6. APÊNDICE.....	61
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	76

## LISTA DE TABELAS

		Página
TABELA	I - Resultados das provas sorológicas realizadas em rebanhos de doadoras e receptoras de embriões, Minas Gerais, 1988.....	33
TABELA	II - Resultados das provas sorológicas realizadas em doadoras de embriões das subespécies <u>Bos taurus indicus</u> e <u>Bos taurus taurus</u> , Minas Gerais, 1988.....	34
TABELA	III - Estruturas recuperadas em lavados uterinos de vacas doadoras de embriões portadoras de anticorpos neutralizantes contra os vírus HVB1 e/ou DBV, e soronegativas, Minas Gerais, 1988.....	42
TABELA	IV - Análise de variância para os dados da TABELA III.....	42
TABELA	V - Distribuição de estruturas fertilizadas e não fertilizadas, recuperadas em lavados uterinos de vacas doadoras de embriões, de acordo com o resultado do teste de soroneutralização para os vírus HVB1 e DBV, Minas Gerais, 1988.....	45
TABELA	VI - Distribuição de estruturas fertilizadas viáveis e inviáveis, recuperadas em lavados uterinos de vacas doadoras de embriões, de acordo com o resultado do teste de soroneutralização contra os vírus HVB1 e DBV, Minas Gerais, 1988.....	46
TABELA	VII - Taxa de prenhez de receptoras de embriões colhidos em doadoras soropositivas para HVB1 e/ou VDBV, e soronegativas, Minas Gerais, 1988.....	51

TABELA VIII	- Taxa de prenhez de receptoras soropositivas para HVB1 e/ou VDBV, e soronegativas, Minas Gerais, 1988.....	51
TABELA IX	- Taxa de prenhez de receptoras soropositivas para HVB1, de acordo com o resultado da sorologia das doadoras, Minas Gerais, 1988.	54
TABELA X	- Taxa de prenhez de receptoras soropositivas para VDBV, de acordo com o resultado da sorologia das doadoras, Minas Gerais, 1988.	54
TABELA XI	- Taxa de prenhez de receptoras soropositivas para HVB1, de acordo com o resultado da sorologia das doadoras, Minas Gerais, 1988.	55
TABELA XII	- Taxa de prenhez de receptoras soronegativas para HVB1 e VDBV, de acordo com o resultado da sorologia das doadoras, Minas Gerais, 1988.....	55
TABELA XIII	- Incidência de perda de conceptos em receptoras soropositivas e soronegativas para HVB1 (período de observação de até 60 dias), Minas Gerais, 1988.....	57
TABELA XIV	- Incidência de perda de conceptos em receptoras soropositivas e soronegativas para VDBV (período de observação de até 60 dias), Minas Gerais, 1988.....	57
TABELA XV	- Incidência de perdas de conceptos em receptoras soropositivas e soronegativas para HVB1 e VDBV (período de observação de até 60 dias), Minas Gerais, 1988.....	58

## LISTA DE GRÁFICOS

	Página
GRÁFICO 1 - Prevalência de HVB1, em doadoras e receptoras de embriões.....	62
GRÁFICO 2 - Frequência de doadoras <u>Bos taurus indicus</u> e <u>Bos taurus taurus</u> soropositivas para HVB1.	63
GRÁFICO 3 - Prevalência de VDBV em doadoras e receptoras de embriões.....	64
GRÁFICO 4 - Frequência de doadoras <u>Bos taurus indicus</u> e <u>Bos taurus taurus</u> soropositivas para VDBV.	65
GRÁFICO 5 - Prevalência de VLEB em doadoras e receptoras de embriões.....	66
GRÁFICO 6 - Frequência de doadoras <u>Bos taurus indicus</u> e <u>Bos taurus taurus</u> soropositivas para VLEB.	67
GRÁFICO 7 - Prevalência de VLA em doadoras e receptoras de embriões.....	68
GRÁFICO 8 - Frequência de doadoras <u>Bos taurus indicus</u> e <u>Bos taurus taurus</u> soropositivas para VLA...	69
GRÁFICO 9 - Estruturas recuperadas por colheita de acordo com os resultados dos testes sorológicos..	70
GRÁFICO 10 - Taxa de fertilização de acordo com os resultados dos testes sorológicos.....	71
GRÁFICO 11 - Taxa de viabilidade embrionária de acordo com os resultados dos testes sorológicos...	72
GRÁFICO 12 - Taxa de prenhez das receptoras de acordo com os resultados dos testes sorológicos das doadoras.....	73
GRÁFICO 13 - Taxa de prenhez de acordo com os resultados dos testes sorológicos das receptoras.....	74
GRÁFICO 14 - Estudo prospectivo da taxa de prenhez das receptoras de acordo com os resultados dos testes sorológicos.....	75



## 1. INTRODUÇÃO

O nascimento da primeira cria da espécie bovina, fruto da transferência de embrião (TE) foi reportado por WILLET et alii (1951), nos Estados Unidos. Desde então, progressos significativos têm sido alcançados em relação às técnicas de sincronização de cios, superovulação, transferência, micro-manipulação e criopreservação de embriões bovinos, o que tem permitido o comércio internacional desse material genético.

Essa nova situação tem levado às autoridades internacionais a preocupação com a possibilidade de transmissão de doenças infecciosas entre países onde ocorrem certas enfermidades e países indenes. A comunidade científica tem investigado essa possibilidade e tem demonstrado ser a TE o meio mais seguro de comércio de material genético, por apresentar riscos desprezíveis de transmissão de doenças (SOCIEDADE INTERNACIONAL DE TRANSFERÊNCIA DE EMBRIÕES - SITE/CONCLUSIONES, 1988). Mesmo assim, vários países não têm acompanhado esses avanços nem adaptado seus regulamentos sanitários à nova realidade, o que tem levado, em certos casos, à impossibilidade de intercâmbio comercial (COMISION SUDAMERICANA PARA LA LUCHA CONTRA LA FIEBRE AFTOSA - COSALFA, 1988).

Desde a descrição da leucose enzoótica bovina (LEB), língua azul (LA), diarréia bovina e vírus/enfermidade das mucosas (DBV/EM), e rinotraqueíte infecciosa dos bovinos/vulvovagi



nite pustular infecciosa (RIB/VVPI), a ocorrência dessas doenças tem sido registrada em países de todos continentes, inclusive no Brasil (ORGANIZACION PANAMERICANA DE LA SALUD - OPS, 1986).

A prevalência dessas doenças tem implicações para o comércio de embriões, uma vez que são feitas exigências sanitárias pelos países importadores, as quais geralmente incluem atestados negativos para essas enfermidades.

Os programas brasileiros de TE têm crescido nos últimos anos e representam uma fonte em potencial de divisas, através da exportação de embriões, especialmente de raças zebuínas. Nesses programas pouca atenção tem sido dada às doenças infecciosas causadas por vírus, a despeito do conhecimento de que algumas interferem na reprodução de bovinos.

São relativamente bem conhecidos os distúrbios reprodutivos causados pelo Herpesvírus bovino tipo 1, agente da RIB/VVPI, e vírus da DBV/EM, em fases mais adiantadas da gestação, porém são escassos, ou inexistentes, trabalhos relativos ao envolvimento desses agentes na diminuição da taxa de fertilização e mortalidade de conceptos bovinos, durante as fases iniciais do desenvolvimento. As técnicas envolvidas na TE permitem obter um número maior de estruturas em lavados uterinos (LU) de uma doadora, sua avaliação "in vitro", e, também, estimar as taxas de fertilização e viabilidade embrionária, até o dia da colheita, e estudar as taxas de prenhez das receptoras em relação às características dos embriões avaliados "in vitro", antes da transferência.

Este trabalho foi delineado com o objetivo de determinar as prevalências das infecções por HVB1, vírus da DBV/EM, LEB e LA, em vacas doadoras e receptoras de embriões, criadas no Estado de Minas Gerais, suas implicações no atendimento de exigências de certificados sanitários; e de avaliar o desempenho reprodutivo de animais portadores de anticorpos neutralizantes contra o HVB1 e/ou vírus da DBV.



## 2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Prevalência, no Brasil, e distribuição geográfica da rinotraqueíte infecciosa dos bovinos/vulvovaginite pustular infecciosa, diarreia bovina a vírus/enfermidade das mucosas, leucose enzoótica bovina e língua azul.

Após as descrições da LEB (SIEDAMGRÓTEZKY, 1878), LA (BEKKER et alii, 1934), DBV/EM (CHILDS, 1946; OLAFSON et alii, 1946) e RIB/VVPI (BÜCHNER, 1894; SCHROEDER & MOYS, 1954), vários trabalhos têm sido conduzidos visando determinar a prevalência de animais soropositivos aos seus respectivos agentes etiológicos. Segundo o OPS (1986) essas doenças estão distribuídas em todo mundo, com prevalência variável de acordo com o país ou região estudada.

As informações disponíveis sobre a prevalência dessas infecções no Brasil são escassas e, às vezes, resultam de trabalhos sem delineamentos adequados, no que diz respeito a amostragem, o que, embora não invalide a informação, torna-a imprecisa.

No Brasil, o primeiro levantamento sorológico para pesquisa de anticorpos neutralizantes contra o HVB1 foi executado por GALVÃO et alii (1962/63), que testaram 458 amostras de soro bovino provenientes do Estado da Bahia, e encontraram

34,4% positivas. Em seguida, WIZIGMANN et alii (1972), testaram 229 soros de animais abatidos no Rio Grande do Sul e demonstraram 33,0% de reagentes através da prova de soroneutralização (SN) em tubo.

Mais recentemente, IKUNO & MUELLER (1982), em estudo realizado em São Paulo, encontraram 92,7% de animais com título superior a 1:2 na prova de hemoaglutinação passiva (HAP) para HVB1.

Em Minas Gerais, GALVÃO (1984) registrou a frequência de 75,9% soros positivos para o HVB1 ao testar 58 amostras através da SN em microplaca, enquanto ANUNCIACÃO (1986) determinou ser 62,4% a prevalência de animais positivos à mesma prova, quando testou 317 amostras.

No Brasil, informações sobre taxas de prevalência de animais positivos para o VDBV são escassas. WIZIGMANN et alii (1972), testando 299 soros bovinos colhidos em abatedouro localizado no Rio Grande do Sul, encontraram 39,0% de animais reagentes à prova de SN em tubo, enquanto SOARES & PEREIRA (1974) registraram a frequência de 3,4% de soros positivos ao testarem, através de SN em tubo, 59 amostras de soros de animais adultos clinicamente sadios, criados no Estado de São Paulo. NOGUEIRA et alii (1986) encontraram 87,5% de reações positivas quando pesquisaram anticorpos neutralizantes, através da SN em microplaca, em 24 amostras de soros colhidas no Estado do Rio de Janeiro.

A LEB, apesar de ter sido diagnosticada clinicamente e anatomopatologicamente desde meados do século (SANTOS et alii, 1959), só no final da década passada foi estudada quanto à prevalência de anticorpos em nossos rebanhos. ALENCAR FILHO et alii (1979) realizaram um levantamento sorológico em São Paulo e encontraram 35,6% de reações positivas dentre 1.013 soros testados pela técnica de imunodifusão em ágar gel (IDAG). Os animais da raça Holandesa e seus mestiços apresentaram maior número de resultados positivos (44,7%) em relação às outras raças (29,4%).

ROMERO & ROWE (1981) detectaram a presença de anti-

corpos precipitantes antivírus da LEB, através da prova de IDAG, em 54,3% de uma amostra de 1.444 soros colhidos no Rio de Janeiro. Constararam, também, serem mais freqüentes reações positivas em animais mais velhos.

KANTEK et alii (1983) estudaram a prevalência de LEB em rebanhos leiteiros do Paraná e observaram: que 20,7% de 695 soros testados apresentavam anticorpos precipitantes contra o VLEB; que existia correlação positiva entre a taxa de reagentes e a idade; e que a maior taxa era encontrada nos animais da raça Holandesa.

Em Minas Gerais, MODENA et alii (1984) examinaram 2.926 amostras de soros colhidos em animais com idade superior a 6 meses e encontraram 26,7% positivos. Quando estratificaram a amostra segundo o tipo de exploração, verificaram que 40,6% dos animais leiteiros e 15,6% dos de corte eram soropositivos.

GOMES et alii (1985) detectaram anticorpos contra VLEB em 32,6% (229/709) de animais criados no Rio Grande do Sul, testados através da IDAG.

A infecção pelo vírus da LA - VLA nos rebanhos brasileiros passou despercebida até que SILVA (1978) relatou a presença de anticorpos fixadores de complemento contra VLA em bovinos e ovinos do Estado de São Paulo, indicando a presença do agente em nosso meio. Esse achado foi corroborado, posteriormente, quando se demonstrou a presença de anticorpos precipitantes anti VLA em oito bovinos de um grupo de sessenta animais exportados para os Estados Unidos, e foi isolado o agente em um deles (REPORT, 1980).

MOREIRA et alii (1980) registraram a presença de anticorpos anti VLA em 74% de 577 soros testados por IDAG, provenientes dos Estados de Minas Gerais e São Paulo. Em seguida CUNHA et alii (1982) obtiveram resultados positivos em 40,8% ao testarem, por IDAG, 553 soros colhidos em municípios do Rio de Janeiro.

ABREU (1982) em trabalho delineado para estudar a prevalência da infecção pelo VLA em bovinos de Roraima, Amazonas,

Pará e Amapá, encontrou taxas de 15,9%; 25,5%; 32,5% e 21,3%, respectivamente. Essas taxas foram relacionadas com o movimento de animais, possivelmente portadores, e a presença de vetores, mosquitos hematófagos do gênero Culicoides, nas regiões cujos animais tinham idade superior a 24 meses. Em outros países, relações entre fatores ecológicos, população de vetores e prevalência de animais soropositivos em áreas endêmicas, têm sido registradas (LEFÈVRE & CALVEZ, 1986; ABU EL ZEIN et alii, 1987).

## 2.2. Riscos da transmissão da RIB, DBV, LEB e LA através da transferência de embriões e critérios para formulação de regulamentos sanitários relativos ao comércio de embriões bovinos.

Com os avanços tecnológicos relativos a colheita, transferência, criopreservação e micromanipulação de embriões, tornou-se possível o comércio internacional desse material genético. Semelhante ao que ocorre em relação ao sêmen, e outros materiais de multiplicação animal, as autoridades sanitárias levantaram a necessidade de se prevenir a transmissão de doenças de países infectados para países indenes através da elaboração de legislação específica para regular o comércio de embriões. Segundo CASAS OLASCOAGAS & SUTMÖLLER (1988), foram elaborados regulamentos sanitários muito rigorosos, baseados na legislação para sêmen, acrescida de vários itens relacionados à importação de animais vivos, e, algumas vezes, de produtos de origem animal, tornando impossível seu cumprimento e proibitiva a importação/exportação de embriões bovinos.

Os fatores relacionados aos riscos de transmissão de doenças, através de sêmen e embriões bovinos, são bastante diferentes, o que torna menos necessária a execução de muitos testes sorológicos nas vacas doadoras de embriões, conforme requerido por alguns regulamentos de países importadores de embriões (CASAS OLASCOAGAS & SUTMÖLLER, 1988).

JANSSEN (1987) julga que as autoridades sanitárias

devem limitar suas exigências ao absolutamente necessário, evitando testes que não dêem maior segurança ao atestado do estado sanitário dos embriões.

VAN DER MAATEN (1987) atribue fundamental importância à escolha adequada do(s) teste(s) a ser(em) exigido(s), conforme as características de cada doença.

MAPLETOFT (1987) põe em dúvida o cumprimento das exigências estabelecidas em protocolos de importação/exportação e admite ser importante a fiscalização do cumprimento dos acordos firmados.

Na XV Reunião Anual da COSALFA, (COMISIÓN, 1988), considerando que muitos dos países-membros dispõem de regulamentos que não estão de acordo com os avanços científicos em relação a eliminação de riscos de transmissão de doenças através da TE, foram tomadas as seguintes resoluções: revisão e adaptação da legislação vigente para a importação e exportação de embriões bovinos, de forma que seja eficaz e aplicável; o sêmen usado para produção de embriões deve provir de partidas aprovadas pelo Ministério da Agricultura (MA), segundo orientação do Código Zoosanitário do Ofício Internacional de Epizootias; a empresa produtora de embriões para exportação deve ser registrada e certificada pelo MA do país exportador; padronização dos regulamentos sanitários referentes ao movimento de material genético; e que seja estudada a possibilidade de estabelecer no país exportador um banco de soro congelado de potenciais doadores de material genético para exportação.

O risco de transmissão de doenças através de embriões tem sido avaliado em diversos trabalhos experimentais, executados "in vitro" e "in vivo".

Segundo BOWEN (1979) a transmissão de vírus a embriões a partir de seus progenitores pode ocorrer das seguintes formas: via gametas, onde o agente pode estar inserido no óvulo ou espermatozóide ou aderido às suas superfícies; através do meio ambiente contaminado, quando o agente pode ultrapassar a zona pelúcida (ZP) ou infectar as células embrionárias após

a eclosão. Neste caso o agente deve estar presente no oviduto, útero ou líquido seminal.

STRINGFELLOW & WRIGHT (1987) propõem o seguinte modelo teórico para que seja possível ocorrer a transmissão de doenças através da TE: exposição (idade do embrião, pouco movimento, isolamento do embrião no trato genital, estado imune do genital, estado sanitário da doadora, esterilidade dos equipamentos e meios); infecção do embrião ou aderência à ZP (resistência da ZP, tamanho do agente, lavagens e tratamento com enzimas); viabilidade do agente (estado imune do genital, tratamento com enzimas, congelação e descongelação); dose infectante (tamanho do embrião, ZP intacta, diluição com os meios de lavagem, lavagens sucessivas, tratamento com enzimas). Para que ocorra transmissão, essa sequência de eventos não pode ser quebrada, caso contrário o agente não será transmitido.

Para evitar a transmissão de doenças através da TE, a SITE (SINGH, 1986) recomenda proceder às técnicas de colheita e transferência de embriões de forma asséptica, usar meios e equipamentos individuais e esterilizá-los após uso, manipular os embriões em ambiente controlado, proceder a dez lavagens sucessivas (equivalentes à diluição de 1:100 do lavado anterior), tratar os embriões com tripsina, não congelar embriões que tenham lesão de ZP ou que apresentem material aderido à sua superfície. Nesse contexto a ZP exerce grande importância, uma vez que tem se mostrado impermeável aos agentes infecciosos até agora estudados (STRINGFELLOW & WRIGHT, 1987).

Os agentes infecciosos apresentam características próprias no que diz respeito à sua biologia e patogenicidade, o que os torna mais, ou menos, aptos a serem transmitidos vertical ou horizontalmente.

O HVB1, pertencente a família HERPESVIRIDAE, tem tropismo por tecidos das vias respiratórias e sistema genital. Uma semana depois da infecção a maioria dos animais produz anticorpos neutralizantes que podem persistir por anos (GIBBS & RWEYEMAMU, 1977). Parte desses animais passa a portar o vírus

sob a forma de infecção latente (PASTORET et alii, 1982). Noutros casos pode não haver produção de anticorpos em títulos detectáveis ou há produção de forma irregular, a despeito de o vírus ser eliminado em secreções (HUCK et alii, 1971, 1973; ALLAN et alii, 1975; PARSONSON & SNOWDON, 1975).

ELAZMARY et alii (1980) demonstraram HVB1 através da imunofluorescência - IF (direta ou indireta) e o isolaram em espermatozóides de touros infectados. Todavia não conseguiram avaliar se os espermatozóides infectados eram capazes de penetrar a ZP do óvulo, fertilizá-lo, infectar o embrião resultante e ser, desta forma, transmitido verticalmente.

SINGH et alii (1982b) observaram ser possível isolar HVB1 a partir de embriões bovinos de ZP intacta, expostos "in vitro" a esse agente, e que tripsina é capaz de remover e/ou inativar o vírus. Demonstraram ainda que o agente, mesmo aderindo à ZP, não a ultrapassa nem se replica em sua superfície, como também que HVB1 não tem ação adversa ao desenvolvimento embrionário. Adicionalmente, não conseguiram detectar infecção em 31 óvulos e embriões colhidos em doadoras soropositivas.

SINGH et alii (1983) inocularam doadoras soronegativas para HVB1 por via respiratória, intravaginal e intrauterina, e isolaram o agente em nove de 33 LU. Os embriões (64) colhidos desses animais e tratados com tripsina não transmitiram a infecção a 49 receptoras soronegativas, resultando em 21 prenhez e nascimento de 20 crias. Todas as receptoras e animais-produto permaneceram soronegativos para HVB1.

SINGH (1987) relatou a transmissão de HVB<sub>1</sub> após transferência de embriões que foram expostos "in vitro" ao HVB1 e julgou ser o tratamento rápido com tripsina indispensável para a eliminação do risco da transmissão do HVB1 de doadoras positivas a receptoras soronegativas.

ECHTERNKAMP & MAURER (1988) avaliaram a viabilidade de embriões não eclodidos, tratados com tripsina. Os embriões foram tripsinizados, congelados, descongelados e incubados a 38,5°C durante 72 horas. Findo este período, foram avali



ados, e não houve diferença entre o desenvolvimento dos embriões tratados e dos não-tratados.

THIBIER & NIBART (1987) relataram a experiência obtida com a importação de um grande número de embriões dos Estados Unidos para a França com requerimento sanitário mínimo. Os embriões provinham de doadoras, a maioria provavelmente soropositiva para HVB1, e foram transferidos, no país importador, para mais de 1.000 receptoras soronegativas. Estes animais foram acompanhados sorologicamente e nenhum soroconverteu.

O vírus da DBV está classificado como pertencente ao gênero Pestivirus da família TOGAVIRIDAE e tem tropismo por diversos tecidos, inclusive os do sistema genital (BAKER, 1987).

Na maioria dos casos, os animais infectados pelo VDBV produzem anticorpos neutralizantes, detectáveis três a quatro semanas após a infecção, que persistem provavelmente por anos (DUFELL & HARKNESS, 1985). Entretanto, fetos infectados nas fases iniciais da gestação podem nascer clinicamente normais, imunotolerantes e persistentemente infectados (McCLURKIN et alii, 1984), atingir a idade adulta e continuar eliminando o vírus em suas secreções, sem produção de anticorpos (McCLURKIN et alii, 1979; BARLOW et alii, 1986; VIRAKUL et alii 1988).

O VDBV já foi isolado em sêmen de touro experimentalmente infectado (WHITMORE et alii, 1978) ou imunotolerante portador de infecção persistente, naturalmente adquirida (McCLURKIN et alii, 1979; BARLOW et alii, 1986). Em ambas as situações não foi demonstrada a associação do vírus com os espermatozóides, nem cogitada a possibilidade de poder ocorrer transmissão vertical genética através do gameta masculino.

Dados relacionados ao risco de transmissão do VDBV de doadoras a receptoras não são disponíveis; entretanto, trabalhos preliminares indicam ser pouco provável de ocorrer. Assim, SINGH et alii (1982a) demonstraram não ser possível isolar o VDBV em embriões colhidos entre os dias cinco e sete após o

cio das doadoras, expostos "in vitro" a esse agente, e em seguida lavados sucessivamente. Resultados semelhantes foram conseguidos por POTTER et alii (1984) ao testarem embriões com ZP intacta ou removida.

A transmissão vertical de vírus, através de gametas, tem sido revelada em várias espécies animais portadoras de vírus da família RETROVIRIDAE, que têm a capacidade de, com auxílio da transcriptase reversa, sintetizar, na célula hospedeira, DNA complementar ao seu RNA. Em seguida esse segmento de DNA é inserido no genoma do hospedeiro e passa a ser transmitido, às gerações seguintes, através dos gametas masculino e feminino (MIMS, 1981).

O vírus da LEB é classificado como Oncovírus tipo C mamífero, da família RETROVIRIDAE. Esse agente tem a capacidade de clonar seu genoma apenas em células linfóides, e, só ocasionalmente, produzir partículas infectantes livres, no hospedeiro. Assim sendo, os animais infectados apresentam sorologia positiva persistente (BURNY et alii, 1985).

Para avaliar a ocorrência de infecção pelo VLEB em embriões e na cavidade uterina de doadoras naturalmente infectadas por esse agente, BOUILLANT et alii (1981) pesquisaram o vírus em leucócitos circulantes, sedimento de LU, óvulos e embriões de 25 vacas soropositivas ao teste IDAG e isolaram o agente em 11 (73,3%) de 15 amostras de leucócitos e 4 (16,0%) de 25 LU. Contudo, o vírus não foi isolado dos 26 óvulos e 60 embriões colhidos nesses lavados. Os autores sugerem que os isolamentos conseguidos a partir de LU possivelmente foram consequência da presença de linfócitos na cavidade uterina ou contaminação por leucócitos sanguíneos, após ruptura de vasos durante as lavagens uterinas.

Em trabalho recente, RUCKERBAUER et alii (1988) obtiveram 24 linhagens de células útero-tubárias, colhidas em LU de 20 vacas soropositivas para VLEB e quatro soronegativas. Todas as linhagens provenientes de animais soropositivos foram negativas ao teste de IF direta para LEB; enquanto uma apresen

tou resultado positivo para a prova de radioimunoensaio, as procedentes dos animais soronegativos deram resultados negativos em ambos os testes. Os pesquisadores demonstraram a permissibilidade ao VLEB, "in vitro", das células de origem útero-tubária, após inoculação de três linhagens de vacas soronegativas e três de soropositivas. Com base nesses resultados concluíram que essas células não são infectadas "in vivo" pelo VLEB, embora sejam sensíveis ao vírus quando cultivadas "in vitro".

Apesar dessas demonstrações indicarem a ocorrência de contaminação do ambiente uterino à época da colheita dos embriões, trabalhos não têm revelado a transmissão do VLEB de doadoras a receptoras ou às crias de transferência.

EAGLESOME et alii (1982) transferiram 151 embriões, produzidos por doadoras soropositivas para VLEB, a receptoras soronegativas, resultando no nascimento de 27 crias soronegativas. As receptoras continuaram soronegativas durante todo período de observação.

KAJA et alii (1984), trabalhando num programa de formação de rebanho leiteiro livre de infecção pelo VLEB, transferiram 51 embriões de doadoras soropositivas para receptoras soronegativas ao teste de IDAG. Nasceram trinta crias, as quais, juntamente com as receptoras, permaneceram sorologicamente negativas durante 21 meses, período em que foi feito o acompanhamento sorológico.

HARE et alii (1985) obtiveram 50 bezerros produtos da transferência de 207 embriões colhidos em vacas soropositivas e transferidos para novilhas soronegativas. Desses embriões, 111 eram produtos de sêmen de touro soropositivo. Todos os animais receptores e crias apresentaram sorologia negativa. Os mesmos autores não demonstraram a transmissão do VLEB por meio de transferência de embriões, produzidos por vacas e touros soronegativos, expostos "in vitro" ao VLEB e lavados sucessivamente por dez vezes (diluição de 100 x por lavagem). As receptoras que eram soronegativas continuaram assim reagindo

à prova de IDAG.

DIGIACOMO et alii (1986), trabalhando com rebanho leiteiro comercial, produziram 116 crias soronegativas, produtos de transferência de embriões colhidos em doadoras soropositivas e transferidos para receptoras soronegativas. Quando transferiram embriões de vacas negativas a novilhas positivas obtiveram cinco (17%) de 29 crias positivas ao nascer. Com essas observações concluíram que a transmissão "in utero" ocorre em fase mais avançada da gestação e que os embriões não são predispostos a infecção e não transmitem o VLEB.

LORTON et alii (1987) transferiram hemiembrões produzidos por 12 doadoras soropositivas à prova de IDAG para LEB, quatro das quais foram inseminadas artificialmente com sêmens de touros também soropositivos. Nasceram 19 crias das vacas soropositivas e touro soronegativo e nove de doadoras e touros soropositivos. As crias e as receptoras apresentaram sorologia negativa durante todo o experimento.

Embriões, oriundos de doadoras criadas em áreas endêmicas para LEB, foram transferidos para mais de 1.000 receptoras soronegativas e não transmitiram a doença, mesmo tendo sido exigido requerimento sanitário mínimo (THIBIER & NIBART, 1987).

O VLA, um Orbivirus pertencente à família REOVIRIDAE, compreende 23 sorotipos diferentes (ERASMUS, 1985) que se encontraram associados a hemácias de bovinos e outras espécies de ruminantes (HOFF & TRAINER, 1978).

Anticorpos precipitantes anti VLA são normalmente detectados 14 a 28 dias após a infecção e persistem por, pelo menos, três anos (PEARSON & JOCHIM, 1979). As técnicas mais comumente empregadas para pesquisa de anticorpos anti VLA têm valor quando aplicadas em rebanhos; entretanto, ao nível individual, suas sensibilidades são questionáveis (STOTT, et alii, 1984). Por outro lado, resultados positivos a IDAG para VLA devem ser interpretados com cautela, uma vez que existem reações cruzadas entre os diversos sorotipos desse vírus e outros

membros do gênero Orbivírus, como o vírus da hemorragia epizootica (HOFF & TRAINER, 1978; CAMPBELL & GRUBMAN, 1985).

Partículas semelhantes ao VLA foram observadas, através da microscopia eletrônica-ME, em espermatozóides de touros infectados (FOSTER et alii, 1980). A viabilidade desses espermatozóides e a identificação dessas partículas, após isolamento, não foram relatadas.

BOWEN et alii (1983), estudando a possibilidade de ocorrer transmissão do VLA através da TE, colheram embriões de vacas virêmicas das quais o VLA foi isolado em 11 de 20 LU e transferiram para 39 novilhas soronegativas. Os animais receptores não desenvolveram viremia nem soroconverteram. O vírus não foi detectado, através da IF, em 63 embriões e óvulos recuperados.

THOMAS et alii (1983) colheram 28 embriões de dez novilhas virêmicas, experimentalmente inoculadas com VLA, e os transferiram para receptoras soronegativas, resultando em 14 prenhez. Anticorpos foram pesquisados, mas não detectados, durante a gestação e trinta dias após o parto. As crias nasceram e continuaram soronegativas por mais trinta dias, quando foi realizado o último teste.

Na tentativa de avaliar a possibilidade de obter produtos livres do VLA, oriundos de sêmen infectado, THOMAS et alii (1985) inseminaram quatro novilhas soronegativas com sêmen de touro experimentalmente infectado. Desses animais, dois desenvolveram viremia após a inseminação artificial-IA, demonstrando ter ocorrido infecção. Das quatro novilhas foram colhidos 20 embriões e transferidos 16 a receptoras soronegativas, resultando em nove prenhez, produto das novilhas virêmicas, e uma, das não virêmicas. As seis crias resultantes e as receptoras não apresentaram anticorpos até o final do experimento, trinta dias após o parto.

Com base nessas evidências sobre o risco de transmissão de doenças infecciosas através da TE, a SITE (CONCLUSIONES, 1988) as classificou em três categorias distintas: enfer-

midades para as quais se tem provas suficientes para afirmar que o risco de transmissão é desprezível, desde que os embriões sejam adequadamente manipulados<sup>1</sup> - LEB; doenças para as quais há provas substanciais que indicam ser desprezível o risco de transmissão desde que os embriões sejam devidamente manipulados<sup>1</sup>, havendo, porém, necessidade de verificar os dados existentes mediante novas transferências - RIB-VVPI, LA e outras ; enfermidades para as quais os resultados preliminares indicam ser desprezível o risco de transmissão, quando os embriões forem corretamente manipulados entre a colheita e transferência<sup>1</sup>, devendo-se, porém, corroborar as informações preliminares com dados experimentais complementares, "in vitro" e "in vivo" - DBV.

### 2.3. Influência da infecção pelo Herpesvírus Bovino tipo 1 e Vírus da Diarréia Bovina a Vírus sobre a fecundação e mortalidade de conceptos bovinos, nas fases iniciais da gestação.

Os embriões bovinos são colhidos para transferência entre o sétimo e oitavo dias após a IA da doadora. Desta forma, os fatores relacionados com a fertilização dos óvulos e viabilidade dos embriões resultantes devem estar presentes no organismo materno nesse período. Nas fases seguintes, a relação materno-concepto ocorre no organismo da receptora, embora, de alguma forma, certas características genéticas ou adquiridas na relação concepto-doadora possam ainda se expressar nesta segunda fase.

A fertilização nos mamíferos compreende uma série de eventos biológicos que envolvem, numa interação bastante complexa, os gametas masculino e feminino, os quais se combinam para formar uma única célula (BENEVIDES FILHO & PINHEIRO, 1988). O fenômeno se dá na tuba uterina, ao nível da junção ístmo -

---

1 SINGH (1986)

ampola, durante o primeiro dia após o cio, e está regulado, aparentemente, pela função ovariana que, durante a eliminação do óvulo, estimula o transporte dos espermatozóides do reservatório localizado no istmo, próximo a junção útero-tubária (HUNTER & WILMUT, 1984; HUNTER, 1985). Nesse processo é importante não apenas o estado funcional da fêmea mas também a qualidade do sêmen, uma vez que o touro tem influência sobre a taxa de fertilização (CALLAGHAN & KING, 1980).

Poucas horas após a fertilização pode-se detectar, na corrente sanguínea de vacas, o fator de reconhecimento precoce da gestação, produzido pelos ovários e ovidutos, após a emissão do sinal (zigotina) pelo óvulo (MARTAL & CHARLIER, 1985). Em fases mais adiantadas, depois do 15º dia do desenvolvimento embrionário, os conceptos bovinos secretam alfa - fetoproteína (JANZEN et alii, 1982), prostaglandina (LEWISS et alii, 1982) e trofoblastina (HELMER et alii, 1987; MARTAL et alii, 1987), que têm importância para o estabelecimento e manutenção da gestação.

Durante o desenvolvimento embrionário é necessária a presença de substâncias a serem metabolizadas pelo embrião, além dos seus produtos de secreção (BETTERIDGE & FLÉCHON, 1988).

A aderência entre o embrião e os tecidos maternos inicia-se no 20º dia, em conceptos não transferidos, e aos 28 dias já é observado epitélio cúbico, semelhante ao tipo encontrado na placenta madura (WATHES & WOODING, 1980).

Segundo AYALON (1978) os fatores responsáveis pela mortalidade embrionária são de duas classes: genéticos e ambientais (infecção, ambiente uterino, distúrbios hormonais, etc.). Para MARTAL & CHARLIER (1985) qualquer disfunção significativa na produção dos fatores secretados pelos embriões pode ser responsável pela mortalidade embrionária e aborto.

REISINGER & REIMANN (1928) reproduziram, através de inoculação intravaginal (IVa) de filtrados de tecidos, a infecção pelo agente da "Bläschenausschlag" ou "exanthema coitale vesiculosum bovis" (atualmente VVPI) e parece terem sido os primeiros a associar esse agente a distúrbios reprodutivos, ca

racterizados por mortalidade embrionária e endometrite.

Depois do isolamento do HVB1, de lesões de VVPI (KENDRICK et alii, 1958), passou-se a estudar sistematicamente, em condições experimentais e observações de casos naturais, a participação desse agente em distúrbios reprodutivos ocorridos no início da gestação.

CONRADI et alii (1960) pesquisaram a influência da infecção experimental, via intravaginal, sobre a fertilidade de novilhas, e concluíram não existir correlação entre as duas características.

PARSONSON (1964) estudou surtos naturais de VVPI em dois rebanhos leiteiros manejados em regime de monta natural e inseminação artificial. Durante os surtos não foram observadas lesões nos animais inseminados artificialmente mas apenas nos reproduzidos em regime de monta natural. Os animais afetados apresentavam vulvovaginite mas não foi observada alteração na fertilidade. Observações semelhantes foram posteriormente relatadas por HELLING (1965) ao estudar casos naturais de transmissão venérea da infecção por HVB1.

KENDRICK & McENTEE (1967) inseminaram novilhas com sêmen de boa qualidade misturado com o HVB1 e constataram diminuição marcante na taxa de concepção (apenas uma prenhez em 12 novilhas inseminadas) e ocorrência de cios com intervalos inferiores a 18 dias, em todos 10 animais que apresentavam endometrite. Destes animais, cinco mostravam corpo lúteo (CL) cístico. BOECKX et alii (1968) obtiveram resultado semelhante ao inseminarem novilhas com sêmen colhido em touro durante a fase aguda de balanopostite pustulosa infecciosa - BPPI, causada por HVB1.

McKERCHER (1969) atribuiu a diminuição na fertilidade, em vacas infectadas com o HVB1, via sistema genital, à necrose celular resultando em endometrite e impossibilidade do embrião se implantar na mucosa uterina, até que ocorra regeneração celular, quando a capacidade reprodutiva volta ao normal.

HUCK et alii (1971) estudaram um surto de penoposti



te, causado por HVB1, em touros de central de IA, e observaram que um de cinco touros não soroconverteu, a despeito de ter sido isolado o agente. Posteriormente, duas novilhas cobertas por touro portador de sintomas clínicos e uma inseminada artificialmente com sêmen colhido desses touros mostraram sintomas de VVPI, e o vírus foi isolado de raspado vaginal entre os dias três e 15 após a reprodução. As duas novilhas cobertas abortaram e uma mostrou sinais de endometrite, enquanto a inseminada artificialmente não apresentou lesão e ficou prenhe.

Em outro trabalho, HUCK et alii (1973) inocularam 15 novilhas por via IVa com suspensão do HVB1 isolado no surto descrito por HUCK et alii (1971). Todos os animais mostraram VVPI em graus variados. O vírus foi isolado regularmente em raspado vaginal durante a primeira semana após a inoculação, e pôde ser isolado intermitentemente por até 356 dias. Não foi encontrada correlação entre a presença ou ausência de anticorpos e o isolamento do vírus.

Estudando as conseqüências do uso de sêmen comercial infectado com HVB1 em 20 rebanhos, WHITE & SNOWDON (1973) observaram que animais inseminados com sêmen infectado apresentavam taxa de concepção (13,4%) inferior àquela observada em animais, mantidos nos mesmos rebanhos, inseminados com sêmen não contaminado (60,8%). Constataram ainda que 22,1% dos animais que receberam sêmen infectado tinham ciclo estral inferior a 18 dias, ao passo que apenas 1,0% dos outros animais tinham ciclo reduzido em duração.

LORETU et alii (1974) associaram a disseminação da VVPI, na Tanzânia, ao uso da IA e encontraram 65 a 91% de animais clinicamente afetados nos rebanhos examinados, os quais tinham, em associação a esses achados, diminuição da taxa de concepção.

Para pesquisar a influência da monta natural e IA na transmissão e patogenia da infecção por HVB1 PARSONSON & SNOWDON (1975) reproduziram vacas e novilhas soronegativas para HVB1 com touros infectados experimentalmente (com sintomas

clínicos evidentes) e através da IA com sêmen, de qualidade comprovadamente satisfatória, misturado com suspensão de HVB1. Os animais cobertos pelos touros infectados desenvolveram lesões de VVPI, tinham taxa de concepção de 89% e 1,4 serviços por concepção; os inseminados artificialmente com sêmen contaminado mostraram sinais de endometrite e salpingite, e apresentavam 40% de taxa de prenhez, requerimento de 4,5 serviços por concepção eaios mais curtos, enquanto os animais-controles mostraram 90% de fertilidade com 1,7 serviços por concepção. Com isto concluíram que a infecção natural parece não afetar a fertilidade, enquanto a IA com sêmen contaminado a reduz marcdamente. ALLAN et alii (1975) reproduziram novilhas com touro naturalmente infectado e chegaram à mesma conclusão quanto à importância da monta natural na fertilidade.

KUPFERSCHMIED et alii (1986) relataram a importância de sêmen contaminado com HVB1 e as consequências do seu uso em rebanhos livres de HVB1. Foi observado diminuição de 10% na taxa de não-retorno ao cio dos animais que foram inseminados com esse sêmen. Ainda assim, não foi observada sintomatologia clínica de doença nos rebanhos, a despeito de ter sido revelada soroconversão nos animais inseminados artificialmente com o sêmen contaminado.

ELAZHARY et alii (1980) isolaram HVB1 em conteúdo uterino de oito animais de um grupo de onze vacas "repeat breeders" e sugeriram ser a infecção do embrião responsável pela baixa na taxa de prenhez (33%) e aumento no número de serviços por concepção (2,97) observados no rebanho. O rebanho era manejado com IA e monta natural usando um touro em cujo sêmen foi evidenciada a presença do vírus através da IF.

Em Minas Gerais, GALVÃO (1984) isolou HVB1 em 25 de 38 amostras de raspado vulvovaginal (pústulas e exsudatos) enquanto ANUNCIÇÃO (1986) isolou em 21 de 27 amostras. GALVÃO (1984) pesquisou o HVB1 em secreção cérvico-vaginal de animais criados em rebanhos com problemas reprodutivos e o isolou em 35 de 47 amostras.

MILLER & VAN DER MAATEN (1984) inocularam novilhas com HVB1 por via intra-uterina (IU), um dia após terem sido cobertas por touro livre de infecção, e detectaram lesões de endometrite necrótica sem comprometimento das tubas uterinas. Depois da inoculação, a maioria dos animais apresentou CL cístico, necrose focal e proliferação linfóide no parênquima dos CL. O vírus foi isolado do corpo do útero, cérvix e CL, mas não em amostras de sangue.

VAN DER MAATEN & MILLER (1984/85) inocularam HVB1 pelas vias intravenosa (IV), intramuscular (IM) e respiratória (R), no dia seguinte ao estro e cobertura com touro soronegativo para HVB1. Os animais inoculados por via IM e IV desenvolveram lesões no CL (necrose focal, infiltração mononuclear e hemorragias), necrose folicular e infiltração mononuclear difusa do estroma, enquanto aqueles expostos ao vírus por aerosol não apresentaram lesão ovariana. O HVB1 foi isolado dos animais inoculados por via IU e IV, mas não por via aérea. Os autores acreditam que a gravidade das lesões ovarianas depende da duração da viremia, e explicam a falta de lesões do grupo inoculado por aerosol devido à ausência ou presença de viremia de baixo título. Lesões semelhantes, e às vezes mais graves, foram demonstradas por VAN DER MAATEN *et alii* (1985), após inoculação de novilhas por via IV com amostras vacinais.

Posteriormente, MILLER & VAN DER MAATEN (1985) inocularam novilhas com amostras virulentas de HVB1 por via IV, no momento do cio, e observaram que as lesões ovarianas comprometeram o funcionamento do CL, culminando com nível de progesterona abaixo do normal, no primeiro ciclo estral seguinte à infecção, e conseqüente diminuição da taxa de fertilidade. A função do CL e taxa de ovulação foram restabelecidas nos ciclos seguintes, e não sofreram alteração em conseqüência da reativação da infecção por aplicações de dexametazona.

Em outro experimento, MILLER & VAN DER MAATEN (1986) inocularam novilhas com HVB1 por via IV nos dias sete, 14, 21 ou 28, após o cio, e as necropsiaram 13 a 15 dias após a inoculação.

Os animais inoculados nos dias sete ou 14 desenvolveram ooforite e necrose folicular; entretanto, os inoculados nos dias 21 ou 28 não apresentaram lesão de CL, mas mostraram inúmeros folículos necróticos. O vírus HVB1 foi detectado em todos os ovários lesados e isolado em alguns tecidos. Em uma novilha infectada no sétimo dia após o cio foi encontrado um conceito degenerado comprovadamente infectado por HVB1. Nas novilhas inoculadas no dia 14 ocorreu mortalidade embrionária. Todos os animais inoculados no dia 21 ou 28 e um no dia sete apresentaram conceitos aparentemente normais. Esses resultados levaram os autores a concluir que o efeito da infecção do CL por HVB1 depende do estágio de desenvolvimento, sendo menos severo à medida que a infecção ocorre em fase mais adiantada do desenvolvimento; ocorre mortalidade embrionária em novilhas inoculadas sete ou 14 dias após o cio, causada pela ação citocida do vírus sobre os trofoblastos; eventos, possivelmente desencadeados durante as três primeiras semanas, influenciam a infecção do concepto (talvez a aposição das células maternas e do embrião possa facilitar a infecção).

MILLER & VAN DER MAATEN (1987) inocularam 13 novilhas soronegativas para HVB1 sete ou 14 dias após a cobertura, detectaram viremia em sete animais e isolaram o vírus em secreções vaginal e nasal de cinco. Cinco animais inoculados no dia sete e um no dia 14 não conceberam e apresentaram ciclo de duração normal. Três a quatro meses após a inoculação todas as novilhas foram tratadas com dexametozona para reativar possível infecção latente, o que foi conseguido em oito animais. Foram observadas lesões nas adrenais, enquanto o genital apresentava-se normal, não obstante o vírus ter sido isolado no ovário e trompa, mas não do endométrio, de um animal. Os autores sugerem ser pouco freqüente, em condições naturais, que o vírus HVB1, após reativação de infecção latente, atinja o conceito e cause mortalidade embrionária.

BOWEN et alii (1985) e BIELANSKI et alii (1987b), avaliando o desenvolvimento de embriões bovinos eclodidos e in-

fectados "in vitro" com HVB1, concluíram ser o vírus embrioní-  
cida e demonstraram sua capacidade de se replicar em células  
embrionárias. A microscopia eletrônica dos embriões afetados  
revelou nucleocapsídio no núcleo da maioria dos trofoblastos  
que também apresentavam partículas víricas completas no envol-  
tório nuclear e vacúolos citoplasmáticos (BOWEN et alii, 1985).  
Apesar desses achados, estes autores conjecturaram ser remota  
a possibilidade de ocorrerem perdas embrionárias em decorrência  
da ação direta do vírus sobre os embriões, uma vez que não hou-  
ve aumento marcante no título do vírus. Todavia acreditam que  
as perdas sejam decorrentes das alterações ocorridas no micro-  
ambiente uterino necessário ao desenvolvimento embrionário.

SINGH et alii (1983) inocularam, com HVB1, doadoras  
de embriões soronegativas pelas vias R, IVa e IU. O agente foi  
isolado em nove de 33 LU e foi detectado maior número de em-  
briões com desenvolvimento retardado, nas sete vacas que apre-  
sentaram pique febril durante o primeiro dia do desenvolvimen-  
to embrionário. Efeito adverso da hipertermia sobre a qualida-  
de e desenvolvimento de embriões de novilhas superovuladas,  
submetidas a estresse calórico 30 horas após o início do cio,  
foi recentemente demonstrado por PUTNEY et alii (1988). Segundo  
ULBERG & SHEEAN (1973) os embriões são mais sensíveis ao calor  
no início do desenvolvimento e tornam-se mais resistentes à  
medida que aumenta o número de células.

PUTNEY et alii (1987) avaliaram a influência do es-  
tresse calórico sobre o desenvolvimento de embriões bovinos de  
17 dias, cultivados "in vitro", e observaram diminuição da se-  
creção de proteínas, dentre as quais a trofoblastina, conside-  
rada importante para o estabelecimento e manutenção da gesta-  
ção.

A participação do VDBV em distúrbios reprodutivos  
foi relatada por OLAFSON et alii (1946) quando descreveram, pe-  
la primeira vez, a DBV e registraram a ocorrência de abortos.  
Mais recentemente, LAMBERT et alii (1973), ao estudarem reações  
pós-vacinais em animais vacinados com vacina viva contra DBV,

observaram diminuição na taxa de concepção.

Investigando a possibilidade do VDBV estar envolvido na síndrome "repeat breeder" ARCHBALD et alii (1973) inocularam o VDBV, por via IU e intratubária, em vacas soropositivas e soronegativas não prenhes, durante o cio. Mesmo não sendo encontradas lesões uterinas e tubárias, o vírus foi isolado tanto de animais soropositivos quanto soronegativos e concluíram que os anticorpos humorais não protegem contra a infecção uterina e tubária. Esses resultados foram confirmados posteriormente por ARCHBALD & ZEMJANIS (1977).

ARCHBALD et alii (1973) chamaram a atenção sobre a possibilidade de, a partir de focos de infecção uterina, haver transmissão do vírus aos embriões em desenvolvimento.

ARCHBALD (1974) isolou o VDBV da secreção útero - cervical de uma vaca "repeat breeder" e sugeriu que esse vírus tinha participação na mortalidade e reabsorção embrionária. O autor relatou um experimento em que demonstrou não haver interferência do VDBV com a fertilização, mas que o vírus era capaz de causar mortalidade embrionária entre o 8º e 16º dias após a IA. De 14 animais inseminados artificialmente e inoculados com o VDBV, por via IU, apenas um emprenhou. Os 13 animais não prenhes tiveram ciclos estrais de duração normal e repetidos regularmente.

ARCHBALD & ZEMJANIS (1977) evidenciaram que vacas soronegativas quando inseminadas artificialmente e inoculadas por via IU com o VDBV, apresentavam menor taxa de concepção. Resultados semelhantes foram encontrados por McCLURKIN et alii (1979) quando empregaram monta natural com touro eliminando o agente no sêmen.

WHITMORE et alii (1981) observaram que não há interferência sobre a taxa de concepção quando animais soropositivos para VDBV são infectados por via IU ou soronegativos infectados pelas vias respiratória e digestiva, no momento da IA.

VIRAKUL et alii (1988) avaliaram as taxas de concepção de vacas naturalmente infectadas a partir de um animal

imunotolerante e infectado persistentemente com amostra não citopatogênica do VDBV. As taxas encontradas nos grupos de ani mais inseminados artificialmente quando soronegativos, durante a soroconversão e soropositivos, foram de 22,2%, 44,4% e 78,8%, respectivamente.

Na tentativa de explicar o mecanismo envolvido nas perdas de embriões em animais infectados, ARCHBALD et alii (1979) inocularam o VDBV no corno uterino direito e deixaram o corno esquerdo como controle. No décimo dia após IA, os embriões colhidos nos cornos infectados apresentavam retardo no desenvolvimento e degeneração. A ME desses embriões revelou a presença de estruturas morfológicamente semelhantes ao VDBV, enquanto os embriões recuperados nos cornos não infectados apresentavam-se morfológicamente normais e sem partículas víri cas evidenciáveis através da ME. Essas alterações no desenvolvimento embrionário foram atribuídas à inibição do crescimento por redução na taxa de mitose, ainda que não tenham excluído a possibilidade de decorrerem da ação indireta do vírus, alteran do as secreções uterinas.

GRAHN et alii (1984) avaliaram as estruturas colhi das de vacas soronegativas inoculadas com VDBV, por via IU, e de animais soronegativos não infectados. Nas colheitas feitas no terceiro dia depois do cio encontraram 52% de estruturas fertilizadas no grupo tratado, e 81,6% no controle; nas colhei tas realizadas no 13º dia após o cio, recuperaram 88,6% de es truturas desenvolvidas e eclodidas no grupo controle e 50,8% no tratado. Essas diferenças foram consideradas como consequên cia da ação adversa do vírus sobre a fertilização, uma vez que os percentuais de estruturas não fertilizadas, observados no dia três após o cio e não eclodidas ou degeneradas (indiferen ciáveis dos não fertilizados), avaliadas no dia treze depois do cio, eram bastante semelhantes. Por outro lado, ainda que não tenham observado diferença significativa quanto ao estágio de desenvolvimento dos embriões colhidos em ambos os grupos no dia três após o cio, consideraram que parece ter havido retar-

do no desenvolvimento de embriões expostos ao vírus. Admitiram ainda que o VDBV age diretamente sobre os gametas ou, indiretamente, através das alterações no ambiente necessário à fecundação.

Estudos "in vitro" têm demonstrado que o VDBV não interfere no desenvolvimento de embriões bovinos que apresentam ZP intacta (SINGH et alii, 1982a; POTTER et alii, 1984), danificada ou removida (BIELANSKI et alii, 1987a; BIELANSKI & HARE, 1988).

Em condições naturais, o VDBV tem sido isolado em secreção útero-cervical (ARCHBALD, 1974) e de culturas de células de endométrio obtidas por tripsinização (LUTHER et alii, 1978).

RUCKERBAUER et alii (1988) obtiveram linhagens celulares a partir de células útero-tubárias, colhidas por lavagem, e demonstraram a presença do VDBV em seis de 20 linhagens assim estabelecidas.

SSETENGO et alii (1980) pesquisaram vírus em ovários de 346 novilhas inférteis, das quais 78% eram soropositivas para o VDBV, e isolaram o agente em 12 amostras. Posteriormente reproduziram a infecção por inoculação intramuscular do VDBV e detectaram ooforite intersticial difusa entre os dias 15 e 61 após a inoculação. O agente só foi re-isolado durante a fase ativa da infecção, apesar da presença de anticorpos. O surgimento de lesões em paralelo ao de anticorpos e sua persistência na ausência de infecção detectável, segundo esses autores, indicam que mais provavelmente a ooforite seja de natureza imune.





### 3. MATERIAL E MÉTODOS

Foram empregadas, como doadoras de embriões, vacas das raças Gir, Nelore, Holandesa, Pardo Suíço, Chianina e Pinzgauer, mantidas em 11 rebanhos do Estado de Minas Gerais, localizados nos municípios de Vespasiano, Pedro Leopoldo, Pará de Minas, Pitangui, Barbacena, Arcos, Januária e Cordisburgo. Os animais participavam de programas de melhoramento genético e foram selecionados após exame clínico-ginecológico e observação do comportamento em relação ao ciclo estral. Eram admitidas vacas que não apresentavam alterações detectáveis ao exame clínico-ginecológico e que tinham, no mínimo, dois cios repetidos a intervalo regular de 18 a 22 dias.

O manejo das doadoras variava de acordo com a fazenda onde eram criadas. Entretanto, eram práticas comuns a mineralização, suplementação com concentrado, alimentação volumosa a base de pasto, feno e silagem, além de vermifugações periódicas e vacinações contra febre aftosa e brucelose. Os rebanhos eram livres de tricomoníase e campilobacteriose.

As receptoras eram novilhas púberes, sem raça definida, provenientes da mesma fazenda das doadoras ou adquiridas em outros rebanhos com o fim específico de serem utilizadas nos programas de TE. Esses animais eram manejados em grupos separados das doadoras e recebiam basicamente os mesmos cuidados.

As técnicas de superovulação, sincronização dos cios, colheita, avaliação e transferência dos embriões variavam

em alguns aspectos, de acordo com a equipe responsável pelo programa.

A superovulação foi induzida pela aplicação do hormônio estimulante folicular (FSH)<sup>1</sup>, em doses diárias. Os animais da subespécie Bos taurus indicus foram tratados de acordo com COELHO (1988) enquanto os Bos taurus taurus recebiam 32 a 38 mg de FSH divididos em duas doses diárias, intervaladas de 12 horas, durante quatro dias. Na tarde do terceiro dia do tratamento era aplicado 0,5 mg de cloprostenol<sup>2</sup> para provocar lise do corpo lúteo.

A sincronização dos cios foi conseguida através da aplicação, nas receptoras, de 0,5 mg de cloprostenol 60 horas após o início do tratamento das doadoras.

Os animais eram observados diuturnamente para detecção de cio e inseminação artificial, procedida de acordo com o esquema empregado por COELHO (1988) para as doadoras Bos taurus indicus, enquanto as Bos taurus taurus recebiam duas inseminações, sendo a primeira 14 horas após início do cio e a segunda oito horas depois da primeira.

As estruturas eram colhidas entre o sétimo e oitavo dia após o estro, através de lavagem uterina em circuito fechado, geralmente empregando-se o meio de DULBECCO<sup>3</sup>, conforme ELSDEN et alii (1976). Em seguida, após a decantação do LU por, no mínimo, 40 minutos, e sinfonação do sobrenadante, procedia-se a distribuição do volume restante em placas de Petri onde as estruturas eram localizadas com auxílio de microscópio estereoscópico, colhidas, transferidas para outra placa contendo o mesmo tipo de meio acrescido de 10% de soro fetal bovino<sup>4</sup>, onde eram avaliadas.

---

1 FSH - P - Burns - Biotec Laboratories Inc - Omaha - Nebraska, U.S.A.

2 CIOSIN. ICI do Brasil S.A. - São Paulo, SP.

3 MEIO DE DULBECCO - Laboratório CULTILAB - Campinas, SP.

4 SORO FETAL BOVINO - Laboratório CULTILAB - Campinas, SP.

A avaliação das estruturas foi feita com base em critérios morfológicos, uma vez que são adequados quando aplicados a um grande número de estruturas (SHEA, 1981; STRINGFELLOW et alii, 1987), e variou de acordo com a equipe envolvida no programa. De um modo geral considerava-se: tamanho; forma; cor (densidade); número e compactação celular; tamanho do espaço perivitelínico; percentagem de células degeneradas e em extrusão; número e percentagem de células vesiculadas; estágio de desenvolvimento.

Por motivos metodológicos, sem considerar os detalhes relativos aos critérios de avaliação empregados por cada equipe, as estruturas foram classificadas em: não fertilizada - aquela considerada sem sinais de divisão celular; fertilizada viável - ausência de defeitos graves, em condições de continuar se desenvolvendo após a transferência; fertilizada inviável - alterações julgadas incompatíveis com a sobrevivência após a transferência.

Como não era possível avaliar a viabilidade dos embriões com base em critérios fisiológicos, admitiu-se que embriões efetivamente implantados ao serem transferidos aleatoriamente a receptoras (sem considerar os resultados da sorologia das receptoras) eram aqueles capazes de metabolizar nutrientes e secretar fatores necessários ao estabelecimento e manutenção da gestação.

Os embriões foram transferidos para receptoras que apresentavam sincronia do ciclo estral com a doadora, porém foi aceita, assincronia de, no máximo, 24 horas. A técnica empregada foi a cirúrgica, por laparotomia no flanco ipsilateral ao ovário que continha o corpo lúteo, executada de acordo com ELSDEN (1977).

O diagnóstico de gestação foi realizado entre 45 e 60 dias após a transferência, através da técnica clássica de toque retal.

Para estudar o desempenho reprodutivo de doadoras soropositivas para HVB1 e/ou VDBV e soronegativas, as vacas

foram agrupadas de acordo com os resultados da soroneutralização empregada para detecção de anticorpos contra esses agentes. Na formação desses grupos as vacas foram classificadas de tal maneira que ficou, em cada grupo, igual número de animais da mesma raça, pertencentes ao mesmo rebanho e trabalhados pelos mesmos técnicos constituintes das duas equipes. Desta forma, os seguintes grupos foram constituídos:

Grupos	Número de animais	Resultados das provas sorológicas
HVB1	10	Positivo para HVB1
VDBV	10	Positivo para VDBV
HVB1/VDBV	10	Positivo para HVB1 e VDBV
Soronegativo	10	Negativo para HVB1 e VDBV

O desempenho reprodutivo das doadoras foi avaliado com base nas seguintes variáveis: número total de estruturas recuperadas no LU (estimativa da resposta ao tratamento hormonal e funcionamento dos ovários); taxa de fertilização; taxa de viabilidade embrionária (número de estruturas fertilizadas morfológicamente viáveis em relação ao total de estruturas fertilizadas); taxa de prenhez das receptoras considerando apenas o resultado da sorologia realizada na doadora (estimativa do possível efeito do estado imune da doadora sobre a "viabilidade fisiológica" dos embriões).

A avaliação do desempenho reprodutivo das receptoras foi conduzida com base na taxa de prenhez até 60 dias após a TE. As receptoras foram agrupadas de forma semelhante às doadoras e, em outra formação de grupos, também foram considerados os resultados das provas realizadas nas doadoras. Em receptoras soropositivas para HVB1 e/ou VDBV foram determinados os riscos

de perdas dos embriões transferidos, em comparação com os animais soronegativos.

A pesquisa de anticorpos neutralizantes contra o VDBV foi conduzida de acordo com a técnica em microplaca descrita por ROSSI & KIESEL (1971), usando-se células da linhagem MDBK ("Madin Darby Bovine Kidney") e amostra NADL ("National Animal Diagnostic Laboratory - U.S.A.") do VDBV, enquanto para HVB1 foi executada a mesma técnica com as modificações de BITSCH (1978), no que diz respeito ao período de incubação da mistura vírus - soro. Foi empregada a mesma linhagem celular e a amostra LA (Los Angeles) do HVB1.

Anticorpos precipitantes contra a LEB foram detectados através da técnica descrita por MILLER & VAN DER MAATEN (1977), utilizando-se antígeno preparado conforme ROMERO & ROWE (1981), ao passo que os contra VLA foram pesquisados pela técnica descrita por PEARSON & JOCHIM (1979) usando-se o antígeno obtido a partir de culturas de células infectadas com um sorotipo do VLA<sup>1</sup>.

Para determinar a prevalência de anticorpos contra os vírus HVB1, DBV, LEB e LA, foram calculados os tamanhos das amostras segundo as recomendações do Centro Panamericano de Zoonoses (CEPANZO, 1979), empregando-se a fórmula:

$$n = \frac{p(100 - p) Z^2}{\left(\frac{p \cdot d}{100}\right)^2}$$

onde: n = número de animais a serem testados

p = prevalência esperada

Z = grau de confiança

d = margem de erro esperada.

---

1 Veterinary Diagnostic Technology, In. 4890 Van Gordon st./suite 101  
Wheat Ridge, Co 80033 U.S.A. (303) 467 - 2741.

Aplicando-se a fórmula, obteve-se:

$$\text{HVB}_1 (p = 50\%, d = 10\% \text{ e } Z = 1,96) = 384$$

$$\text{VDBV} (p = 50\%, d = 10\% \text{ e } Z = 1,96) = 384$$

$$\text{VLEB} (p = 25\%, d = 17\% \text{ e } Z = 1,96) = 400$$

$$\text{VLA} (p = 50\%, d = 10\% \text{ e } Z = 1,96) = 384$$

As prevalências esperadas de animais soropositivos para HVB<sub>1</sub>, VLEB e VLA foram estimadas com base nos relatos de GALVÃO et alii (1962-63), MOREIRA et alii (1982), MODENA et alii (1984) e ANUNCIÇÃO (1986), enquanto para DBV a estimativa do p foi feita após a execução de plano piloto, compreendendo o exame de amostras dos rebanhos estudados. Amostras adicionais, equivalentes a cerca de 10% do n calculado, foram colhidas e incluídas na amostragem estudada para cada doença.

Foram calculadas taxas da população bruta e, após estratificação, segundo a categoria (doadora ou receptora) e subespécie das doadoras (Bos taurus indicus ou Bos taurus taurus).

Os seguintes testes foram empregados na análise estatística, efetuados de acordo com SNEDECOR & COCHRAN (1967): taxa de prevalência - teste  $\chi^2$ ; médias de estruturas colhidas em LU de cada grupo - análise de variância; taxa de fertilização, viabilidade embrionária e de prenhez das receptoras - teste  $\chi^2$ . O risco relativo (RR) da incidência de perdas de concepções nas receptoras foi calculado pela fórmula  $R = p_1/p_2$ , onde  $p_1$  é a probabilidade de ocorrer perda no grupo soropositivo e  $p_2$  a do grupo soronegativo.

#### 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

##### 4.1. Prevalência de doadoras e receptoras soropositivas para os vírus HVB1, DBV, LEB e LA, e suas possíveis implicações no comércio de embriões.

Os resultados dos testes sorológicos realizados em rebanhos de doadoras e receptoras, segundo a categoria (doadora ou receptora) e subespécie da doadora (Bos taurus indicus ou Bos taurus taurus) estão apresentados nas TAB. I e II e GRAF. 1 a 8.

Ao estudar as prevalências de animais soropositivos para HVB1, VDBV, VLEB e VLA, na população não estratificada, obtiveram-se as taxas de 50,9%, 37,3%, 23,0% e 76,3%, respectivamente (TAB. I). Estes achados demonstraram que esses agentes se encontram amplamente disseminados em nosso meio, principalmente o HVB1 e VLA, que têm maiores taxas de prevalência. A taxa encontrada para VLA deve ser interpretada com cautela, uma vez que é possível ocorrer reação cruzada com outros agentes (HOFF & TRAINER, 1978, CAMPBELL & GRUBMAN, 1985).

A prevalência encontrada para infecção por HVB1 está ligeiramente superior às relatadas por GALVÃO et alii (1962/63) e WIZIGMANN et alii (1972). Esses autores realizaram levantamentos há muitos anos em regiões diferentes, podendo serem diferentes os perfis de saúde dessas regiões ou os mesmos terem mudado com o passar do tempo e, as

TABELA I - Resultados das provas sorológicas realizadas em rebanhos de doadoras e receptoras de embriões, Minas Gerais, 1988.

SOROLOGIA	DOADORAS		RECEPTORAS		TOTAL	
	Nº POSITIVOS	% *	Nº POSITIVOS	%	Nº POSITIVOS	%
HVB1	130	43,8 ± 8,5	280	54,3 ± 5,8	410	209 50,9 ± 4,8
VDBV	130	55,4 ± 8,5 <sup>a</sup>	280	28,9 ± 5,3 <sup>b</sup>	410	153 37,3 % 4,7
VLEB	130	30,7 ± 7,9 <sup>a</sup>	321	19,9 ± 4,3 <sup>b</sup>	451	104 23,0 ± 3,9
VLA	130	84,6 ± 6,2	280	72,5 ± 5,2	410	313 76,3 ± 4,1

\* Intervalo de confiança de 95%.

ab Letras diferentes na mesma linha indicam diferença estatisticamente significativa

(p < 0,05)



TABELA II - Resultados das provas sorológicas realizadas em doadoras de embriões das subespécies Bos taurus indicus e Bos taurus taurus, Minas Gerais, 1988.

SOROLOGIA	DOADORAS							
	<u>Bos taurus indicus</u>				<u>Bos taurus taurus</u>			
	Nº POSITIVOS	%*	Nº POSITIVOS	%	Nº POSITIVOS	%	Nº POSITIVOS	%
HVB1	33	55,0 ± 12,6	70	24	34,3 ± 10,0	130	57	43,8 ± 8,5
VDBV	29	48,3 ± 12,6	70	43	61,4 ± 11,4	130	72	55,4 ± 8,5
VLEB	06	10,0 ± 7,6 <sup>a</sup>	70	34	48,6 ± 11,7 <sup>b</sup>	130	40	30,7 ± 7,9
VLA	45	75,0 ± 10,9	70	65	92,3 ± 6,2	130	110	84,6 ± 6,2

\* Intervalo de confiança de 95%.

ab Letras diferentes na mesma linha indicam diferença estatisticamente significativa

(p < 0,05)



sim esses dados não corresponderem mais à realidade atual. Por outro lado, verifica-se divergência em relação às frequências relatados por IKUNO & MUELLER (1982) e GALVÃO (1984) e concordância com a encontrada por ANUNCIACÃO (1986), em Minas Gerais. GALVÃO (1984) trabalhou com um número muito pequeno de amostras, enquanto ANUNCIACÃO (1986), seguiu para cálculo do tamanho da amostra, o mesmo delineamento adotado neste trabalho; daí a maior aproximação dos valores.

IKUNO & MUELLER (1982) interpretaram como positivos ao teste da HAP os animais que apresentavam título igual ou superior a 1:2. Se tivessem admitido como soropositivos os reagentes nas diluições igual ou superiores a 1:8 (ANUNCIACÃO, 1986) teriam, de acordo com os dados apresentados, encontrado prevalência de 50,5%, semelhante à mostrada na TAB. I e GRAF. 1, para HVBI.

A prevalência de animais soropositivos para o VDBV (37,3%) está em acordo com os resultados de WIZIGMANN et alii (1972), porém é superior a taxa encontrada por SOARES & PEREIRA (1974) e inferior à registrada por NOGUEIRA et alii (1986). Os primeiros trabalharam com um número de amostras considerado adequado, segundo a recomendação do CEPANZO (1979), ao passo que SOARES & PEREIRA (1974) e NOGUEIRA et alii (1986) testaram um número muito pequeno de animais, o que torna seus dados relativamente imprecisos.

A taxa de 23,0% de animais sorologicamente reagentes ao VLEB está próxima às descritas por ALENCAR FILHO et alii (1979), em São Paulo, KANTEK, et alii (1983), no Paraná, MODENA et alii (1984), em Minas Gerais, e GOMES et alii (1985), no Rio Grande do Sul, porém é inferior à registrada por ROMERO & ROWE (1981), no Rio de Janeiro.

A TAB. I mostra que 76,3% dos animais testados para pesquisa de anticorpos contra o VLA deram reações positivas à prova de IDAG. Em outros trabalhos são relatados achados inferiores a essa cifra (MOREIRA et alii, 1980; ABREU, 1982; CUNHA et alii, 1982). Variações nas características ecológicas re-

gionais e flutuação nas populações de vetores talvez expliquem essas diferenças, conforme observaram LEFÈVRE & CALVEZ (1986) e ABU EL ZEIN et alii (1987).

Quando o grupo de doadoras foi estratificado segundo a subespécie (TAB. II; GRAF. 2, 4, 6 e 8) observaram-se frequências de positivos, na Bos taurus indicus, de 55,0%, 48,3%, 10,0% e 75,0%, e na Bos taurus taurus, de 34,3%, 61,4%, 48,6% e 92,3%, para HVB1, VDBV, VLEB e VLA, respectivamente. Foi encontrada diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre as frequências de soropositivos para o VLEB nos dois estratos. Resultados semelhantes foram obtidos por outros autores (ALENCAR FILHO et alii, 1979; KANTEK et alii, 1983; MODENA et alii, 1984), ao compararem frequências de anticorpos anti VLEB em bovinos mestiços, de raças europeias ou zebuínas.

Ao estratificar a população segundo a categoria (TAB. I) observaram-se frequências nas doadoras, de 43,8%, 55,4%, 30,7% e 84,6%; e, nas receptoras, de 54,3%, 28,9%, 19,9% e 72,5%, para HVB1, VDBV, VLEB e VLA, respectivamente. A diferença entre as taxas das doadoras e receptoras soropositivas para o VDBV foi estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ ). Este achado pode ser explicado pelo fato de que as doadoras eram animais mais velhos e, após infecção, o título de anticorpos pode persistir por anos (DUFELL & HARKNESS, 1985). Também foi significativa ( $p < 0,05$ ) a diferença entre as taxas de soropositivos para a LEB em ambos estratos. Esta diferença deve estar relacionada ao fator idade, como demonstraram ROMERO & ROWE (1981) e KANTEK et alii (1983).

Considerando-se que, em decorrência das prevalências de animais soropositivos para HVB1, VDBV, VLEB e VLA, a probabilidade de se obter animal soronegativo aos testes diminui marcadamente à medida que aumenta o número de testes solicitados, é de se esperar que seja praticamente impossível o Brasil exportar embriões, caso os regulamentos dos países importadores sejam rigorosos e incluam exigência de um grande número de testes sorológicos para doadoras de embriões, como citam CASAS

OLASCOAGAS & SUTMÖLLER (1988).

Os países importadores devem revisar e adaptar seus regulamentos, limitando as exigências sanitárias ao absolutamente indispensável. Testes sorológicos só são justificados quando adequadamente escolhidos e que tenham correlação satisfatória com o risco de infecção dos embriões (JANSSEN, 1987; VAN DER MAATEN, 1987; CASAS OLASCOAGAS & SUTMÖLLER, 1988).

A quebra da cadeia de transmissão de agentes infectiosos de doadoras a receptoras de embriões, proposta por STRINGFELLOW & WRIGHT (1987), pode ser feita através da certificção de que o agente não se encontra presente no organismo da doadora ou pela eliminação dos agentes por manipulações "in vitro", após a colheita, mesmo das sabidamente infectadas. O primeiro caso é mais difícil de ser atendido e, dependendo dos exames necessários, de difícil realização ou interpretação dos resultados, como é o caso de exames sorológicos ou de isolamento de vírus, nem sempre fornece segurança sobre o estado sanitário dos embriões. O segundo é de mais fácil execução, pode ser rigorosamente controlado, é de custo bastante inferior e tem dado resultados satisfatórios desde que seguidas as recomendações da SITE (SINGH, 1986), no que diz respeito a colheita, processamento e transferência de embriões bovinos.

Testes sorológicos para pesquisa de anticorpos contra HVB1, embora geralmente traduzam um possível estado de infecção, podem falhar na detecção de animais infectados, em determinadas fases da infecção (HUCK et alii, 1971, 1973; ALAN et alii, 1975; PARSONSON & SNOWDON, 1975), e assim não asseguram estar o embrião livre da exposição ao patógeno, mesmo quando colhido em doadora soronegativa. Por outro lado, o tratamento rápido com tripsina, conforme recomenda a SITE (SINGH, 1986), é inócuo (ECHTERNKAMP & MAURER, 1988) e elimina o risco de embriões veicularem o HVB1 em sua ZP, onde pode se aderir (SINGH et alii, 1983). Caso não seja submetido a este tratamento existe o risco potencial de transmissão (SINGH, 1987).

Seguindo-se as práticas sanitárias recomendadas pe

la SITE (SINGH, 1986) embriões têm sido colhidos em animais infectados e transferidos a receptoras soronegativas sem transmissão da doença (SINGH et alii, 1983; THIBIER & NIBART, 1987). Assim procedendo, a SITE (CONCLUSIONES, 1988) indica ser mínimo o risco de transmitir essa doença através da TE.

Bovinos infectados pelo VDBV nas fases iniciais da gestação podem nascer clinicamente normais, imunotolerantes e persistentemente infectados (McCLURKIN et alii, 1984), atingir a idade adulta e continuar eliminando o vírus, inclusive nas secreções cervical e uterina (VIRAKUL et alii, 1988). Este fenômeno torna de valor limitado o emprego da sorologia como forma de atestar o estado sanitário do embrião. Embora não existam informações relativas ao risco de transmissão do VDBV de doadoras a receptoras, há indícios, suficientemente confiáveis, de que, se forem seguidos os cuidados recomendados pela SITE (SINGH, 1986) para manipulação dos embriões "in vitro" a transmissão da infecção deixará de ocorrer (SINGH et alii, 1982a; POTTER et alii, 1984). Esses resultados indicam ser desprezível o risco de transmissão da DBV através da TE (CONCLUSIONES, 1988).

O vírus da LEB, após instalada a infecção, persiste no organismo em associação com as células linfóides do tipo B e os animais apresentam sorologia positiva persistente (BURNY et alii, 1985). Desta forma, a sorologia para leucose, mesmo com certa limitação, é indicativo de infecção. Contudo, seu uso é dispensável uma vez que existem provas substanciais para afirmar ser desprezível o risco de transmissão da LEB pelo emprego da TE (CONCLUSIONES, 1988).

Ainda que o VLEB esteja presente na cavidade uterina (BOUILLANT, et alii, 1981; RUCKERBAUER et alii, 1988), as práticas recomendadas pela SITE (SINGH, 1986) mostram - se bastante seguras para não ter sido demonstrada a transmissão da doença através da TE (EAGLESOME et alii, 1982; KAJA et alii, 1984; HARE et alii; 1985; DIGIACOMO et alii, 1986; LORTON et alii, 1987; THIBIER & NIBART, 1987).

As técnicas mais comumente empregadas na pesquisa

de anticorpos anti VLA têm valor quanto aplicadas em rebanhos. Entretanto, ao nível individual, suas sensibilidades são questionáveis (STOTT et alii, 1984). É natural que os países onde ocorre o VLA se preocupem com a importação de material genético de áreas endêmicas, uma vez que existem 23 sorotipos, com patogenicidades diferentes (ERASMUS, 1985). Não tem sido demonstrado a possibilidade da LA ser transmitida de doadoras de embriões a receptoras (BOWEN et alii, 1983; THOMAS et alii, 1983, 1985) mesmo quando se emprega sêmen de touro infectado (THOMAS et alii, 1985) onde partículas do VLA já foram evidenciadas (FOSTER et alii, 1980). Esses resultados são indicativos de que o risco de transmissão da LA por meio das técnicas de TE é desprezível (CONCLUSIONES, 1988), desde que sejam observadas as recomendações sanitárias para colheita, processamento e transferência dos embriões bovinos (SINGH, 1986).

A COSALFA (COMISION, 1988), considera que deve ser formado um banco de soros de potenciais doadoras de material genético. Essa recomendação parece ser inconsistente, uma vez que o estado sanitário dos animais está sujeito a variações permânes dependendo da exposição a novos agentes ou a sorotipos diferentes do mesmo agente. A formação desses bancos não contribuirá para facilitar o comércio de embriões, uma vez que, quando exigidas, as provas sorológicas deverão ser realizadas com amostras colhidas antes e/ou durante e/ou após a colheita dos embriões, e não com amostras previamente estocadas que não mais representam o estado imunológico do animal. KUPFERSCHMIED et alii (1986) relataram a introdução do HVB1 na Suíça através da importação de sêmen contaminado. O touro doador havia sido testado antes das colheitas quando ainda não tinha soroconvertido. O reteste do animal revelou a presença de anticorpos neutrilizantes. Esse fato levou as autoridades sanitárias a exigirem atestados negativos de touros doadores de sêmen para importação, antes e depois das colheitas do sêmen. No caso de embriões, o que é mais importante é a observância das recomendações da SITE (SINGH, 1986) e o cumprimento dos acordos firmados entre o país

importador e exportador (MAPLETOFT, 1987).

Importações de embriões com o mínimo de exigências sanitárias têm sido relatadas (THIBIER & NIBART, 1987), sem que tenha havido algum problema sanitário após transferência de um grande número de embriões importados dos Estados Unidos da América para a França, com o objetivo de melhorar geneticamente touros empregados em centrais de IA.

A recomendação de flexibilidade nos regulamentos para comércio de embriões não se restringe ao âmbito legislativo e comercial. É evidente a necessidade de haver troca de material genético, principalmente entre países de pecuárias ainda não bem desenvolvidas, mas que possuem material genético de superior qualidade, como as raças zebuínas em alguns países sul-americanos, principalmente no Brasil, para que, juntamente com a evolução de outras tecnologias, se possa atingir níveis satisfatórios de produtividade e contribuir para o desenvolvimento regional e bem estar das populações.

#### 4.2. Avaliação do desempenho reprodutivo de doadoras e receptoras de embriões soropositivos para HVB1 e/ou VDBV, e soronegativas.

A resposta das doadoras ao tratamento hormonal foi avaliada com base na média de estruturas colhidas. Ao comparar as médias dos grupos compostos por animais soropositivos para HBV1 (4,7) VDBV (7,3), HVB1 e VDBV (5,7), e soronegativos (6,4), não se observou diferença estatisticamente significativa ( $p > 0,05$ ) (TAB. III e IV; GRAF. 9).

Para que animais respondam satisfatoriamente ao tratamento hormonal é necessário que se encontrem com sistema endócrino funcionando normalmente. Lesões ovarianas (CL cístico, ooforite e necrose folicular) foram descritas após IA com sêmen misturado com HVB1 (KENDRICK & McENTEE, 1967), inoculação de HVB1 por via intra-uterina (MILLER & VAN DER MAATEN, 1984), intramuscular e intravenosa (VAN DER MAATEN & MILLER, 1984 / 1985;

VAN DER MAATEN *et alii*, 1985; MILLER & VAN DER MAATEN, 1985, 1986). Contudo, não foram detectadas alterações ovarianas em decorrência da inoculação desse agente por via respiratória, através de aerossóis (VAN DER MAATEN & MILLER, 1984/85). Os animais que foram inoculados por via IV apresentaram níveis séricos de progesterona mais baixos e tiveram redução na taxa de ovulação; ainda assim, nos ciclos seguintes à fase aguda da infecção, as funções ovarianas foram restabelecidas, mesmo em animais portadores de infecção latente (MILLER & VAN DER MAATEN, 1985, 1987).

Esses trabalhos foram conduzidos em condições experimentais, o que nem sempre corresponde aos fenômenos naturais. Existem diferenças quanto à amostra do vírus inoculado, que, após passagens em células cultivadas "in vitro", pode ter alterada a patogenicidade; por outro lado, variam a dose infectante e vias de infecção, além de outros fatores inerentes ao próprio animal e ao meio, cuja interação é responsável pelo desenvolvimento do processo mórbido, ao nível de indivíduo. Em condições naturais a infecção por HVB1 se dá, principalmente, através da via respiratória (GIBBS & RWEYEMAMU, 1977). Por esta via não foram demonstradas alterações ovarianas nos animais experimentalmente infectados (VAN DER MAATEN & MILLER, 1984/85). Em condições naturais é possível que ocorra viremia em títulos inferiores aos atingidos com as inoculações IV e IM, e, ocorrendo lesões ovarianas, sejam de intensidade e frequência baixas.

As doadoras foram triadas como positivas para HVB1 através da pesquisa de anticorpos neutralizantes, que aparecem uma semana após a infecção e persistem por anos (GIBBS & RWEYEMAMU, 1977). Estas circunstâncias tornam remota a possibilidade de terem sido trabalhados animais infectados que ainda não tinham soroconvertido. Esta possibilidade torna-se ainda mais improvável uma vez que as vacas eram mantidas nos rebanhos há bastante tempo, onde a infecção provavelmente já estava estabelecida. Assim sendo, os animais soropositivos possivelmente tiveram infecção em ciclos anteriores e, mesmo naqueles



TABELA III - Estruturas recuperadas em lavados uterinos de vacas doadoras de embriões portadoras de anticorpos neutralizantes contra os vírus HVB1 e/ou DBV, e soronegativas, Minas Gerais, 1988.

RESULTADOS (SN*)		ESTRUTURAS RECUPERADAS		
		Nº	X	$\pm$ S
HVB1	10**	47	4,7	$\pm$ 1,7
VDBV	10	73	7,3	$\pm$ 2,9
HVB 1/VDBV	10	57	5,7	$\pm$ 2,6
NEGATIVO	10	64	6,4	$\pm$ 4,2
TOTAL	40	241	6,0	$\pm$ 3,0

\* Soroneutralização em microplaca.

\*\* Número de doadoras.

TABELA IV - Análise de variância para os dados da TABELA III.

CAUSA DE VARIAÇÃO	G.L.	SQ	QM	F
TRATAMENTOS	3	36,3	12,1	1,36
RESÍDUOS	36	320,7	8,9	
TOTAL	39			

F Tab.  $\sim$  2,9

nos quais houve comprometimento ovariano, suas funções já estavam possivelmente restabelecidas (MILLER & VAN DER MAATEN, 1985, 1987).

Em relação a alterações ovarianas observadas em animais infectados com o VDBV, SSETENGO et alii (1980) isolaram o vírus em ovários de novilhas inférteis e reproduziram ooforite após inoculação IM com o VDBV. Não foram realizados estudos sobre a endocrinologia desses animais nem sobre a reprodução dessas lesões por inoculações do VDBV pelas vias naturais de infecção. A média de estruturas recuperadas no grupo soropositivo para VDBV não diferiu estatisticamente daquela encontrada no grupo-controle, o que sugere que nesses animais lesões ovarianas possivelmente não estavam presentes ao ponto de comprometer a taxa de ovulação.

Interpretações semelhantes podem ser aplicadas ao analisar as médias dos grupos soropositivos para HVB1 e HDBV, e soronegativo, uma vez que também não houve diferença significativa entre as médias 5,7 e 6,4 dos respectivos grupos (TAB. III e IV; GRAF. 9).

Durante a seleção das doadoras, as vacas foram examinadas clinicamente e seus ciclos acompanhados. Só foram aceitos animais livres de alterações detectáveis ao exame clínico-ginecológico e que apresentavam regularidade no ciclo estral. Esses critérios podem ter sido suficientes para eliminar algum animal portador de seqüela de infecção por HVB1 e/ou VDBV, e, por isto, não permitem chegar a conclusões sobre quais alterações ovarianas podem ser observadas durante a evolução clínica da doença.

As taxas de fertilização, avaliadas com base na morfologia das estruturas colhidas em vacas soropositivas para HVB1 (87,2%), VDBV (78,1%), HVB1 e VDBV (86,0%), e soronegativas (76,5%) não apresentaram diferenças estatisticamente significativas ( $p > 0,05$ ) (TAB. V e GRAF. 10). As taxas de viabilidade da embrionária (TAB. VI e GRAF. 11) também não diferiram ( $p > 0,05$ ) entre os grupos soropositivos para HVB1 (78,0%), VDBV

(73,7%), HVB1 e VDBV (73,5%), e soronegativo (71,4%).

A fertilização não depende apenas do organismo feminino mas também do touro doador do sêmen (CALLAGHAN & KING, 1980). Os sêmens empregados na IA das doadoras tinham qualidade comprovada, o que minimiza a possível influência do macho e qualidade do sêmen sobre as taxas de fertilização.

A fertilização ocorre na tuba uterina, ao nível da junção ístmo-ampola, durante o primeiro dia após o estro, e resulta de uma complexa interação entre os espermatozóides e o oócito (HUNTER & WILMUT, 1984; HUNTER, 1985; BENEVIDES FILHO & PINHEIRO, 1988). Para que fosse possível a interferência de vírus sobre a fertilização seria necessária uma ação direta do agente sobre os gametas e/ou indireta sobre o ambiente onde se dá a fertilização (GRAHN et alii, 1984). Após a fecundação, o embrião passa a se desenvolver na cavidade uterina e, da mesma forma, ação direta sobre o embrião ou alterações no meio ambiente uterino seriam os possíveis responsáveis por alterações no desenvolvimento embrionário (AYALON, 1978; ARCHBALD et alii, 1979; ELAZHARY et alii, 1980; BOWEN, 1985). Nesse ambiente o embrião fisiologicamente normal é capaz de secretar diversos fatores que contribuem para o estabelecimento da gestação (JANZEN et alii, 1982; LEWIS et alii, 1982; MARTAL & CHARLIER, 1985; HELMER et alii, 1987; MARTAL et alii, 1987; PUTNEY et alii, 1987). Disfunções na produção desses fatores podem ser responsáveis por mortalidade embrionária (MARTAL & CHARLIER, 1985).

No caso das doadoras de embriões, a ação adversa, direta ou indireta, do vírus teria que ser eficiente na presença da ZP, uma vez que os embriões são colhidos antes da eclosão, e, mais provavelmente, resultaria de alterações no ambiente uterino ou nos tecidos responsáveis pelo reconhecimento dos sinais veiculados através dos fatores produzidos pelos embriões, uma vez que a ZP tem se mostrado impermeável aos vírus HVB1 e DBV (SINGH et alii, 1982 ab; POTTER, et alii, 1984; BIELANSKI et alii, 1987a).

A frequência com que se pode isolar HVB1 na cavida

TABELA V - Distribuição de estruturas fertilizadas e não fertilizadas, recuperadas em lavados uterinos de vacas doadoras de embriões, de acordo com o resultado do teste de soroneutralização para os vírus HVB1 e DBV, Minas Gerais, 1988.

RESULTADOS (SN*)	ESTRUTURAS COLHIDAS		ESTRUTURAS FERTILIZADAS		ESTRUTURAS NÃO FERTILIZADAS	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%
HVB1 10**	47		41	87,2	6	12,8
HDBV 10	73		57	78,1	16	21,9
HVB /VDBV 10	57		49	86,0	8	14,0
NEGATIVO 10	64		49	76,5	15	23,5
TOTAL 40	241		196	81,3	45	18,7

\* Soroneutralização em microplaca.

\*\* Número de doadoras.

$\chi^2$  Tab. = 7,82

$\chi^2$  Calc. = 3,3

TABELA VI - Distribuição de estruturas fertilizadas viáveis e inviáveis, recuperadas em lavados uterinos de vacas doadoras de embriões, de acordo com o resultado do teste de soroneutralização contra os vírus HVB1 e DBV, Minas Gerais, 1988.

RESULTADO (SN*)	ESTRUTURA FERTILIZADA		ESTRUTURA FERTILIZADA VIÁVEL		ESTRUTURA FERTILIZADA INVIÁVEL	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%
HVB 1	41		32	78,0	9	22,0
VDBV	57		42	73,7	15	26,3
HVB 1/VDBV	49		36	73,5	13	26,5
NEGATIVO	49		35	71,4	14	28,6
TOTAL	196		145	74,0	51	26,0

\* Soroneutralização em microplaca.

\*\* Número de doadoras.

$\chi^2$  Tab. = 7,82

$\chi^2$  Calc. = 0,51



de uterina de vacas soropositivas não foi ainda determinada. ELAZHARY et alii (1980) isolaram HVB1 em conteúdo útero-cervical de vacas "repet breeders" e sugeriram ser a infecção do embrião responsável por essa síndrome; entretanto, não avaliaram a influência do agente sobre o desenvolvimento do embrião antes da eclosão. MILLER & VAN DER MAATEN (1987) isolaram HVB1 em ovário e infundíbulo, mas não do endométrio, de novilhas com infecção latente reativada. SINGH et alii (1983) isolaram HVB1 em LU de vacas experimentalmente inoculadas por via IVa, IU e respiratória, porém não conseguiram isolamento em LU de novilhas com infecção reativada. Esses autores observaram retardo no desenvolvimento de embriões cujas mães apresentaram febre próximo à ovulação e nos primeiros dias do desenvolvimento embrionário. PUTNEY et alii (1988) demonstraram que o estresse calórico em novilhas superovuladas não afeta a taxa de fertilização mas aumenta significativamente a incidência de degeneração e retardo no desenvolvimento embrionário, e, assim, sugeriram ser possível ocorrer fenômeno similar em animais febris. Já foi patenteado que embriões são mais sensíveis ao calor no início do desenvolvimento e tornam-se mais resistentes à medida que aumenta o número de células (ULBERG & SHEEAN, 1973).

Estudos "in vitro" têm revelado que o HVB1 não tem ação adversa ao desenvolvimento de embriões bovinos antes da eclosão (SINGH et alii, 1982b). Não há registro de estudos que tenham investigado a ação do HVB1 sobre a fertilização.

Essas observações sugerem que o HVB1 tem alguma ação indireta, durante a fase febril da infecção, sobre a qualidade do embrião, mas não durante a infecção latente. As doadoras soropositivas são potencialmente portadoras de infecção latente que pode ser reativada devido ao estresse (PASTORET et alii, 1982). Em condições experimentais não se tem demonstrado infecção ou lesão uterina após a reativação da infecção latente (SINGH et alii, 1983; MILLER & VAN DER MAATEN, 1987). Nestas condições torna-se pouco provável que os gametas ou embriões sejam expostos ao HVB1 no trato genital de vacas naturalmente infectadas, que já

soroconverteram, e que ocorra diminuição nas taxas de fertilização e viabilidade embrionária. Mesmo ocorrendo infecção dos em briões não eclodidos, possivelmente não seriam afetados, nesta fase, pela ação direta do vírus devido a proteção da ZP (SINGH et alii, 1982b).

Animais soropositivos para VDBV podem ser infectados por inoculação através da via IU e portar o vírus na cavidade uterina e tubária (ARCHBALD, et alii, 1973; ARCHBALD & ZEMJANIS, 1977).

A presença de VDBV na cavidade uterina tem sido considerada como causa de mortalidade embrionária (ARCHBALD et alii, 1973; ARCHBALD, 1974; ARCHBALD & ZEMJANIS, 1977). As metodologias empregadas nesses trabalhos não permitiram avaliar em que fase o vírus pôde exercer ação adversa ao desenvolvimento do conceito. Outros relatam não haver interferência quando animais soropositivos são inoculados por via IU ou soronegativos inoculados pelas vias naturais da infecção (WHITMORE et alii, 1981). Vacas IA depois da soroconversão, conseqüente ao contato com um animal persistentemente infectado e imunotolerante, apresentaram taxa de concepção normal (VIRAKUL et alii, 1988).

Em condições experimentais, ARCHBALD et alii (1979) evidenciaram que a infecção IU com VDBV pode causar retardo no desenvolvimento embrionário, em decorrência, possivelmente, da ação direta do agente sobre o embrião e/ou alteração no ambiente uterino. Estudos "in vitro" não têm demonstrado que o VDBV interfere no desenvolvimento de embriões não eclodidos (SINGH et alii, 1982a; POTTER et alii, 1984).

Não se tem conhecimento da frequência com que ocorre a infecção uterina em animais soropositivos para VDBV, ainda que existam relatos de casos de isolamento a partir de secreção útero-cervical (ARCHBALD, 1974), células do endométrio (LUTHER, et alii, 1978) e útero-tubárias (RUCKERBAUER et alii, 1988).

ARCHBALD (1974) relatou um experimento em que não foi comprovada interferência do VDBV na fertilização, enquanto

GRAHN et alii (1984) observaram menor taxa de fertilização em animais superovulados e inoculados por via IU.

Em condições naturais, os animais se infectam principalmente pelas vias digestiva e respiratória (BAKER, 1987). Nesses casos, após soroconversão, parece ser pouco provável a ocorrência de migração do VDBV para a cavidade uterina ou tuba e interferência com a fertilização e desenvolvimento embrionário. Estas circunstâncias, associadas à incapacidade de o VDBV danificar embriões não eclodidos, podem ser aceitos como explicação para a semelhança entre as taxas de fertilização e as de viabilidade dos embriões colhidos em animais soropositivos e negativos para VDBV (TAB. V e VI; GRAF. 10 e 11).

A ausência de diferença significativa entre as taxas de fertilização e as de viabilidade embrionária dos grupos soropositivo para HVB1 e/ou VDBV, e controle, não exclue a possibilidade desse agente interferir com a fertilização e desenvolvimento embrionário durante outras fases da infecção.

As taxas de prenhez das receptoras de embriões colhidos em doadoras soropositivas para HVB1 (51,1%), VDBV (51,7%); HVB1 e VDBV (36,3%) e soronegativas (36,8%) são apresentadas na TAB. VII e GRAF. 12. Na formação dos grupos não foram considerados os resultados das sorologias das receptoras; assim, a taxa de prenhez desses animais foi utilizada como indicativo da possível influência da doadora sobre o desenvolvimento embrionário depois da transferência. Uma vez que não era possível avaliar a qualidade desses embriões com base em critérios fisiológicos, admitiu-se que os embriões efetivamente implantados seriam aqueles capazes de secretar os fatores necessários à sua implantação, demonstrados a partir da primeira quinzena de vida embrionária (JANZEN et alii, 1982; LEWIS et alii, 1982; HELMER et alii, 1987; MARTAL et alii, 1987; PUTNEY et alii, 1987). Essa característica foi considerada como indicativa da "viabilidade fisiológica" dos embriões. Observou-se que não houve diferença estatisticamente significativa ( $p > 0,05$ ) entre as taxas de prenhez das receptoras (TAB. VII e GRAF. 12). Essa



evidência indica não haver influência do estado imunológico da doadora e o desenvolvimento embrionário depois da transferência e confirma as informações obtidas com a análise da TAB. VI e GRAF. 11, onde não foi observada diferença na taxa de viabilidade da embrionária, entre os grupos de doadoras, com base na avaliação morfológica dos embriões. Assim sendo, vem corroborar a assertiva que a avaliação morfológica de embriões é instrumento útil na predição da sobrevivência embrionária depois da transferência ou em cultivo "in vitro", quando baseada em um grande número de embriões (SHEA, 1981; STRINGFELLOW et alii, 1987).

Quando foram considerados apenas os resultados das provas sorológicas das receptoras como critério para formação dos grupos, observou-se que não houve diferença ( $p > 0,05$ ) entre as taxas de prenhez, que corresponderam a 37,8% (HVB1), 60,8% (VDBV), 45,9% (HVB1 e VDBV) e 44,1% (soronegativos) (TAB. VIII e GRAF. 13).

O HVB1 tem sido considerado agente causador de mortalidade embrionária, quando inoculado por via IU ou cervical (KENDRICK & McENTEE, 1967; BOECKX et alii, 1968; WHITE & SNOWDON, 1973; LORETTU et alii, 1974; PARSONSON & SNOWDON, 1975) e intravenosa (MILLER & VAN DER MAATEN, 1985, 1986, 1987), provavelmente devido à ação direta sobre o concepto, lesões do endométrio ou do CL (McKERCHER, 1969; MILLER & VAN DER MAATEN, 1985, 1986, 1987). Após a transferência, os embriões continuam seu desenvolvimento no genital da receptora, onde secretam fatores importantes para sua sobrevivência e instalação da gestação (JANZEN et alii, 1982; LEWIS et alii, 1982; HELMER et alii, 1987; MARTAL et alii, 1987; PUTNEY et alii, 1987) e necessitam de nutrientes para os seus metabolismos (BETTERIDGE & FLÉCHON, 1988). A aderência entre o embrião e os tecidos maternos inicia-se no 20º dia de idade do embrião, em conceptos não transferidos (WATHER & WOODING, 1980), quando devem ficar mais sensíveis a determinadas alterações celulares locais ou a infecções associadas a células. Estudos "in vitro" têm demonstrado que HVB1 é embrionicida quando infecta embriões eclodidos (BOWEN et alii,

TABELA VII - Taxa de prenhez de receptoras de embriões colhidos em doadoras soropositivas para HVB1 e/ou VDBV, e soronegativas, Minas Gerais, 1988.

RESULTADOS (SN*)	RECEPTORAS DE ESTRUTURAS FERTILIZADAS VIÁVEIS			
	Nº	PRENHES	%	
HVB1	13**	43	22	51,1
VDBV	15	58	30	51,7
HVB1/VDBV	14	55	20	36,3
NEGATIVO	15	38	14	36,8
TOTAL	57	194	86	44,3

\* Soroneutralização em microplaca.

\*\* Número de doadoras.

X<sup>2</sup> Tab. = 7,82

X<sup>2</sup> Calc. = 4,33

TABELA VIII - Taxa de prenhez de receptoras soropositivas para HVB1 e/ou VDBV, e soronegativas, Minas Gerais, 1988.

RESULTADOS (SN*)	RECEPTORAS DE ESTRUTURAS FERTILIZADAS VIÁVEIS		
	Nº	PRENHES	%
HVB1	66	25	37,8
VDBV	23	14	60,8
HVB1/VDBV	37	17	45,9
NEGATIVO	68	30	44,1
TOTAL	194	86	44,3

\* Soroneutralização em microplaca.

X<sup>2</sup> Tab. = 7,82

X<sup>2</sup> Calc. = 3,69

1985; BIELANSKI et alii, 1987 b). Por outro lado, a inoculação de HVB1 pelas vias naturais da infecção não tem sido correlacionada com perdas embrionárias nem com lesões do endométrio ou ovário (CONRADI et alii, 1960; PARSONSON, 1964; HELLIG, 1965; PARSONSON & SNOWDON, 1975; ALLAN et alii, 1975; VAN DER MAATEN & MILLER, 1984/85), ainda que seja reativada infecção latente após tratamento com dexametozona (MILLER & VAN DER MAATEN, 1987).

Os animais do grupo soropositivo para HVB1 apresentavam anticorpos neutralizantes contra HVB1, e eram potencialmente portadores de infecção latente (PASTORET et alii, 1982). Mesmo sendo possível a reativação desse tipo de infecção, seria pouco provável que o conceito e tecidos genitais fossem atingidos, como demonstraram experimentalmente MILLER & VAN DER MAATEN (1987).

Essas observações indicam que HVB1 pode causar perdas embrionárias se for inoculado por via IU ou se atingir o genital, através da corrente sangüínea, em título consideravelmente alto. A hipotética ação indireta do HVB1 devida à hipertermia, em casos de doença em curso, teoricamente seria possível em decorrência de alterações no metabolismo do embrião. Como foi demonstrado "in vitro", embriões bovinos aos 17 dias de gestação, quando submetidos a estresse calórico, produzem menor quantidade de trofoblastina (PUTNEY et alii, 1987), proteína importante no estabelecimento e manutenção da gestação (MARTAL et alii, 1987).

A infecção pelo VDBV tem sido reputada como causa de diminuição na taxa de concepção, quando adquirida por via IU em vacas soronegativas (ARCHBALD & ZEMJANIS, 1977; McCLURKIN et alii, 1979), mas não quando vacas soropositivas são inoculadas por essa via ou soronegativas através das vias naturais de infecção (WHITMORE et alii, 1981). Todavia, em condições naturais, há diminuição na taxa de concepção em animais, infectados por contato direto com portador, que ainda não soroconverteram ou estão em soroconversão (VIRAKUL et alii, 1988).

O VDBV tem sido isolado em secreções e células do

sistema genital anterior de vacas (ARCHBALD, 1974; LUTHER et alii, 1978; RUCKERBAUER et alii, 1988) sem que tenha sido estabelecida a frequência com que pode ocorrer a presença desse agente nas cavidades uterina e tubária. Alterações no desenvolvimento de embriões infectados experimentalmente "in útero" foram reportadas por ARCHBALD et alii (1979). Estudos desenvolvidos "in vitro" não confirmaram essa observação, quando embriões com ZP removidas ou danificadas foram expostos ao VDBV (BIELANSKI et alii, 1987a; BIELANSKI & HARE, 1988).

Essas informações são sugestivas de que VDBV é capaz de causar perdas embrionárias quando inoculado por via IU, e que, em condições naturais de infecção, após soroconversão, o agente pouco provavelmente terá acesso ao genital e infectará o embrião eclodido, e, mesmo que o faça, não terá ação direta sobre o concepto.

As receptoras receberam embriões colhidos em vacas clinicamente sadias e que sofreram um processo de lavagem e diluição, durante a colheita e manipulação, o que elimina secreção uterina da doadora e reduz o risco da transmissão de infecção por HVB1 e/ou VDBV, eventualmente presente(s) no momento da colheita (SINGH, 1987).

Os resultados da TAB. VIII sugerem que a relação materno-fetal em receptoras soropositivas para HVB1 e/ou VDBV não é afetada, quando os animais não apresentam sinais clínicos da infecção.

A taxa de prenhez foi avaliada com base no toque retal das receptoras até sessenta dias após a transferência dos embriões e os soros, para as provas sorológicas, colhidos no momento da transferência. Neste período, o risco de ter havido transmissão de HVB1 e/ou VDBV a receptoras do grupo soronegativo é pequeno, uma vez que a infecção já estava estabelecida no rebanho e que os animais vinham sendo manejados juntos há algum tempo.

Nas Tab. IX, X, XI e XII estão apresentados os índices de fertilidade das receptoras, agrupadas de acordo com a

TABELA IX - Taxa de prenhez de receptoras soropositivas para HVB1, de acordo com o resultado da sorologia das doadoras, Minas Gerais, 1988.

RESULTADO (SN*)	RECEPTORAS DE ESTRUTURAS FERTILIZADAS VIÁVEIS		
	Nº	PRENHE	%
HVB1 08**	11	03***	27,3
BVD 12	20	09	45,0
HVB 1/BVD 11	16	06	37,5
NEGATIVO 12	19	07	36,8
TOTAL 43	66	25	37,9

\* Soroneutralização em microplaca.

\*\* Número de doadoras.

\*\*\* Dado não analisado estatisticamente.

$\chi^2$  Tab. = 5,99

$\chi^2$  Calc. = 0,33

TABELA X - Taxa de prenhez de receptoras soropositivas para VDBV, de acordo com o resultado da sorologia das doadoras, Minas Gerais, 1988.

RESULTADO (SN*)	RECEPTORAS DE ESTRUTURAS FERTILIZADAS***		
	Nº	PRENHE	%
HVB 1 05**	06	04	66,6
VDBV 08	10	06	60,0
HVB1/VDBV 04	04	02	50,0
NEGATIVO 03	03	02	66,6
TOTAL 20	23	14	60,8

\* Soroneutralização em microplaca.

\*\* Número de doadoras.

\*\*\* Dados não analisados estatisticamente.

TABELA XI - Taxa de prenhez de receptoras soropositivas para HVB1 e VDBV, de acordo com o resultado da sorologia das doadoras, Minas Gerais, 1988.

RESULTADO (SN*)	RECEPTORAS DE ESTRUTURAS FERTILIZADAS VIÁVEIS			
	Nº	PRENHE	%	
HVB1	05**	07	04	57,1
VDBV	09	12	07	58,3
HVB1/VDBV	09	14	05	35,7
NEGATIVO	04	04	01***	25,0
TOTAL	27	37	17	45,9

\* Soroneutralização em microplaca.

\*\* Número de doadoras.

\*\*\* Dado não analisado estatisticamente.

$X^2$  Tab. = 3,84

$X^2$  Calc. = 1,57

TABELA XII - Taxa de prenhez de receptoras soronegativas para HVB1 e VDBV, de acordo com o resultado da sorologia das doadoras, Minas Gerais, 1988.

RESULTADO (SN*)	RECEPTORAS DE ESTRUTURAS FERTILIZADAS VIÁVEIS			
	Nº	PRENHE	%	
HVB1	12**	19	11	57,9
VDBV	10	16	08	50,0
HVB1/VDBV	09	21	07	33,3
NEGATIVO	08	12	04	33,3
TOTAL	39	68	30	44,1

\* Soroneutralização em microplaca.

\*\* Número de doadoras.

$X^2$  Tab. = 5,99

$X^2$  Calc. = 2,90

sorologia das respectivas doadoras. Embora não tenha sido possível analisar estatisticamente todos os dados, parece haver uma tendência a independência nas relações entre a sorologia das doadoras e receptoras e a taxa de prenhez dos diferentes grupos de receptoras. Essa observação é consistente com a não-existência de diferenças significativas quanto as taxas de viabilidade embrionária (TAB. VI e GRAF. 11), prenhez ao considerar apenas a sorologia das doadoras (TAB. VII e GRAF. 12) ou só a das receptoras (TAB. VIII e GRAF. 13), e tem explicações semelhantes às descritas nos parágrafos anteriores.

Estudo prospectivo foi realizado para determinar o risco de perdas de embriões nos grupos soropositivos para HVB1, VDBV, HVB1 e VDBV. Os resultados são mostrados nas TAB. XIII, XIV e XV e GRAF. 14, onde se verificou não ter havido diferença de risco de perdas entre os grupos, uma vez que as taxas de prenhez foram semelhantes ( $p > 0,05$ ) nos animais positivos para HVB1 (38,0%) e soronegativos (42,0%), soropositivos para VDBV (65,0%) e soronegativos (45,0%) e positivos para HVB1 e VDBV (45,0%) e negativos (42,5%) embora os riscos relativos tenham sido ligeiramente diferentes (1,07, 0,67 e 0,96 para os grupos positivos para HVB1, VDBV e HVB1/VDBV, respectivamente).

TABELA XII - Incidência de perda de conceitos em receptoras soropositivas e soronegativas para HVB1 (Período de observação de até 60 dias), Minas Gerais, 1988.

RESULTADO (SN*)	RECEPTORAS				TOTAL
	NÃO PRENHE	%	PRENHE	%	
HVB1	31	62,0	19	38,0	50
NEGATIVO	29	58,0	21	42,0	50
TOTAL	60	60,0	40	40,0	100

\* Soroneutralização em microplaca.

X<sup>2</sup> Tab. = 3,84

X<sup>2</sup> Calc. = 0,048

R = 1,07

TABELA XIV - Incidência de perda de conceitos em receptoras soropositivas e soronegativas para VDBV (Período de observação de até 60 dias), Minas Gerais, 1988.

RESULTADO (SN*)	RECEPTORAS				TOTAL
	NÃO PRENHE	%	PRENHE	%	
VDBV	07	35,0	13	65,0	20
NEGATIVO	11	55,0	09	45,0	20
TOTAL	18	45,0	22	55,0	40

\* Soroneutralização em microplaca.

X<sup>2</sup> Tab. = 3,84

X<sup>2</sup> Calc. = 0,9

R = 0,64



TABELA XV - Incidência de perdas de conceptos em receptoras soropositivas e soronegativas para HVB1 e VDBV (Período de observação de até 60 dias), Minas Gerais, 1988.

RESULTADO (SN*)	RECEPTORAS				TOTAL
	NÃO PRENHE	%	PRENHE	%	
HVB1 e VDBV	22	55,0	18	45,0	40
NEGATIVO	23	57,5	17	42,5	40
TOTAL	45	56,3	35	43,7	80

\* Soroneutralização em microplaca.

$X^2$  Tab. = 3,84

$X^2$  Calc. = 0,04

R = 0,96.

## 5. CONCLUSÕES

As prevalências das infecções pelos vírus HVB1, DBV, LEB e LA em rebanhos de doadoras e receptoras de embriões, mantidas no Estado de Minas Gerais, foram de 50,9%, 37,3%, 23,0% e 76,3%, respectivamente, o que demonstra ampla disseminação desses agentes nessa população. Esse fato pode ter conseqüências adversas à exportação de embriões bovinos, caso os países importadores apresentem exigências sanitárias rigorosas, baseadas na sorologia das doadoras. Com base nas evidências, não se justifica a requisição de testes sorológicos das doadoras para essas doenças, mas apenas que sejam rigorosamente observadas as recomendações da SITE para colheita, manipulação e transferência de embriões, e que sejam controlados oficialmente os centros de tecnologia de embriões.

Em grupos de doadoras soropositivas para HVB1, VDBV, HVB1 e VDBV, e soronegativas, não foram observadas diferenças estatisticamente significativas ( $p > 0,05$ ) entre: as médias de estruturas recuperadas por colheita (4,7; 7,3; 5,7 e 6,4, respectivamente); taxa de fertilização (87,2%; 78,0%; 85,9% e 76,5%); taxa de viabilidade embrionária (78,0%; 73,7%; 73,5% e 71,4%); e taxa de prenhez das receptoras, ao considerar apenas os resultados da sorologia das doadoras (51,1%; 51,7%; 36,3% e 36,8%).

O desempenho reprodutivo de receptoras de embriões

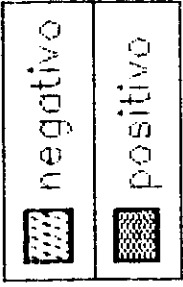
soropositivas para HVB1 e/ou VDBV foi semelhante ao de animais soronegativos, uma vez que não foi observada diferença significativa ( $p > 0,05$ ) entre as taxas de prenhez, aos 60 dias, das receptoras soropositivas para HVB1, VDB, HVB1 e VDBV e soronegativas (37,8%; 60,8%; 45,9% e 44,1%, respectivamente).

Esses achados indicam que doadoras de embriões selecionadas com base no exame clínico-ginecológico que demonstrem, no mínimo, dois ciclos regulares seguidos, apresentam desempenho reprodutivo semelhantes, independente de serem portadoras de anticorpos neutralizantes contra os vírus HVB1 e/ou DBV ou soronegativas; receptoras, soropositivas a algum desses agentes e soronegativas, ao receberem embriões colhidos em doadoras soropositivas ou soronegativas, apresentam taxa de prenhez semelhantes; após a infecção por HVB1 ou VDBV estar estabelecida em doadoras e receptoras de embriões, parece não ocorrer alteração na fertilização e perdas quanti e qualitativas dos conceptos.

Essas observações foram feitas em rebanhos, na ausência de surtos, e em animais clinicamente sadios, o que não exclue a possibilidade de, em outras situações, haver comprometimento do desempenho reprodutivo de doadoras e receptoras de embriões.

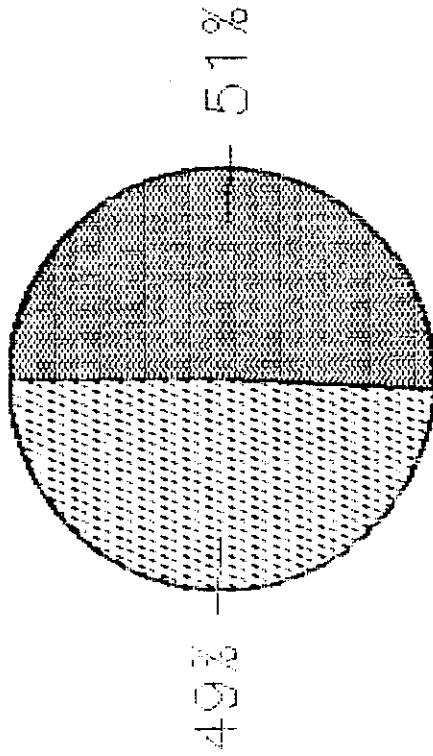
Associando essas informações às evidências de que essas doenças não são transmitidas pelas técnicas de TE, conclui-se que doadoras soropositivas para HVB1 e/ou VDBV, são úteis em programas de TE, desde que não apresentem alterações detectáveis ao exame clínico-ginecológico e que mostrem ciclos regulares. No que diz respeito às receptoras, conclusões semelhantes não podem ser feitas, uma vez que não foi avaliado o risco de perdas, nos animais soropositivos e soronegativos, em fases mais adiantadas da gestação.

## 6. APÊNDICE

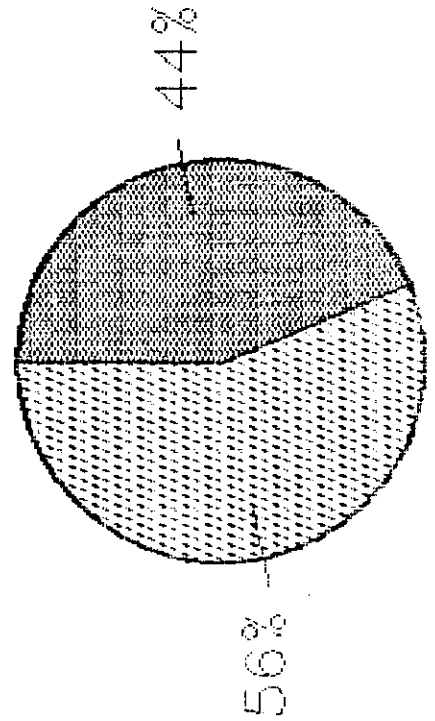


# HVB1 total

GRÁFICO 1  
PREVALÊNCIA DE HVB1 EM  
DOADORAS E RECEPTORAS  
DE EMBRIÕES.



## doadoras



## receptoras

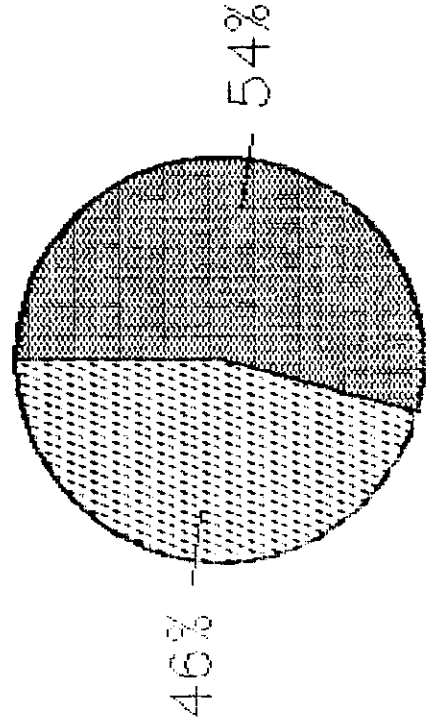
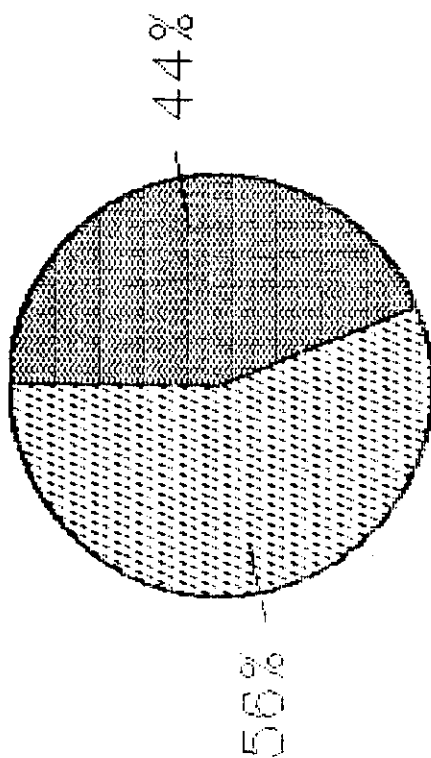
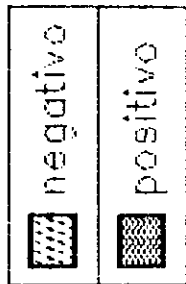


GRÁFICO 2

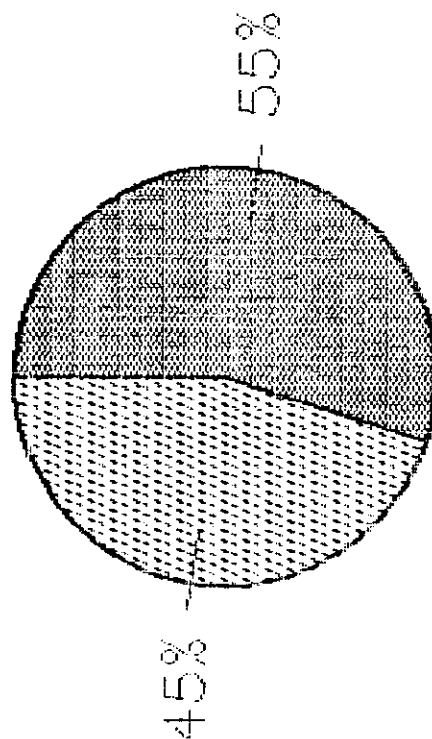
FREQUÊNCIA DE DOADORAS

Bos taurus indicus e Bos taurus taurus soropositivas para HVB1.

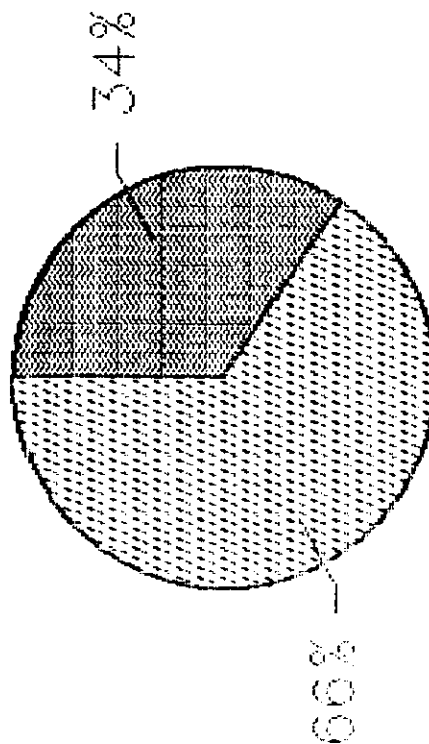
# HVB1 doadoras



Bos taurus indicus

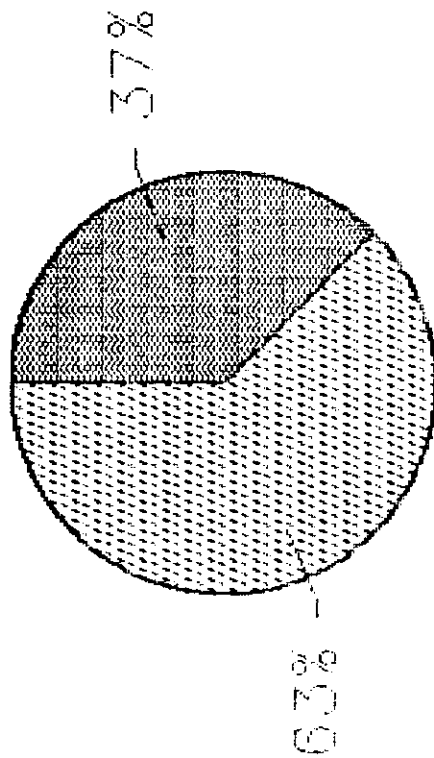
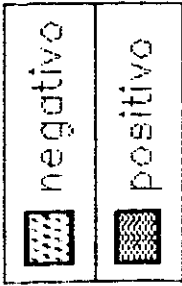


Bos taurus taurus

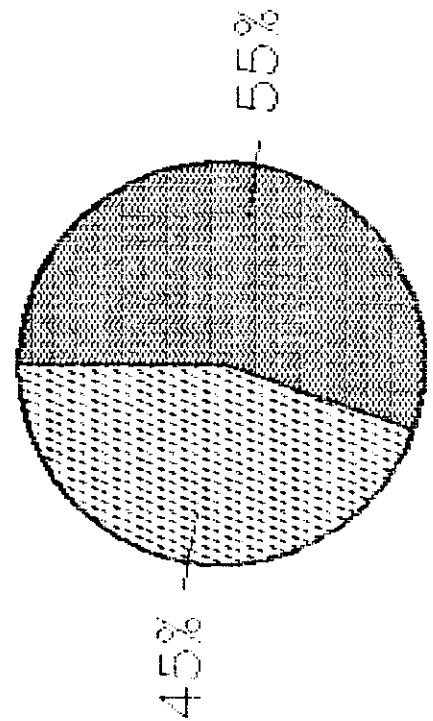


# VDBV total

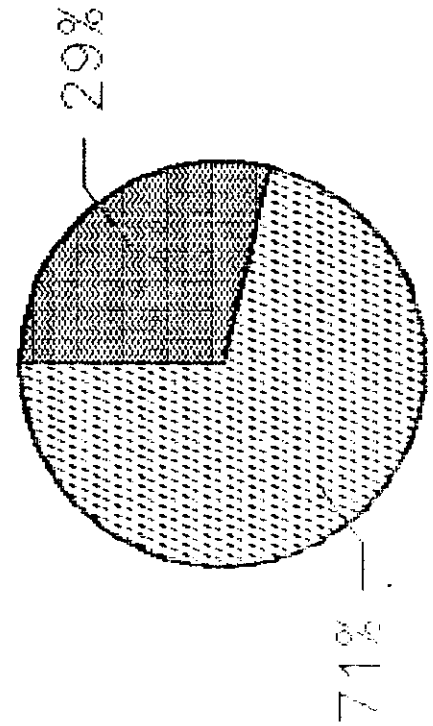
GRÁFICO 3  
PREVALÊNCIA DE VDBV EM DOADORAS  
E RECEPTORAS DE EMBRIÕES.

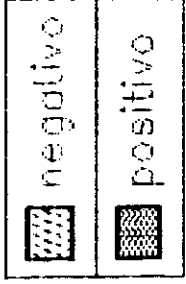


## doadoras



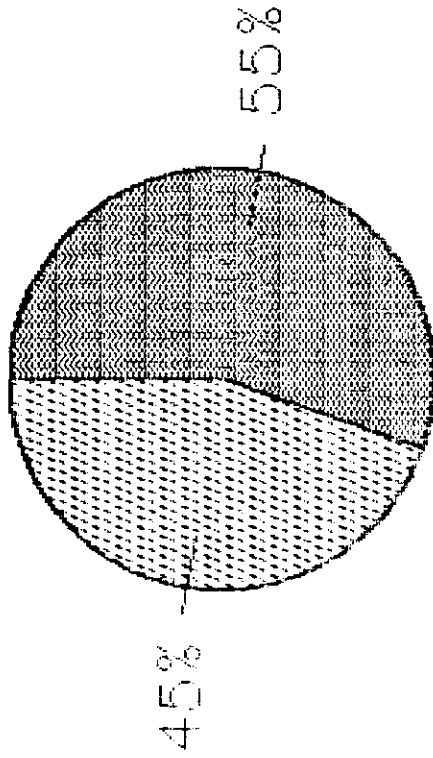
## receptoras



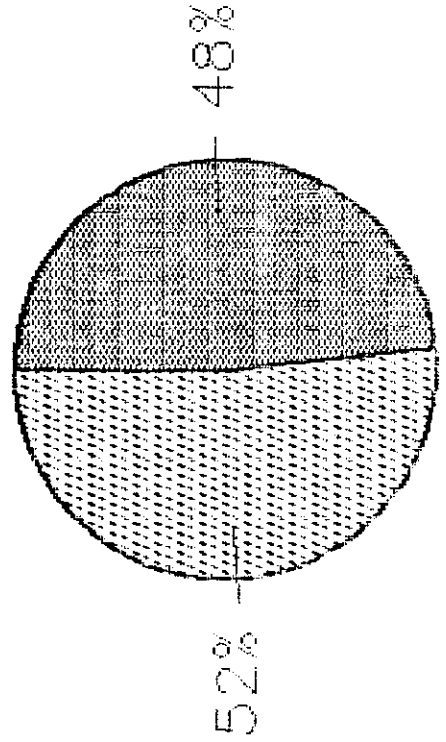


# VDBV doadoras

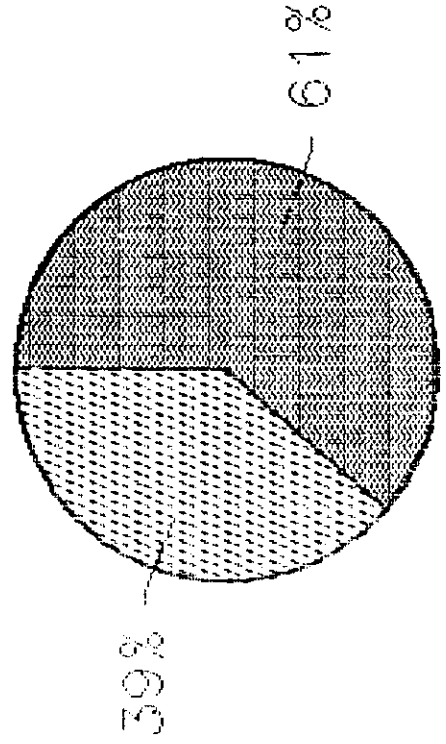
GRÁFICO 4  
FREQUÊNCIA DE DOADORAS Bos taurus  
taurus soropositivas para VDBV.





**Bos taurus indicus**



**Bos taurus taurus**

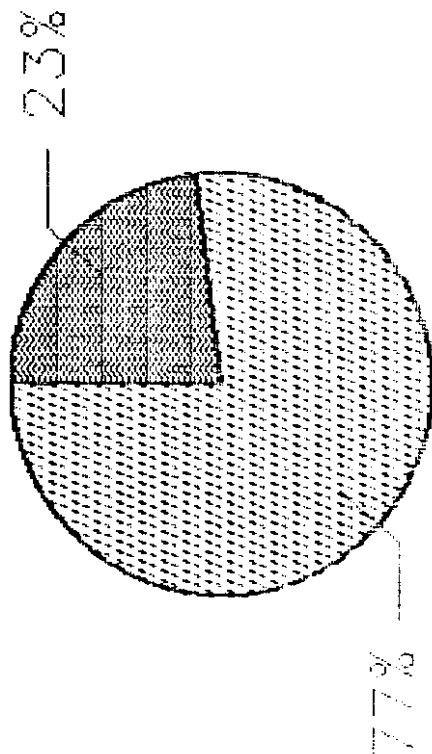




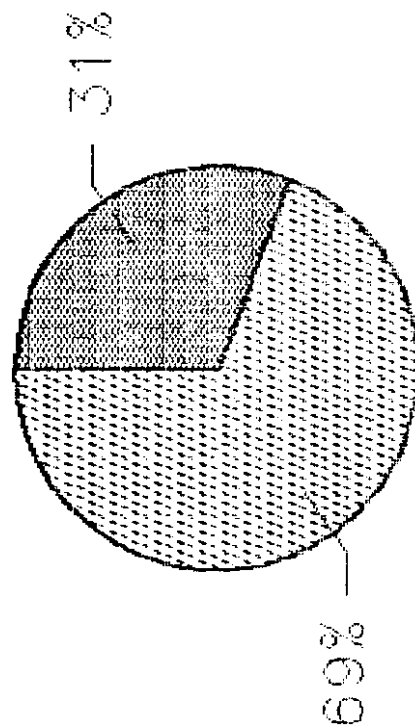
	negativo
	positivo

# VLEB total

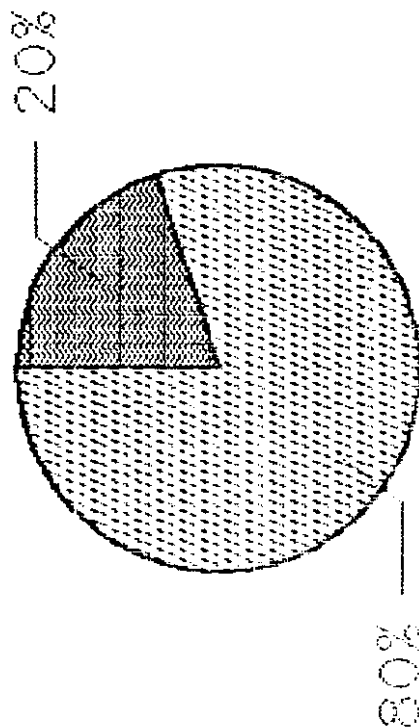
GRÁFICO 5  
PREVALÊNCIA DE VLEB EM DOADORAS  
E RECEPTORAS DE EMBRIÕES.



## doadoras



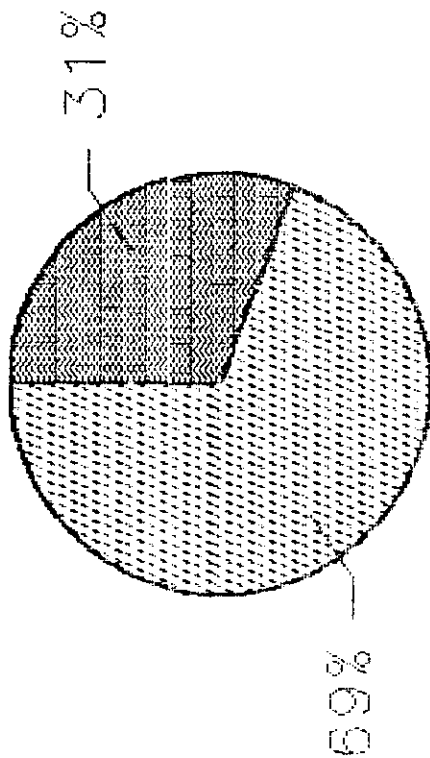
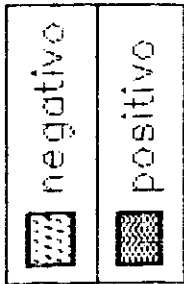
## receptoras



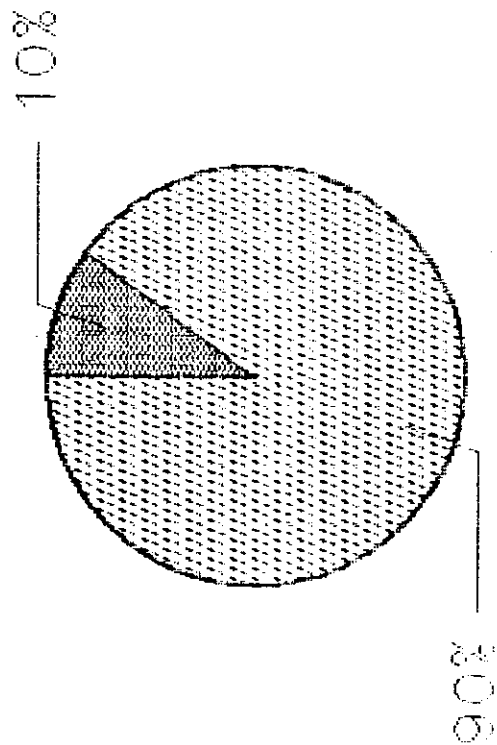
# VLEB doadoras

GRÁFICO 6

FREQUÊNCIA DE DOADORAS Bos taurus  
taurus soropositivas para VLEB.



**Bos taurus indicus**



**Bos taurus taurus**

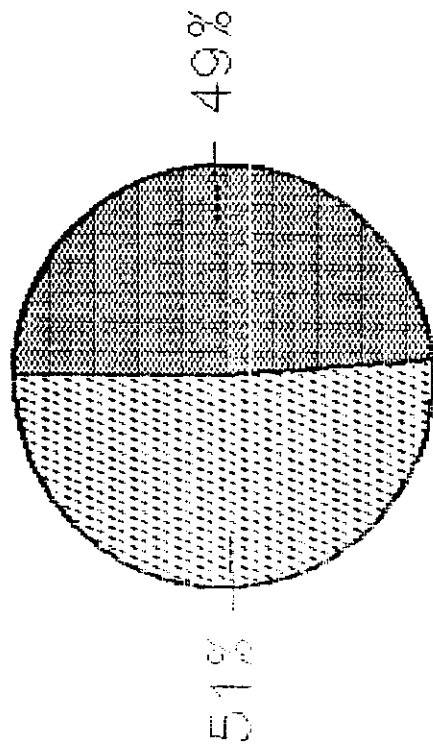
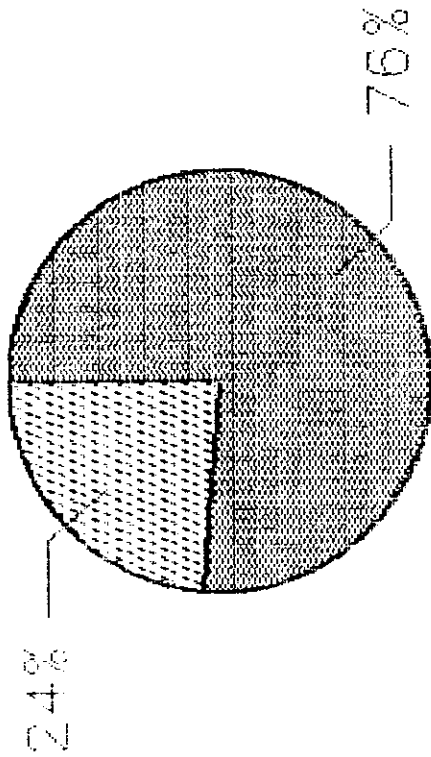
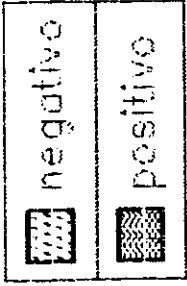


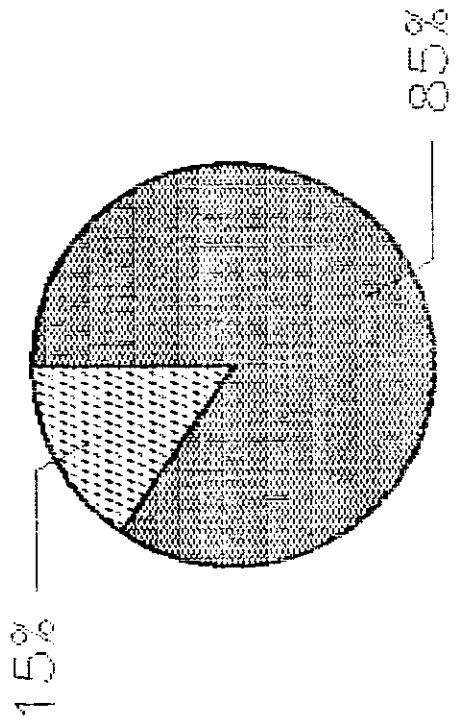
GRÁFICO 7

PREVALÊNCIA DE VLA EM DOADORAS  
E RECEPTORAS DE EMBRIÕES.

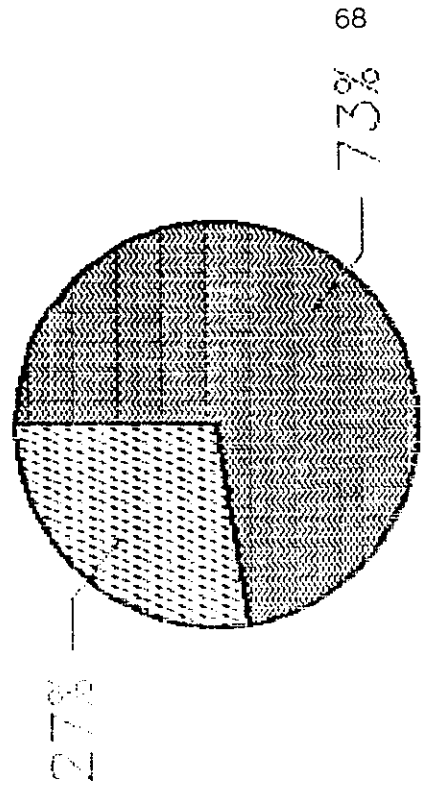
# VLA total



# doadoras

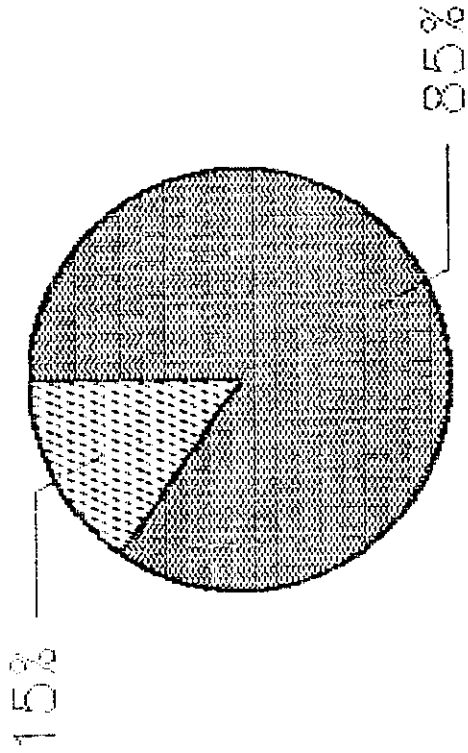
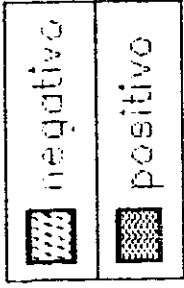


# receptoras

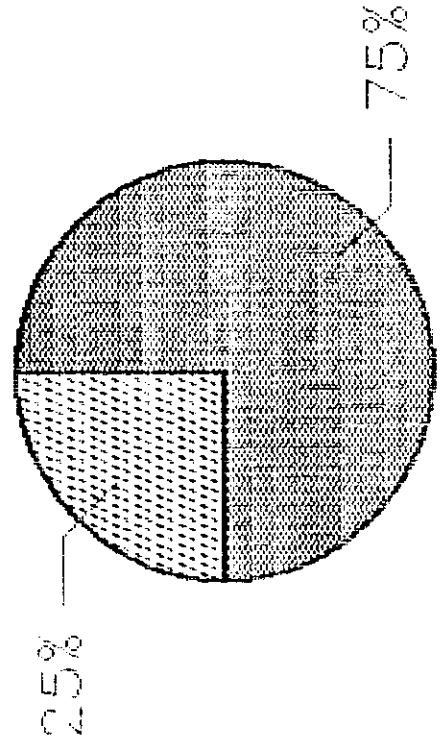


# VLA doadoras

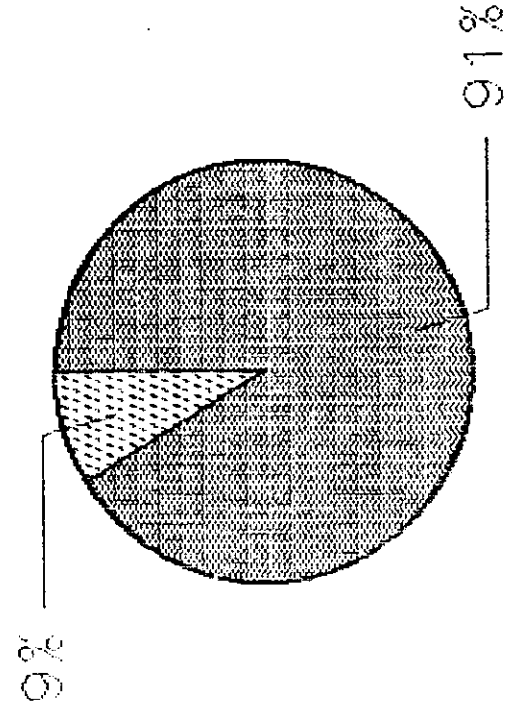
GRÁFICO 8  
FREQUÊNCIA DE DOADORAS Bos taurus  
indicus e Bos taurus taurus  
soropositivas para VLA.



**Bos taurus indicus**

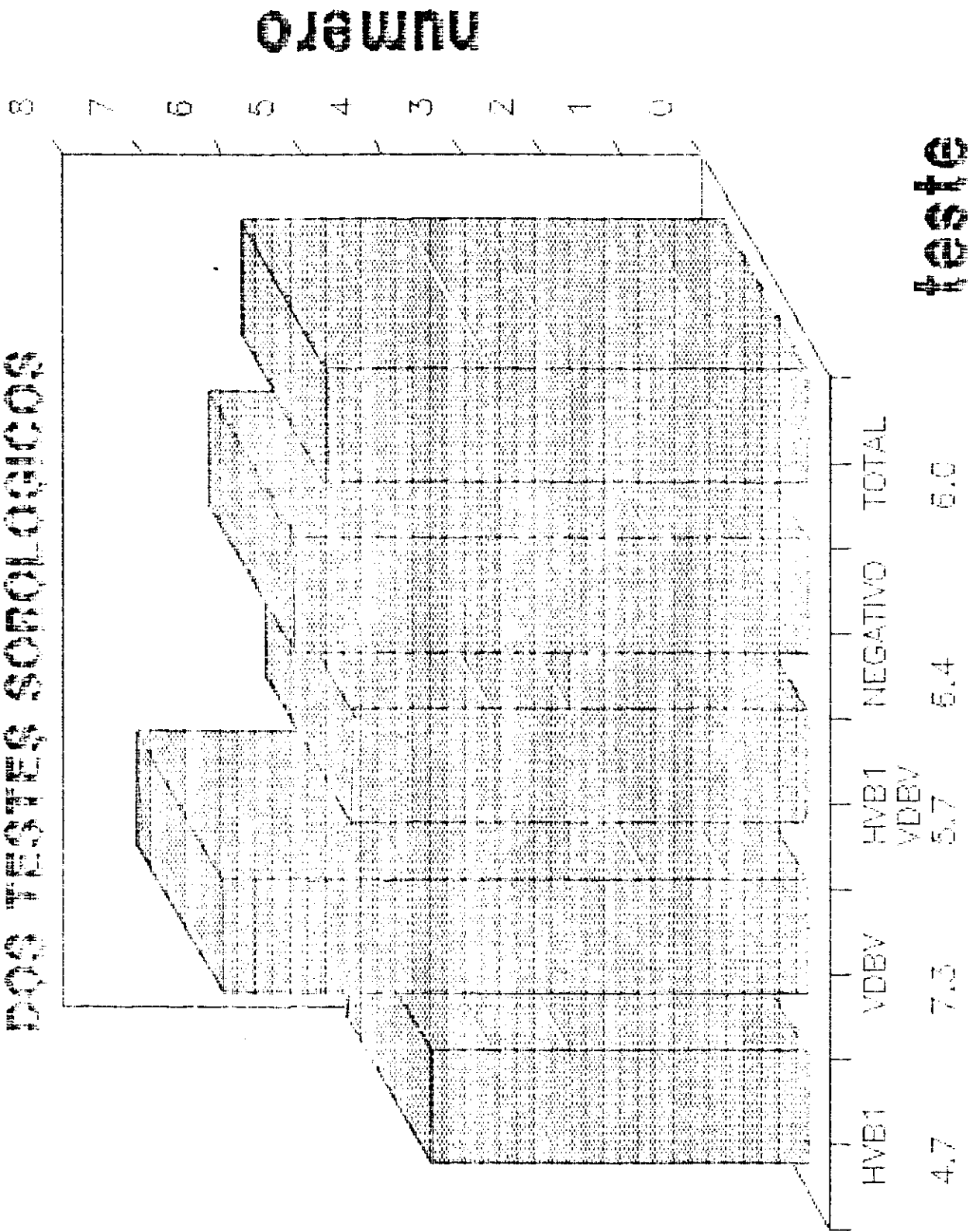


**Bos taurus taurus**



# ESTRUTURAS RECUPERADAS POR COLHEITA DE ACORDO COM OS RESULTADOS DOS TESTES SOROLÓGICOS

GRÁFICO 9





# TAXA DE FERTILIZAÇÃO DE ACORDO COM OS RESULTADOS DOS TESTES SOROLÓGICOS

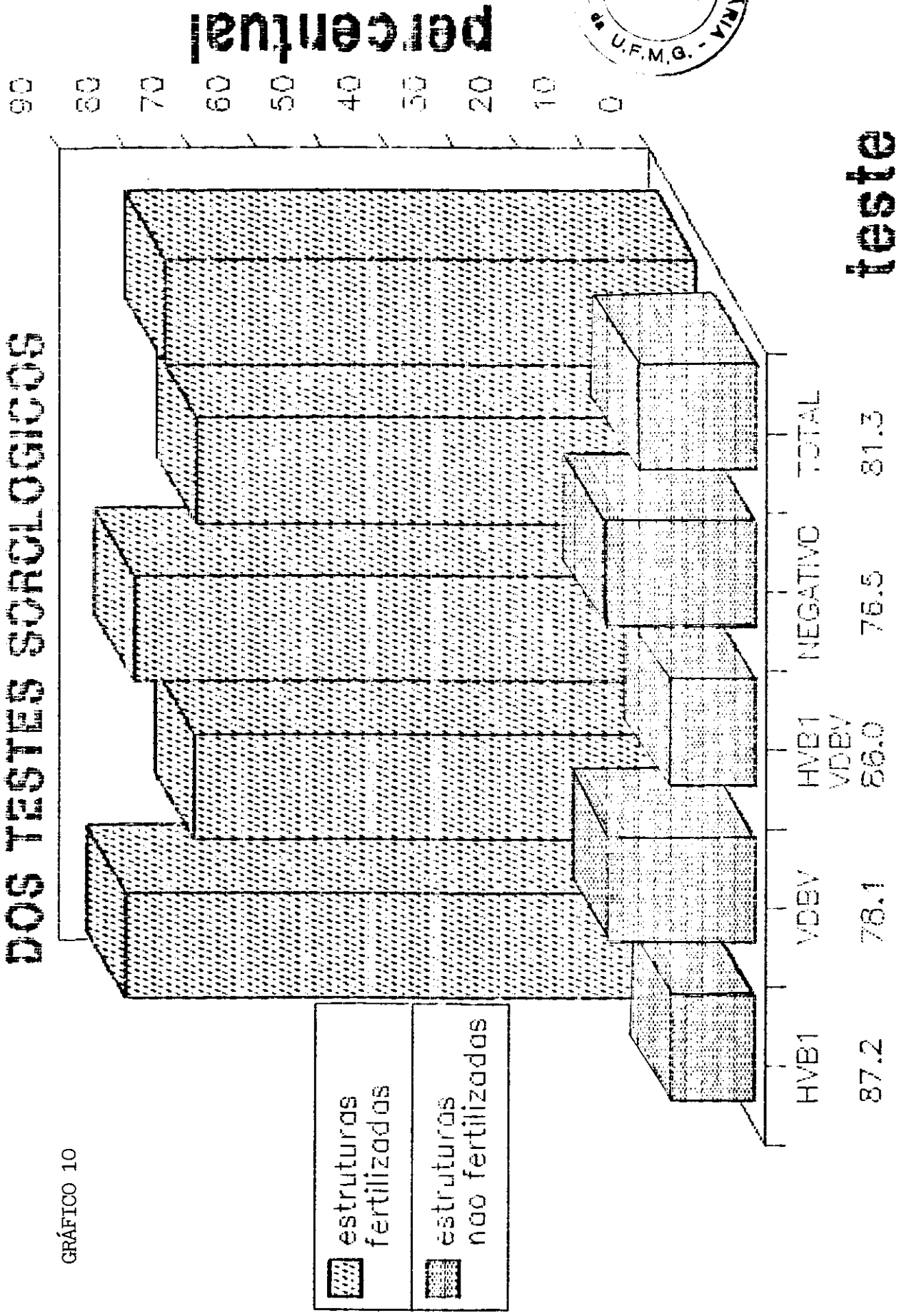
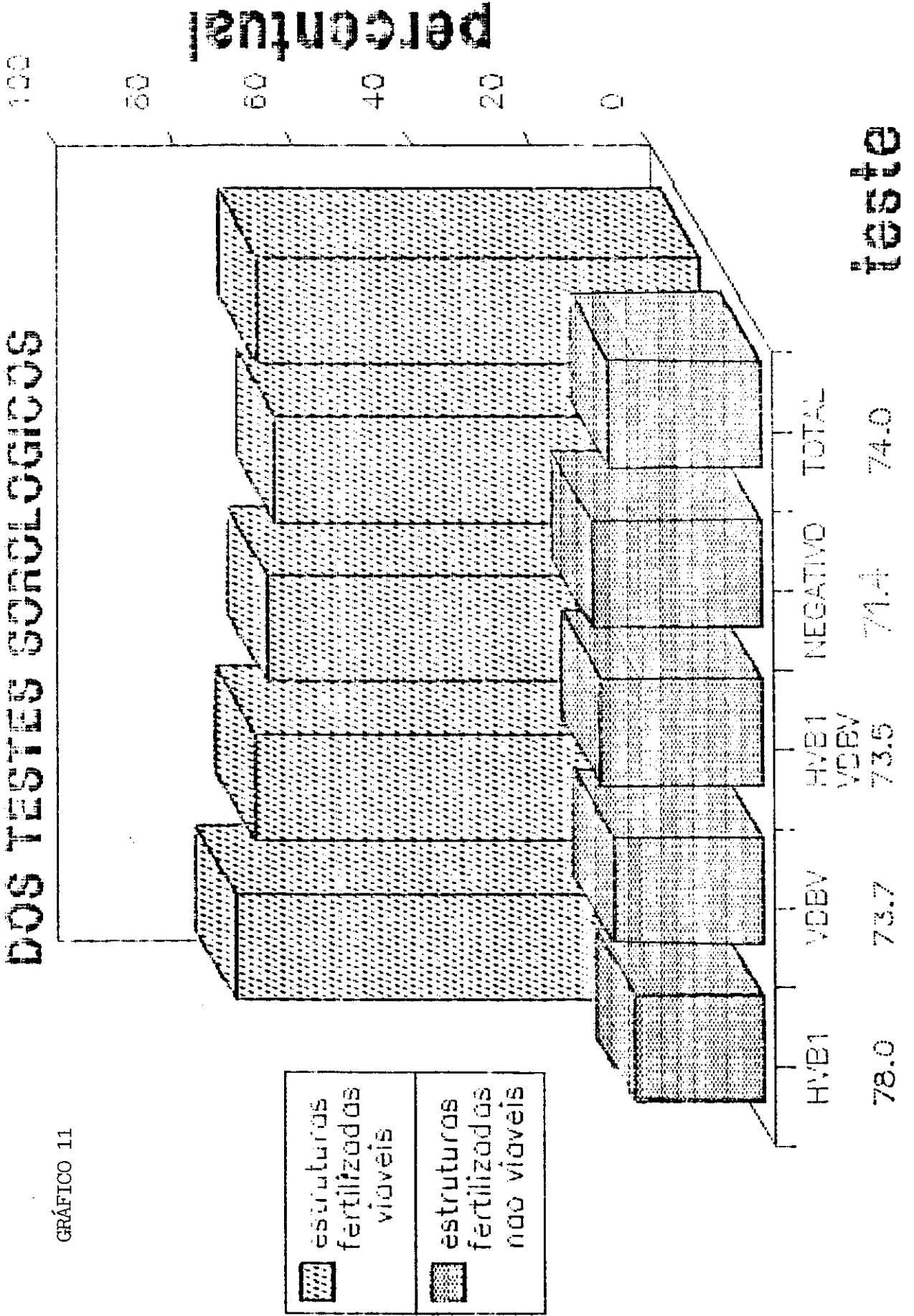


GRÁFICO 10

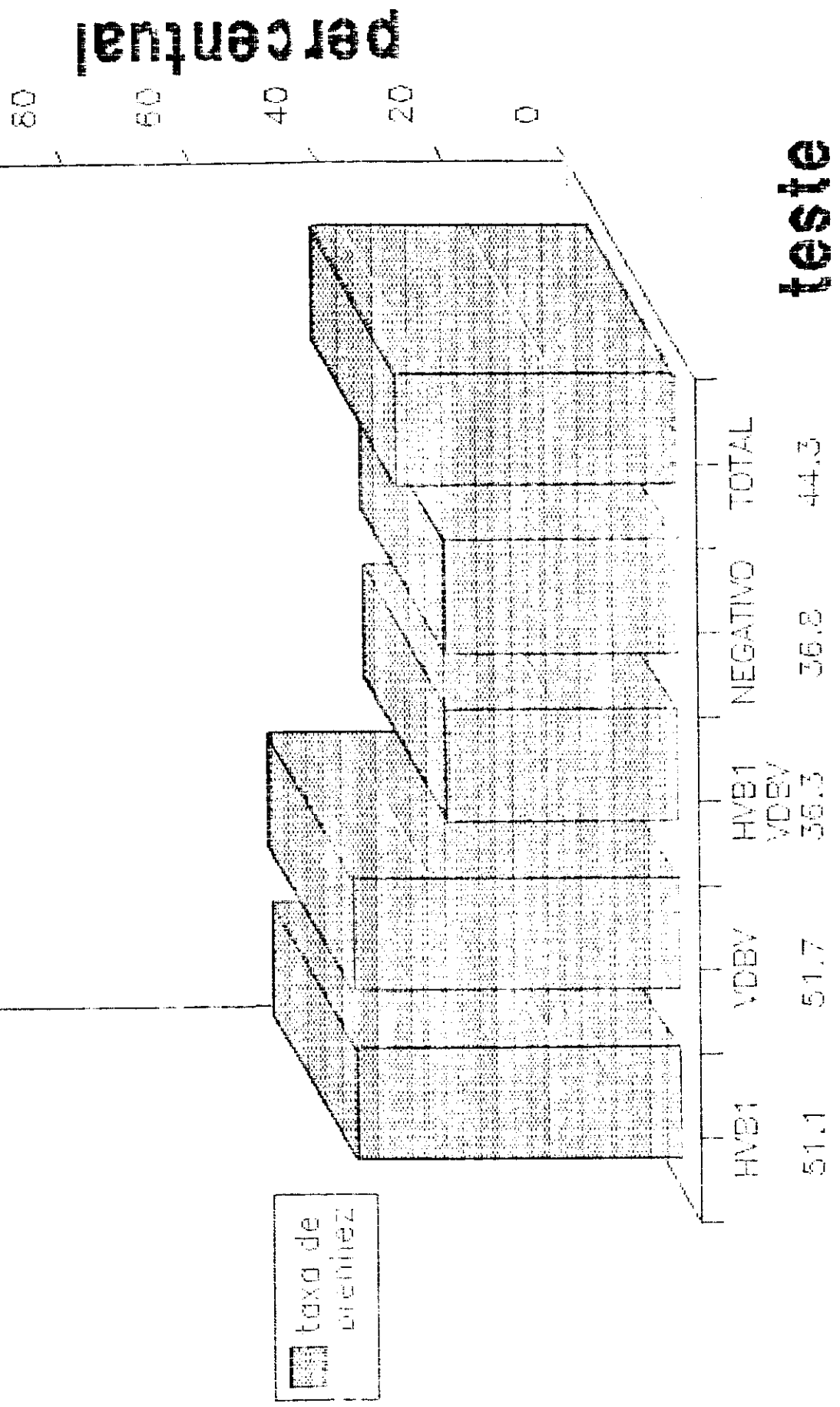
# TAXA DE VIABILIDADE EMBRIONARIA DE ACORDO COM OS RESULTADOS DOS TESTES SOROLOGICOS

GRÁFICO 11



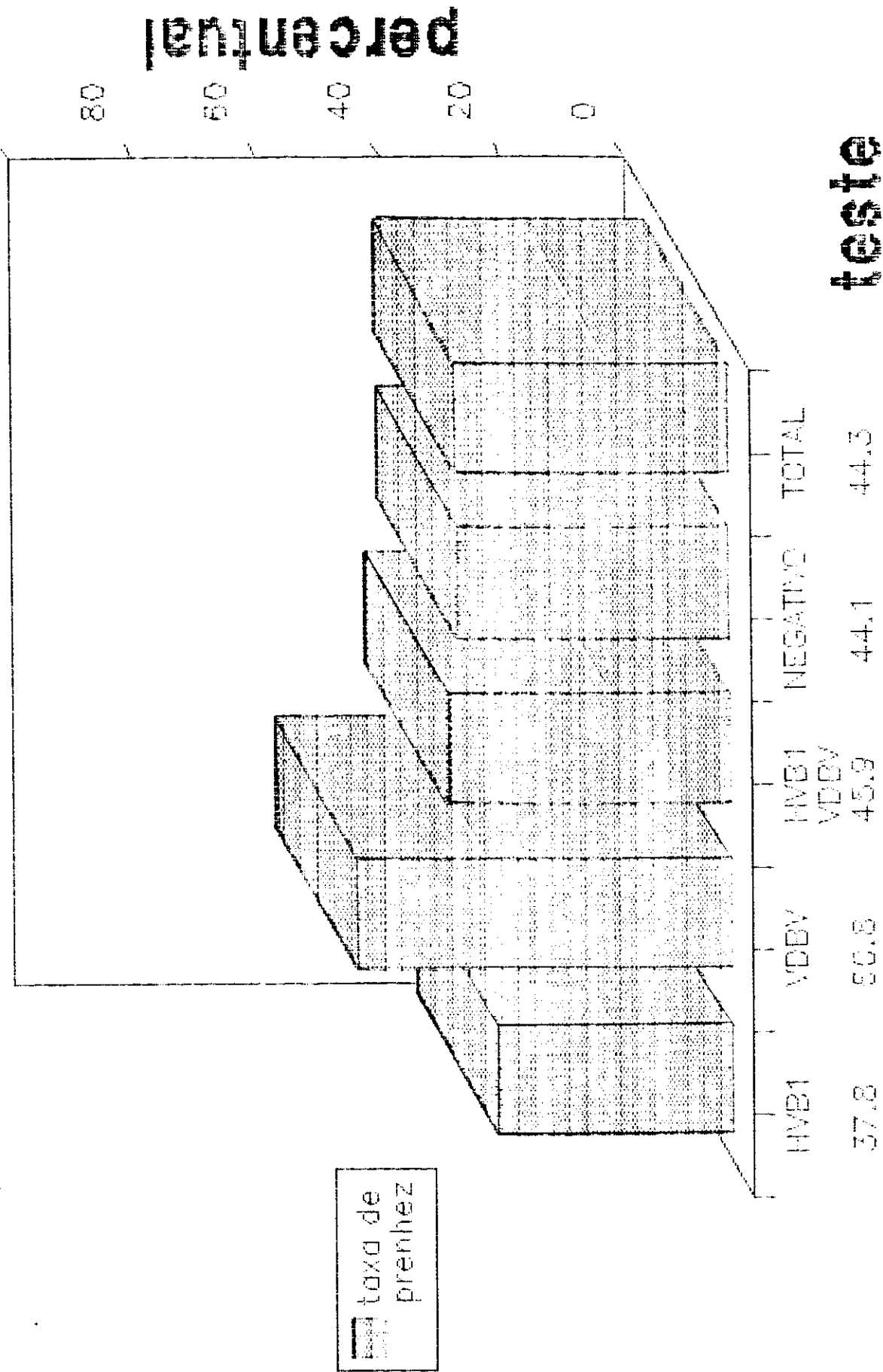
# TAXA DE PREENHEZ DAS RECEPTORAS DE ACORDO COM OS RESULTADOS DOS TESTES SOROLOGICOS DAS DOADORAS

GRÁFICO 12

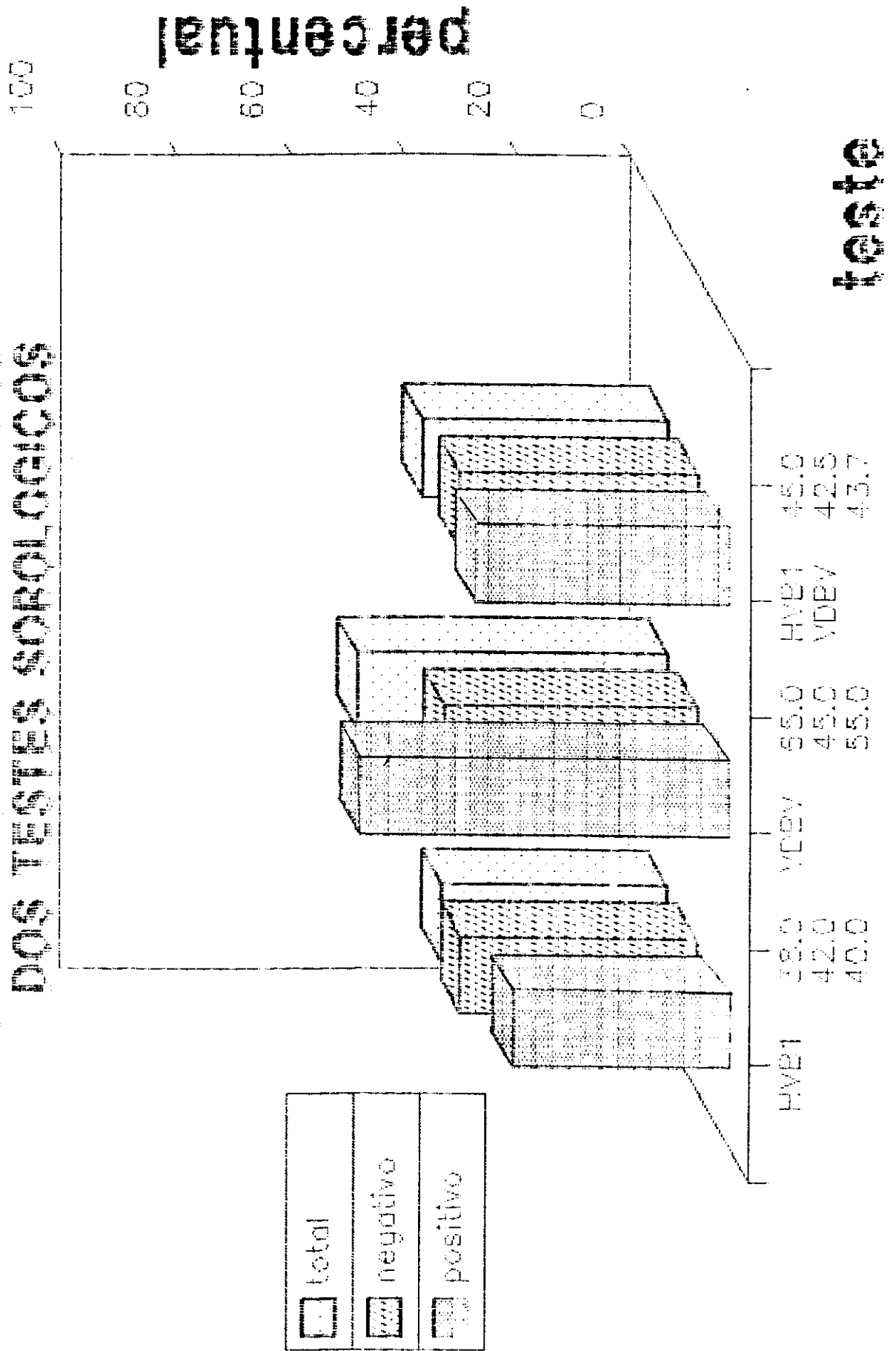




# TAXA DE PREENHEZ DE ACORDO COM OS RESULTADOS DOS TESTES SOROLOGICOS DAS RECEPTORAS



# ESTUDO PROSPECTIVO DA TAXA DE PRECIZ DAS RECEPTORAS DE ACORDO COM OS RESULTADOS DOS TESTES SOROLÓGICOS





## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABREU, V.L.V. Prevalência de bovídeos reagentes à prova de imunodifusão para língua azul na Região Norte do Brasil. Belo Horizonte, Escola de Veterinária da UFMG, 1982. 45p. (Tese, Mestrado).
- ABU EL ZEIN, E.M.E.; FAYZA, A.O.; FAGIERI, I. Natural exposure of exotic cattle to blue tongue (BT) virus in the Sudan as reflected by seroconversion. Bull. Anim. Health. Prod. Afr., Nairobi, 35(4):358-9, 1987.
- ALENCAR FILHO, R.A.; MAZANTI, M.T.; SAAD, A.D.; POHL, R. Levantamento preliminar da infecção pelo vírus da leucemia linfática crônica (L.L.C.) dos bovinos no Estado de São Paulo. Biológico, São Paulo, 45(3/4):47-54, 1979.
- ALLAN, P.J.; DENNETT, D.P.; JOHNSON, R.H. Studies of the effects of infectious bovine rhinotracheitis virus on reproduction in heifers. Aust. Vet. J., Brunswick, 51(8):370-3, 1975.
- ANUNCIÇÃO, A.V.M. Comparação das provas de hemoaglutinação passiva e soroneutralização no diagnóstico do Herpesvirus bovino 1 (HVB1). Belo Horizonte, Escola de Veterinária da UFMG, 1986. 37p. (Tese, Mestrado).

- ARCHBALD, L.F. Isolation of bovine virus diarrhea virus from uterocervical secretion of a repeat-breeder cow. Vet. Med. Small Anim. Clin., Bonner Springs, 69(12):1540-1, 1974.
- ARCHABALD, L.F.; FULTON, R.W.; SEGER, C.L.; AL-BAGDADI, F.; GODKE, R.A. Effect of the bovine viral diarrhea (BVD) virus on pre-implantation bovine embryos: a preliminary study. Theriogenology, Los Altos, 11(1):81, 1979.
- ARCHBALD, L.F.; GIBSON, C.D.; SCHULTZ, R.H.; FAHNING, M. L.; ZEMJANIS, R. Effects of intrauterine inoculation of bovine viral diarrhea - mucosal disease virus on uterine tubes and uterus of nonpregnant cows. Am. J. Vet. Res., Schaumburg, 34(9):1133-7, 1973.
- ARCHBALD, L.F. & ZEMJANIS, R. Intrauterine infusion of the virus of bovine virus diarrhea and artificial insemination in the cow at estrus. Vet. Med. Small Anim. Clin., Bonner Springs, 72(2):221-5, 1977.
- AYALON, N. A review of embryonic mortality in cattle, J. Reprod. Fertil., Cambridge, 54(2):483-93, 1978.
- BAKER, J.C. Bovine viral diarrhea virus: a review. J. Am. Vet. Med. Assoc., Schaumburg, 190(11):1449-58, 1987.
- BARLOW, R.M.; NETTLETON, P.F.; GARDINER, A.C.; GREIG, A; CAMPBELL, J.R. Persistent bovine virus diarrhea virus infection in a bull. Vet. Rec., London, 118(12):321-4, 1986.
- BEKKER, J.G.; DE KOCK, G.D.W.; QUILAN, J.B. The occurrence and identification of blue tongue in cattle - the so-called pseudo foot-and-mouth disease in Africa. Onderstepoort J. Vet. Res., Transvaal, 2(2):393-507, 1934.

- BENEVIDES FILHO, I.M. & PINHEIRO, L.E.L. Aspectos da fecundação em mamíferos. Arq. Flum. Med. Vet., Rio de Janeiro, 3(1): 17-29, 1988.
- BETTERIDGE, K.J. & FLÉCHON, J.E. The anatomy and physiology of pre-attachment bovine embryos. Theriogenology, Los Altos 29(1): 155-87, 1988.
- BIELANSKI, A. & HARE, W.C.D. Effect "in vitro" of bovine viral diarrhea virus on bovine embryos with zona pellucida intact, damaged and removed. Vet. Res. Commun., Amsterdam, 12(1):19 - 24, 1988.
- BIELANSKI, A.; SINGH, E.L.; HARE, W.L.D. Effect of bovine rhinotracheitis virus (IBRV) and bovine viral diarrhea virus (BVDV) on survival of prehatched bovine embryos. Theriogenology, Los Altos, 27(1):214, 1987a.
- BIELANSKI, A.; SING, E.L.; HARE, W.C.D. The "in vitro" exposure to bovine rhinotracheitis virus of zona pellucida - micro-manipulated bovine embryos with the zona pellucida damaged or removed. Theriogenology, Los Altos, 28(4):495-502, 1987 b.
- BITSCH, V. The  $P_{24}^{37}$  modification of the infectious bovine rhinotracheitis virus-serum neutralization test. Acta Vet. Scand., Copenhagen, 19(4):497-505, 1978.
- BOECKX, M.; IBRAHIM, M.; BOUTERS, R. Diw invloed van cen acute IPV-IBR infectie op de bevruchttings resultaten van K. I. stieren. Vlaams Diergeneesk Tijdschr., Ghent, 37(4):177-188 , 1968.
- BOUILLANT, A.M.P.; RUCKERBAUER, G.M.; EAGLESOME, M.D.; SAMAGH, B.S.; SINGH, E.L.; HARE, W.C.D.; RANDALL, G.C.B. Attempts to isolate bovine leukemia and bovine syncytial viruses from

- blood, uterine flush fluid, unfertilized ova and embryos from infected donor cattle. Ann. Rech. Vet., Versailles, 12(4): 385-95, 1981.
- BOWEN, R.A. Viral infections of mammalian preimplantation embryos. Theriogenology, Los Altos, 11(1):5-15, 1979.
- BOWEN, R.A.; ELSDEN, R.P.; SEIDEL Jr., G.E. Infection of early bovine embryos with bovine herpesvirus - 1. Am. J. Vet. Res., Schaumburg, 46(5):1095-7, 1985.
- BOWEN, R.A.; HOWARD, T.H.; ELSDEN, R.P.; SEIDEL Jr. G.E. Embryo transfer from cattle infected with bluetongue virus. Am. J. Vet. Res., Schaumburg, 44(9):1625-8, 1983.
- BURNY, A.; BRUCK, C.; CLEUTER, Y.; COUEZ, D.; DESCHAMPS, J.; GREGOIRE, D.; GHYSDAEL, J.; KETTMANN, R.; MAMMERICKS, M.; MARBAIX, G.; PORTETELLE, D. Bovine leukaemia virus and enzootic bovine leukosis. Onderstepoort J. Vet. Res., Transvaal, 52(3):133-44, 1985.
- BÜCHNER (1894) apud KOKLES, R. Die infectiose rhinotracheitis und das coitalexanthem des rindes. In: ROHRER, H. Hand buch der virus sinfektion bei tieren. Jena, VEB Gustav Fischer Verlag, 1967. Band II, p.901-60.
- CALLAGHAN, B.D. & KING, G.J. Determination of the fertilization rate of AI sires Theriogenology, Los Altos, 14(6):403 - 10, 1980.
- CAMPBELL, C.H. & GRUBMAN, M.J. Current knowledge on the biochemistry and immunology of bluetongue. In: PANDEY, R. Infection and immunity in farm animals. Basel, Karger, 1985. p.58-79. (Progress in Veterinary Microbiology and Immunology, V.1.).
- CASAS OLASCOAGAS, R. & SUTMÖLLER, P. Considerações de saúde

- animal para a movimentação internacional de material genético de bovinos: II. Embriões. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL, 7., Belo Horizonte, 1987. Anais. Campinas, Fundação Cargill, 1988. p.373-80.
- CENTRO PANAMERICANO DE ZONOSIS, Ramos Mejia. Procedimientos para estudios de prevalencia por muestreo. Ramos Mejia, 1979. 35p. (Nota técnica, 18).
- CHILDS, T. X disease of cattle in saskatchewan. Can. J. Comp. Med. Vet. Sci., Guardenvaley, 10:316-9, 1946.
- COELHO, S.G. Transferência de embriões em raças zebuínas. Belo Horizonte, Escola de Veterinária da UFMG, 1988. 51p. (Tese, Mestrado, no prelo).
- COMISION SUDAMERICANA PARA LA LUCHA CONTRA LA FIEBRE AFTOSA. La nueva biotecnología y el transplante de embriones bovinos. In: REUNIÓN ORDINARIA COMISIÓN SUDAMERICANA PARA LA LUCHA CONTRA LA FIEBRE AFTOSA, 15. Goiania, 1988. Informe final. Rio de Janeiro, Centro Panamericano de Fiebre Aftosa, 1988. p. 23-4.
- CONCLUSIONES de la Sociedad Internacional de Transferência de embriones (ITES) (Comité de Importación/Exportación, Subcomisión de Investigaciones). Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz., Paris, 7(1):183-184, 1988.
- CONRADI, H.; HUBRIG, T.; WOHANKA, K. Untersuchungen und beo- bachtungen zum bläschenausschlag des rindes. Berl. Münch. Tierärztl. Wschr., Hamburg, 73:46-52, 1960.
- CUNHA, R.G.; SOUZA, D.M.; TEIXEIRA, A.C. Anticorpos precipi- tantes para o vírus da língua azul em soros de bovinos do Estado do Rio de Janeiro. Biológico, São Paulo, 48(4): 99-103, 1982.

- DIGIACOMO, R.F.; STUDER, E.; EVERMANN, J.F.; EVERED, J. Embryo transfer and transmission of bovine leukosis virus in a dairy herd. J. Am. Vet. Med. Assoc., Schaumburg, 188(8):287-32, 1986.
- DUFFEL, S.J. & HARKNESS, J.W. Bovine virus diarrhea - mucosal disease infection in cattle. Vet. Rec., London, 117(10): 240-5, 1985.
- EAGLESOME, M.D.; MITCHELL, D.; BETTERIDGE, K.G.; RANDAL, G.C. B.; SINGH, E.L.; SAMAGH, B.S.; HARE, W.C.D. Transfer of embryos from bovine leukaemia virus-infected cattle to uninfected recipients: preliminary results. Vet. Rec., London, 111:122-3, 1982.
- ECHTERNKAMP, S.E. & MAURER, R.R. Capability of bovine embryos to develop in vitro after trypsin treatment and cryopreservation. Theriogenology, Los Altos, 29(1):241, 1988.
- ELAZHARY, M.A.S.Y.; LAMOTHE, P.; SILIM, A.; ROY, R.S. Bovine herpesvirus tipe 1 in the sperm of a bull from a herd with fertility problems. Can. Vet. J., Ottawa, 21(12):336-9, 1980.
- ELSDEN, R.P. Embryo transfer by surgical methods. In: BETTERIDGE, K.J. Embryo transfer in animals; a review of techniques and applications. Ottawa, Agricultura Canada, 1977. p. 27-8. (Agriculture Canada - Monograph, 16).
- ELSDEN, R.P.; HASLER, J.F.; SEIDEL Jr., G.E. Non - surgical recovery of bovine eggs. Theriogenology. Los Altos. 6(5): 523 - 32, 1976.
- ERASMUS. Comunicação pessoal. s.d. apud CAMPBELL, C.H. & GRUBMAN, M.J. Current knowledge on biochemistry and immunology of bluetongue. In: PANDEY, R. Infection and immunity in farm animals. Basel, Kargen, 1985. p. 73 (Progress in Veteri-



nary Microbiology and Immunology, v.1.).

FOSTER, N.M.; ALDERS, M.A.; LUEDKE, A.J. WALTON, T.E. Abnormalities and virus-like particles in spermatozoa from bulls latently infected with bluetongue virus. Am. J. Vet. Res., Schaumburg, 41(7):1045-8, 1980.

GALVÃO, C.L. Diagnóstico da infecção genital do Herpesvirus bovino 1 (HVB<sub>1</sub>) pelos métodos de isolamento e imunofluorescência direta. Belo Horizonte, Escola de Veterinária da UFMG, 1984. 42 p. (Tese, Mestrado).

GALVÃO, C.L.; DOREA, J.D.; ALICE, F.J. Anticorpos neutralizantes para o vírus da rinotraqueíte infecciosa dos bovinos no Brasil. Bol. Inst. Biol., Salvador, 6(1):15-25, 1962/63.

GIBBS, E.P.J. & RWEYEMAMU, M.M. Bovine herpesvirus. Part I. Bovine herpesvirus 1. Vet. Bull., Farnham Royal, 47(5):317-43, 1977.

GOMES, M.; MOOJEN, V.; FERNANDES, J.C.T.; FERREIRO, L. Detecção de anticorpos séricos contra o vírus da leucose enzoótica bovina (VLEB) em bovinos no Estado do Rio Grande do Sul. Arq. Fac. Vet. UFRGS, Porto Alegre, 13:15-22, 1985.

GRAHN, T.C.; FAHNING, M.L.; ZEMJANIS, R. Nature of early reproductive failure caused by bovine viral diarrhea virus. J. Am. Vet. Med. Assoc., Schaumburg, 185(4):429-32, 1984.

HARE, W.C.D.; MITCHELL, D.; SINGH, E.L.; BOUILLANT, A. M. P.; EACLESOME, M.D.; RUCKERBAUER, G.M.; BIELANSKI, A.; RANDALL, G. C.B. Embryo transfer in relation to bovine leukemia virus control and eradication. Can. Vet. J., Ottawa, 26: 231-4, 1985.

HELLING, H. Investigation into a natural outbreak of infectious

- pustular vulvovaginitis (IPV) in cattle in South Africa. J. S. Afr. Vet. Med. Ass., Pretoria, 36:219-27, 1965.
- HELMER, S.D.; HANSEN, P.J.; ANTHONY, R.V.; THATCHER, W.W.; BAZER, F.W.; ROBERTS, R.M. Identification of bovine trophoblast protein-1, a secretory protein immunologically related to ovine trophoblast protein-1. J. Reprod. Fertil, Cambridge, 79(1): 83-91, 1987.
- HOFF, G.L. & TRAINER, D.O. Bluetongue and epizootic hemorrhagic disease viruses: their relationship to wildlife species. Adv. Vet. Sci. Comp. Med., New York, 22:111-32, 1978.
- HUCK, R.A.; MILLAR, P.G.; EVANS, D.H.; STABLES, J.W.; ROSS, A. Penoposthitis associated with infectious bovine rhinotracheitis/infectious pustular vulvovaginitis (IBR/IPV) virus in a stud of bulls. Vet. Rec., London, 88(12):292-7, 1971.
- HUCK, R.A.; MILLAR, P.G.; WOODS, D.G. Experimental infection of maiden heifers by the vagina with infectious bovine rhinotracheitis/infectious pustular vulvo-vaginitis virus. An epidemiological study. J. Comp. Pathol, New York, 83(2):271 - 9, 1973.
- HUNTER, R.H.F. Experimental studies of sperm transport in sheep, cows and pigs. Vet. Rec., London, 116(7):188, 1985.
- HUNTER, R.H.F. & WILMUT, I. Sperm transport in the cow: peri-ovulatory redistribution of viable cells within the oviduct. Reprod. Nutr. Dev., Paris, 24(5A):597-608, 1984.
- IKUNO, A.A. & MUELLER, S.B.K. Levantamento sorológico de prevalência de rinotraqueíte infecciosa/vulvovaginite pustular infecciosa (IBR/IPV) em uma amostragem de bovinos de leite no Estado de São Paulo. Rev. Bras. Med. Vet., Rio de Janeiro, 5

(3):34-8, 1982.

JANSSEN, J. Weighing the scientific evidence for the health status of embryos against the safety of national herds when formulating health certificate requirements for embryos for international movement. In: INTERNATIONAL EMBRYO MOVEMENT; WORLD VETERINARY CONGRESS, 33. Montreal, 1987. Proceedings. Montreal, W.C.D. HARE & S.M. SEIDEL, 1987, p. 164-70.

JANZEN, R.G.; MABLY, E.R.; TOMAOKI, T.; CHURCH, R. B.; LORSCHIEDER, F.L. Synthesis of alpha-fetoprotein by pre-implantation and post-implantation bovine embryo. J. Reprod. Fertil., Cambridge, 65(1):105-10, 1982.

KAJA, R.W.; OLSON, C.; ROWE, R.F.; STAUFFACHER, R.H.; STROZINSKI, L.L.; HARDIE, A.R.; BAUSE, I. Establishment of a bovine leukosis virus-free dairy herd. J. Am. Vet. Med. Assoc., Schaumburg, 184(2):184-5, 1984.

KANTEK, C.; KRUGER, E.R.; WELTE, V.R. Prevalência do vírus da leucose enzoótica bovina no rebanho leiteiro do Paraná. Pesq. Vet. Bras., Brasília, 3(4):125-9, 1983.

KENDRICK, J.W.; GILLESPIE, J.H.; McENTEE, K. Infectious pustular vulvovaginitis of cattle. Cornell Vet., Ithaca 48(1):458-95, 1958.

KENDRICK, J.W. & McENTEE, K. The effect of artificial insemination with semen contaminated with IBR-IPV virus. Cornell Vet., Ithaca, 57(1):3-11, 1967.

KUPFERSCHMIED, H.U.; KIHM, U.; BACHMANN, P.; MÜLLER, K.H.; AKERMANN, M. Transmission of IRB/IPV virus in bovine semen: a case report. Theriogenology, Los Altos, 25(3):439-43, 1986.

- LAMBERT, G. Bovine viral diarrhoea: prophylaxis and postvaccinal reactions. J. Am. Vet. Med. Ass., Schaumbur, 163:1087-9, 1973.
- LEFÉVRE, P.C. & CALVEZ, D. La fièvre catarrhale du mouton (bluetongue) en Afrique intertropicale: influence des facteurs écologiques sur la prévalence de l'infection. Rev. Elev. Méd. Vét. Pays Trop., Paris, 39(3/4):263-8, 1986.
- LEWISS, G.S.; THATCHER, W.W.; BAZER, F.W.; CURL, J.S. Metabolism of arachidonic acid in vitro by bovine blastocysts and endometrium. Biol. Reprod., Champaign, 17(2):431-9, 1982.
- LORETU, K.; MARINOV, P.; GENOV, I.; BOHNEL, H. Virus isolations from cases of infectious bovine pustulo-vulvovaginitis and posthitis (IPV/IPB) in cattle in Tanzania. Bull. Epizoot. Dis. Afr., Nairobi, 22:303-9, 1974.
- LORTON, S.P.; MAKI-LAURILA, M.; ROWE, R.; STROZINSKI, L.; NORTHY, D.; FIRST, N. Leukosis - negative status of calves produced by embryo splitting. Theriogenology, Los Altos, 27(1):250, 1987.
- LUTHER, P.D.; NUTTALL, P.A.; GIBBONS, R.A. Isolation of virus from cultures of bovine endometrial cells. J. Infect. Dis., Chicago, 138(5):660-3, 1978.
- MAPLETOFT, R.J. What has been done to facilitate the international movement of embryos without prejudicing the health safety of national herds? In: INTERNATIONAL EMBRYO MOVEMENT; WORLD VETERINARY CONGRESS, 33. Montreal, 1987. Proceedings. Montreal, W.C.D. HARE & S.M. SEIDEL, 1987. p. 195-6.
- MARTAL, J. & CHARLIER, M. Avortements précoces et signaux embryonnaires de reconnaissance de la gestation. Rec. Méd. Vet., Versailles, 161(2):87-97, 1985.