

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL
CURSO DE DOUTORADO**

**IMPACTO DA VACINAÇÃO SOBRE O DESEMPENHO
REPRODUTIVO DE VACAS NELORE MULTÍPARAS**

Luiz Carlos Louzada Ferreira

CAMPO GRANDE, MS

2015

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL
CURSO DE DOUTORADO**

**IMPACTO DA VACINAÇÃO SOBRE O DESEMPENHO DE
VACAS NELORE MULTÍPARAS**

**Impact of vaccination on the reproductive performance of
multiparous Nelore cows**

Luiz Carlos Louzada Ferreira

Orientador: Prof. Dr. Ricardo Antônio Amaral de Lemos

Tese apresentada à Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, como requisito à obtenção do título de Doutor em Ciência Animal. Área concentração: Saúde Animal.

CAMPO GRANDE, MS

2015

Certificado de aprovação

LUIZ CARLOS LOUZADA FERREIRA

Impacto da vacinação sobre o desempenho reprodutivo de vacas Nelore múltiparas

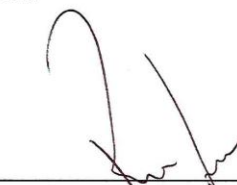
Impact of vaccination on the reproductive performance of multiparous Nelore cows

Tese apresentada à Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, como requisito à obtenção do título de doutor em Ciência Animal.

Área de concentração: Saúde Animal.

Aprovado(a) em: 04/11/2015


BANCA EXAMINADORA:



Prof. Dr. Ricardo Antonio Amaral de Lemos
(UFMS) – (Orientador)



Prof. Dr. Iveraldo dos Santos Dutra
UNESP



Dra. Aiesca Oliveira Pellegrin
EMBRAPA CPAP



Prof. Dr. Carlos Eurico dos Santos Fernandes
UFMS



Prof. Dr. Fernando de Almeida Borges
UFMS

A minha esposa Nicia, e meus filhos Mariana e Felipe,
que sempre apoiaram minhas lutas e conquistas.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por ter colocado pessoas fantásticas na minha caminhada, por me dar forças para enfrentar as dificuldades do dia a dia e por estar presente iluminando os caminhos de minha vida.

Ao professor Ricardo Antônio Amaral de Lemos pela amizade, pelos ensinamentos, orientação e paciência em todas as etapas desse trabalho.

Aos professores Claudio S.L. Barros, Iveraldo dos Santos Dutra , Henrique Jorge Fernandes e Reinaldo Cooke pelos valiosos ensinamentos.

A equipe da fazenda Seriema Agropecuária pela compreensão e trabalho na realização desta pesquisa.

Aos estagiários da Cia Pecuária e a equipe do LAP/FAMEZ pela ajuda.

E finalmente, a minha grande FAMÍLIA!!! Que sempre me deu forças e incentivo!!!

“Orei, e foi-me dada a prudência; supliquei, e veio a mim o espírito da sabedoria. Preferi a sabedoria aos cedros e tronos e, em comparação com ela, julguei sem valor a riqueza; a ela não igualei nenhuma pedra preciosa, pois, a seu lado, todo ouro do mundo é um punhado de areia e, diante dela, a prata será como a lama.”
(Leitura do livro da Sabedoria 7, 7-10)

Resumo

Ferreira, L.C.L. Impacto da vacinação sobre o desempenho de vacas Nelore multíparas . 2015. 77f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, MS, 2015.

O objetivo desta tese foi delinear quatro experimentos para avaliar o impacto de três vacinas: contra febre aftosa, IBR/BVDV/Leptospirose e somente contra leptospirose, no desempenho reprodutivo de vacas multíparas de bovinos de corte. No Experimento 1 foram utilizadas 765 vacas multíparas paridas da raça Nelore submetidas ao mesmo protocolo de inseminação artificial em tempo fixo (IATF) e repassadas por touros. O diagnóstico de gestação por ultrassonografia foi realizado aos 30 e 90 dias pós IATF. A prenhez e a taxa de perda de gestação foram determinadas para três períodos: de 30 a 90 depois da inseminação (DPI), de 30 DPI até para o parto e de 90 DPI até o parto. As vacas foram distribuídas em três grupos: grupo VACMULT ($n = 250$), vacinado com vacina contra herpesvírus tipo 1 (BoHV-1), vírus da diarreia viral bovina (BVDV) e leptospirose; grupo VACL ($n = 245$), vacinado somente contra leptospirose; e grupo NOVAC ($n = 270$), não vacinado. Títulos de anticorpos no soro de 57 vacas de cada grupo evidenciaram infecção por BoHV-1, BVDV e leptospirose, sugerindo circulação desses patógenos no rebanho. No diagnóstico por ultrassonografia, a prenhez não diferiu em nenhum dos três grupos. A taxa de perda de gestação não diferiu significativamente entre os grupos e dentro de qualquer um dos períodos investigados (30 a 90 DPI, 30 DPI até o parto ou 90 DPI até o parto). No Experimento 2 foram testados dois protocolos de vacinação usando as vacinas contra IBR/BVDV/leptospirose e somente contra leptospirose em ambos. No grupo VACGEST as vacas foram vacinadas no dia zero (D0) do protocolo da IATF e 30 dias pós- IATF (30 DPI). No grupo VACPREV a primeira dose foi administrada no D0 e a segunda no mesmo dia da IATF (D11). Não houve diferença significativa entre os grupos. No experimento 3 foram utilizadas 604 vacas, paridas, multíparas, divididas em dois grupos: 1 - VACPREV = vacinado contra febre aftosa 31 dias antes (d-31) da inseminação ($n=291$), 2 - VACGEST = vacinadas 30 dias (d 30) depois da inseminação ($n=313$). Todas participaram de um programa de IATF. O diagnóstico de gestação por ultrassonografia foi realizado aos 30 e 90 dias pós IATF. As gestações foram semelhantes ($p=0,17$) durante o diagnóstico de gestação de 30 dias pós IATF. No diagnóstico de gestação 90 dias pós IATF, a gestação no grupo VACPREV foi maior ($p<0,01$) em comparação com as vacas VACGEST. A perda de gestação entre o diagnóstico de gestação de 30 e 90 dias foi maior no grupo VACGEST ($P<0,01$) do que no grupo VACPREV. No experimento 4 o grupo VAC era composto por 10 vacas e 10 novilhas que foram vacinadas contra febre aftosa (0 hs) e o grupo NOVAC com 10 vacas e 10 novilhas que não foram vacinadas. Foi coletado sangue, para dosagem da haptoglobina, e medida a temperatura as 0, 24, 72, 120 e 168 horas após a vacinação. A temperatura retal foi semelhante para as vacas dos grupos VAC e NOVAC antes da vacinação ($p=0,48$). O aumento da temperatura retal foi maior nos bovinos vacinados (VAC) contra febre aftosa que nos não vacinados (NOVAC), na leitura

com 24 horas ($p < 0,01$), e semelhantes ($p \geq 0,31$) em 72, 120 e 168 horas. A concentração de haptoglobina foi semelhante ($p = 0,98$) entre as vacas vacinadas (VAC) e não vacinadas (NOVAC) antes da vacinação. A concentração de haptoglobina aumentou nas vacas VAC em comparação com as NOVAC ($p < 0,01$) nas dosagens com 24, 72, 120 e 168 horas após a vacinação. Concluindo, os resultados mostram que as vacinas contra IBR/BVDV/leptospirose e somente contra leptospirose não interferiram no desempenho reprodutivo de vacas multíparas. Não houve diferença significativa entre o protocolo de vacinação empregado em D0 e D11 e aquele utilizado em D0 e 30 DPI. Vacas de corte não devem ser vacinadas contra febre aftosa durante a fase inicial da gestação ; esta deve ser aplicada antes da estação de monta para evitar perdas de gestação precoce e otimizar a eficiência reprodutiva do rebanho.

Palavras-chave: Vacinação; doenças reprodutivas de bovinos; *febre aftosa*.

Abstract

Ferreira, L.C.L. Impact of vaccination on the reproductive performance of multiparous Nelore cows. 2015. 77f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, MS, 2015.

The aim of this thesis was to outline four experiments to assess the impact of three vaccines: against foot and mouth disease, IBR / BVDV / Leptospirosis and only against leptospirosis, reproductive performance of multiparous cows beef cattle. Experiment 1, 765 calved multiparous Nelore cows were subjected to the same fixed-time artificial insemination (FTAI) protocol and rebred. Ultrasound pregnancy diagnosis was performed 30, and 90 days post-FTAI (DPI). Rates of pregnancy and pregnancy loss were determined for three periods: from 30 to 90 DPI, from 30 DPI to calving, and from 90 DPI to calving. The cows were assigned to three groups with different vaccination protocols—namely, Group VACMULT ($n = 250$): vaccine against bovine herpesvirus 1 (BoHV-1), bovine viral diarrhea virus (BVDV), and leptospirosis; Group VACL ($n = 245$): vaccine against leptospirosis alone; Group NOVAC ($n = 270$): no vaccination. Serum antibody titers for BoHV-1, BVDV, and leptospirosis, measured in 57 animals from each group indicated active infection, suggesting circulation of these pathogens in the herd. No differences in pregnancy rates were observed across groups. Pregnancy loss rates did not differ significantly across groups within any of the periods investigated (30 to 90 DPI, 30 DPI to calving, or 90 DPI to calving). In Experiment 2, two vaccination protocols for each vaccine were investigated. Group VACGEST was vaccinated on day zero of FTAI (D0) and again 30 days post-FTAI (30 DPI). Group VACPREV was vaccinated on D0 and again on the day of insemination (D11) No significant difference was observed between groups. In Exp. 3, 604 lactating, multiparous, non-pregnant Nelore cows were randomly assigned on d -31 of the experiment to receive: 1) VACPRE = vaccination against FMD virus on d -31 ($n = 291$), and 2) VACGEST = vaccination against FMD virus on d 30 ($n = 313$). From d -11 to 0, all cows were assigned to an estrus synchronization + timed-AI (d 0) protocol. Pregnancy status to AI was verified on d 30 and 90 via transrectal ultrasonography. A treatment \times day interaction was detected ($P < 0.01$) for pregnancy rates to AI, which were similar ($P = 0.17$) between VACPRE and VACGEST on d 30 (61.8 vs. 56.2%, respectively; SEM = 2.8), but greater ($P < 0.01$) for VACPRE on d 90 (59.4 vs. 46.9%, respectively; SEM = 2.8). Pregnancy loss from d 30 to 90 was greater ($P < 0.01$) in VACGEST compared with VACPRE (16.5 vs. 3.9%, respectively; SEM = 2.2). In Exp. 2, 40 pregnant Nelore females (20 nulliparous and 20 multiparous cows; BCS = 4.73 ± 0.12) were ranked by parity and assigned to receive (VAC; $n = 20$) or not (NOVAC; $n = 20$) vaccination against FMD virus. Blood samples were collected and RT recorded prior to (h 0) and 24, 72, 120, and 168 h after treatment administration. Treatment \times day interactions were detected ($P < 0.01$) for RT and plasma haptoglobin. The RT was greater ($P < 0.01$) in VAC

compared with NOVAC at 24 h after treatment administration, and similar ($P \geq 0.31$) between treatments at all other sampling hours. Plasma haptoglobin concentration was similar ($P = 0.98$) between VAC and NOVAC prior to treatment administration ($P = 0.48$), and greater ($P < 0.01$) in VAC at 24, 72, 120, and 168 h after treatment administration. In summary, the results revealed that neither vaccine interfered with the reproductive performance of multiparous cows. No differences were observed between vaccination carried out on both D0 and D11 and that performed on both D0 and D30. Therefore, beef cows should not receive vaccination against the FMD virus during early gestation; this should be administered prior to the beginning of the breeding season to prevent early pregnancy losses and optimize reproductive and overall efficiency of cow-calf operations.

Keywords: Vaccination; reproductive diseases of cattle; foot and mouth disease.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
2 REVISÃO DE LITERATURA	13
3 ARTIGOS.....	16
3.1 Impacto da vacinação sobre o desempenho reprodutivo de vacas Nelore múltiparas.....	28
3.2 Efeito da vacina contra febre aftosa no desempenho reprodutivo em vacas de corte <i>Bos indicus</i>	41
ANEXO 1 – Instruções aos autores: Pesquisa Veterinária Brasileira	59
ANEXO 2 – Instruções aos autores: Journal of Animal Science	60
ANEXO 3 – CONCEA - Impacto da vacinação sobre o desempenho reprodutivo de vacas Nelore múltiparas.....	68
ANEXO 3 – CONCEA - Efeito da vacina contra febre aftosa no desempenho reprodutivo em vacas de corte <i>Bos indicus</i>	69

1 INTRODUÇÃO

O Brasil possui um dos maiores rebanhos comerciais de bovinos de corte do mundo e a pecuária é uma das principais atividades econômicas do país. A eficiência reprodutiva é um dos principais fatores para o sucesso da bovinocultura de corte (Anualpec 2014). As perdas por mortes embrionárias e fetais representam um importante impacto negativo sobre o índice de fertilidade em sistemas de produção de bovinos (Santos et al.2004, Junqueira et al. 2006, Aono et al. 2013, Pereira et al. 2013). Na maioria dos casos, a causa dessas perdas não é determinada (Corbelini et al. 2006, Antoniassi et al. 2013).

As causas de perdas de gestação geralmente são multifatoriais, com o envolvimento de problemas sanitários infecciosos e não infecciosos. Diversos agentes virais como: o vírus da diarreia viral bovina (BVDV) e o herpesvírus bovino tipo 1 (BoHV1) ou vírus da rinotraqueíte bovina infecciosa (IBR), bacterianos como a brucelose e a leptospirose e parasitários, como a neosporose, causam mortalidade embrionária, fetal e natimortalidade (Santos et al.2004, Corbelini et al. 2006, Junqueira et al. 2006, Antoniassi et al. 2013, Aono et al. 2013, Pereira et al. 2013). Causas não infecciosas representam 50% ou mais dos casos de morte embrionária. A mortalidade embrionária e fetal pode ocorrer por causas não infecciosas como fatores ambientais (alta temperatura), estresse devido a traumas durante manejo, nutricionais, desequilíbrio hormonal, aberrações cromossômicas, distocia, partos gemelares e plantas tóxicas (Pituco & Del Fava 2003).

Devido a dificuldade no estabelecimento de um diagnóstico conclusivo de perdas reprodutivas e impulsionado por uma pressão comercial, é prática comum de veterinários e produtores rurais, com base em evidências sorológicas, utilizarem a vacinação para reduzir perdas reprodutivas (Aono et al. 2013). O objetivo deste trabalho foi avaliar o impacto das vacinas contra febre aftosa, IBR/BVDV/Leptospirose e somente contra leptospirose no índice de fertilidade e perdas gestacionais de vacas Nelore, que participaram de um programa de IATF e depois de 16 dias foram repassadas por touros até o final da estação de monta.

2 REVISÃO DE LITERATURA

Nos sistemas produtivos de bovinos de corte utilizam-se várias vacinas. Algumas são obrigatórias, por fazerem parte de programas oficiais, como a vacina contra febre aftosa, que pelo calendário oficial de alguns estados, pode coincidir com a estação reprodutiva. A outra vacina obrigatória é a de brucelose cuja vacinação compulsória de fêmeas entre 3 e 8 meses de idade com a B19 é uma das principais medidas do Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose (PNCEBT 2006) e usada para prevenir perdas reprodutivas. As demais vacinas são opcionais como: BVDV, BoHV1 e leptospirose com o objetivo de diminuir as perdas de gestação.

A febre aftosa é uma das mais importantes enfermidades que interferem no comércio internacional de produtos e subprodutos de bovinos em nosso país. Em função da alta capacidade de contagiosidade e seu potencial de transmissão, representa uma ameaça para países que já a erradicaram. O programa de erradicação e controle da febre aftosa no Brasil (PNEFA 2005) utiliza uma vacina inativada, trivalente, formulada com as cepas virais A24 Cruzeiro, O1 Campos e C3 Indaial, em adjuvante oleoso. Com exceção de Santa Catarina, em todos os Estados do Brasil a vacinação contra febre aftosa é obrigatória. O sucesso desse programa depende do empenho de todos os envolvidos na cadeia produtiva do leite e da carne bovina para obedecer a um calendário de vacinação compulsório para sua região e utilizar as boas práticas sanitárias (portaria ministerial nº121 de 29 de março de 1993). Reações adversas no local da aplicação de vacinas contra febre aftosa são descritas em bovinos, ocasionando importantes perdas econômicas por condenação parcial da carcaça (Leal et al. 2014). Também são relatados prejuízos na diminuição na produção de leite (Yeruham et al. 2001) e por morte de animais quando esta vacina é aplicada em locais não indicados ou não preconizados como a região lombar, ocasionando distúrbios neurológicos relacionados à compressão medular (Ubiali et al. 2011; Marques et al. 2012). Em regiões onde a vacinação contra febre aftosa é compulsória, as vacinações em bovinos jovens (até 24 meses) ocorrem com intervalos de 6 meses e em adultos com intervalo de 12 meses, devido a imunoproteção da vacina (Parida 2009). Com base no ciclo reprodutivo de fêmeas bovinas (Hixon & Sanson 2012) a estação de monta ocorre durante o período de

vacinação contra febre aftosa. Embora pesquisas anteriores tenham relatado (Yeruham et al. 2001, Ubiali et al. 2011, Marques et al. 2012, Leal et al. 2014) que a vacina contra febre aftosa prejudica a produção de bovinos, e, não foram encontrados trabalhos referentes ao impacto da vacinação contra febre aftosa em vacas gestantes no período inicial de gestação, fase embrionária.

A maioria das vacinas contra febre aftosa utilizadas, contém o vírus da febre aftosa inativado e um adjuvante à base de óleo que provoca respostas inatas associadas com a apresentação de antígenos aos linfócitos de células T, incluindo reações inflamatórias de fase aguda (Tizard 2004, Rodriguez & Grubman 2009, Rodrigues et al. 2015). Estas respostas imunes têm sido associadas de forma negativa à manutenção da gestação (Hansen et al. 2004) e desempenho reprodutivo em geral (Cooke et al. 2009). Mais especificamente, os adjuvantes estimulam a síntese de citocinas pró inflamatórias, que por sua vez provocam principalmente duas respostas de fase aguda: 1 - síntese de prostaglandinas que leva a hipertermia e 2 - a alteração do metabolismo e regulação gênica do fígado, favorecendo a síntese hepática de proteínas de fase aguda como a haptoglobina (Carroll & Forsberg 2007). As citocinas pró inflamatórias são conhecidas por influenciar a manutenção da gestação através de efeitos diretos ao embrião, reduzindo a proliferação de células do endométrio, em adição ao aumento de temperatura corporal e a síntese de $\text{PGF}_{2\alpha}$ endometrial para níveis que interrompem a gestação precoce (Hansen et al. 2004). Por outro lado a haptoglobina não tem efeitos prejudiciais à produção e reprodução bovina, embora esta proteína de fase aguda seja amplamente utilizada para monitorar as respostas inflamatórias e de fase aguda (Horadagoda et al. 1999, Cooke and Arthington 2013). Arthington et al. (2013) e Rodrigues et al. (2015) também relataram que a aplicação de uma vacina inativada, contendo patógenos mais adjuvantes, utilizada em bovinos de corte, também levou a um aumento das concentrações plasmática de haptoglobina até 120 horas após a aplicação e esses resultados estavam associados a uma queda no desempenho dos bovinos. Importante notar que a resposta inflamatória e de fase aguda podem também prejudicar os parâmetros de fertilidade de bovinos, tais como crescimento folicular e ovulação (Peter et al. 1989; Battaglia et al. 2000; Williams et al. 2001).

A Leptospirose é uma doença bacteriana reprodutiva que causa infertilidade, aborto, nascimento de bezerras fracas e diminuição temporária da produção

(Cervantes et al. 2002). As *Leptospiras* patogênicas se dividem em 13 espécies com 24 sorogrupos e mais de 260 sorovares (Adler & Moctezuma 2010). Dos diferentes sorovares de *Leptospiras*, em alguns, o bovino é o hospedeiro de manutenção, e atua como portador, e em outros, o bovino é hospedeiro acidental. As *Leptospiras* que tem o bovino como hospedeiro de manutenção são a *L. borgpetersenii* sorovar Hardjobovis e *L. interrogans* sorovar Hardjoprajitno que, mesmo pertencendo a espécies diferentes, são difíceis de diferenciar pela prova de microaglutinação (MAT). Quando causada pelos sorovares Hardjo, a infecção se caracteriza por ser endêmica, com níveis baixos de anticorpos e muitos bovinos eliminando *Leptospiras* pela urina. Nos surtos é comum encontrar 30% a 40% dos bovinos eliminando *leptospiras* pela urina. Quando os bovinos são infectados acidentalmente por um sorovar cujo hospedeiro de manutenção é outra espécie (Icterohaemorrhagiae, Canicola, Pomona, Bratislava) os títulos são altos, a enfermidade é epidêmica e não ocorre transmissão entre bovinos. Neste caso, a infecção depende de condições ambientais que favorecem a transmissão do hospedeiro de manutenção (ratos, suínos e animais silvestres) para o hospedeiro acidental, o bovino (Bolin 2003). No Brasil, em geral, as infecções em bovinos são mais comuns pelas *Leptospiras* do sorovar Hardjo (Figueiredo et al. 2009; Oliveira et al. 2010; Hashimoto et al. 2012) do que as infecções por *Leptospiras* de outras espécies. Nas infecções pelo sorovar Hardjo, os sinais clínicos são discretos, podendo haver uma diminuição da eficiência reprodutiva do rebanho, com maior número de serviços por prenhez, aumento do intervalo entre partos e mastite. Abortos, entre 6 e 9 meses de gestação, e nascimentos de bezerros fracos, podem ocorrer de forma esporádica e geralmente em vacas infectadas pela primeira vez. Algumas vacas podem parir bezerros infectados normais e apresentar retenção de placenta (Grooms et al. 2006).

Em um trabalho no Uruguai (Easton 2006), onde a *Leptospira*, principalmente sorovar Hardjo, é a principal causa de abortos em bovinos em regiões que sofrem alagamentos, a leptospirose foi responsável por 41% dos abortos dos 431 fetos estudados. Nesse país, de 1988 a 2012, foram identificados 155 focos de aborto por leptospirose em vacas. Os picos de aborto foram em agosto, 45-60 dias do pico de leptospirose em bezerros no outono (momento do desmame), indicando que as vacas se infectaram no outono (Dutra 2013). Os estudos sorológicos no Uruguai mostraram uma prevalência para leptospirose de 75% nos rebanhos e 38% dos

bovinos, com maior frequência de anticorpos para o sorogrupo Serjoe (Hardjoprajitno, Hardjobovid, Wolffi) seguidos pelo sorovar Pomona. Outros sorovares (Canicola, Bratislava, Grippothiphosa, Icterohaemorrhagiae) apresentaram baixa frequência de bovinos reagentes (Suanes 2013). Estudos em gado de leite e corte nos Estados Unidos mostraram uma prevalência de leptospirose de 35% a 50% em rebanhos (Grooms & Bolin 2005). A prevalência da leptospirose em rebanhos brasileiros varia de 65 a 90% e em bovinos de 42% a 65% (Figueiredo et al. 2009; Oliveira et al. 2010; Hashimoto et al. 2012).

O diagnóstico de aborto por *Leptospira* é difícil porque a maioria dos fetos abortados apresenta autólise, sem que se observem alterações específicas. Animais nascidos fracos ou natimortos podem apresentar icterícia, fígado pálido amarelado ou rins edemaciados com manchas esbranquiçadas na superfície. Microscopicamente, em alguns fetos, se pode observar necrose tubular e nefrites intersticiais, com presença de *Leptospiras* quando utiliza-se colorações especiais. Também pode ser determinada a presença de anticorpos no soro fetal (Riet-Correa & Lemos 2001).

Nas vacas, o diagnóstico sorológico de abortos por leptospirose é relativamente fácil quando o bovino é hospedeiro acidental (Pomona, Icterohaemorrhagiae, Canicola, Bratislava) onde se encontra títulos iguais ou superiores a 800-1.600. A vacinação dificulta a interpretação da sorologia, considerando que podem haver títulos de 100 a 400 para os sorovares utilizados nas vacinas. Alguns bovinos, principalmente os vacinados várias vezes podem apresentar títulos maiores (Bolin 2003). Por outro lado, a infecção e o aborto pelo sorovar Hardjo exige a utilização da sorologia e técnicas de detecção da bactéria (imunofluorescência, PCR, isolamento), os títulos podem ser baixos ou mesmo negativos, por isso é necessário avaliar os títulos em vários bovinos abortados e não abortados. Tanto a imunofluorescência como o PCR (Richtzenhain et al. 2002) permitem diagnosticar a enfermidade, mas não identificam a espécie e o sorotipo, assim deve ser sempre acompanhados de teste sorológico.

O isolamento é uma técnica que identifica o sorovar, mas não é fácil de ser realizada, pois leva muito tempo, o custo é alto e é de difícil execução. No entanto é imprescindível que se realize o isolamento e posterior identificação da espécie e

sorotipo da *Leptospira* para determinar os sorovares mais prevalentes e produzir as vacinas com esses sorovares isolados (Bolin 2003).

O controle da leptospirose depende da exposição ao agente, vacinação e tratamento dos bovinos portadores. Para avaliar a dimensão da exposição quando o hospedeiro de manutenção não é o bovino deve ser evitado o contato com a urina de animais portadores como ratos e outros roedores. No caso do sorovar Hardjo em que o portador é o bovino deve se evitar a introdução de bovinos infectados nos rebanhos e diminuir a liberação de leptospiros pela urina através do tratamento desses bovinos com estreptomicina. Como estas medidas são difíceis de executar a outra alternativa é a vacinação (Bolin 2003).

A maioria das vacinas que estão no mercado tem os 5 sorotipos que podem afetar o bovino. O problema é que as vacinas são de baixa eficácia para o sorovar Hardjo (Zurner et al. 2011), que induz imunidade celular, produzida por linfócitos Th1, mediada por interferon gama (INF-g) e não está correlacionada com o nível de anticorpos. A vacinação diminui a eliminação de *Leptospiras* pela urina. A eficiência da vacinação depende do estudo permanente com o isolamento dos sorovares atuantes para ser incluídos nas vacinas. Em bovinos, as vacinas que induzem produção de anticorpos mas não induzem uma resposta de Th1 não protegem contra a enfermidade, mesmo com altos níveis de anticorpos (Naiman et al. 2001).

Como a imunidade contra a Hardjo é pouco eficiente recomenda se três vacinações anuais em áreas de alta incidência de leptospiroses, uma dose (outubro) com "booster" após 30 dias antes de começar a estação de monta e outra dose 6 meses depois (maio). Todas as vacinas disponíveis são inativadas, de eficácia relativamente baixa (60-65%) e duração máxima de 4 a 6 meses, por isso, o planejamento da vacinação tem que ser ajustado estrategicamente nos períodos de maior risco da infecção (Dutra 2013).

O agente etiológico da diarreia viral bovina (BVDV) é um vírus envelopado pequeno, da família *Flaviridae*, gênero *Pestivirus*, amplamente distribuído na população bovina mundial. A prevalência de anticorpos pode atingir 70 a 80% dos bovinos e até 80% dos rebanhos na América do Norte e em alguns países europeus. No Brasil estudos sorológicos, descrições clinicopatológicas, isolamento e caracterização do agente têm sido realizados em várias regiões (Flores et al. 2005).

BVDV apresenta dois biótipos reconhecidos pelo efeito causado por sua replicação em cultivo celular, os biótipos citopático (CP) e não-citopático (NCP) (Steven & Grooms 2004). Os vírus NCP constituem a maioria dos isolados de campo, e estão associados com diversas manifestações clínicas da infecção, inclusive a geração de bezerros persistentemente infectados, evento que ocorre após a infecção fetal entre os dias 40 e 120 de gestação (Grooms 2004). Por outro lado, os vírus CP estão presentes, quase que exclusivamente, em casos da doença das mucosas (DM). Tem sido demonstrado que os vírus CP se originam dos vírus NCP nos animais PI, por meio de mutações ou recombinações no genoma (Meyers et al. 1992, 1996).

BVDV também se apresenta em dois genótipos, BVDV tipo 1 e BVDV tipo 2 (Ridpath et al. 1994, Pellerin et al. 1994, Wolfmeyer et al. 1997), conforme propriedades antigênicas e análise filogenética (Ridpath et al. 1994).

A infecção por BVDV pode manifestar-se sob várias apresentações clínicas, que vão desde condições subclínicas até a morte do animal. Estima-se que 70-90% das infecções por BVDV ocorram sem manifestações clínicas. Outras formas da enfermidade incluem doença respiratória, gastroentérica, síndrome hemorrágica com trombocitopenia, abortos, infertilidade temporária, defeitos congênitos, imunossupressão e doença das mucosas (Grooms et al. 2002).

Vacas prenhes infectadas com cepas NCP de BVDV antes do desenvolvimento da imunocompetência fetal (40 a 120 dias de gestação) podem parir bezerros que são imunotolerantes e persistentemente infectados (PI) por BVDV (Grooms 2004). Bovinos que nascem PI são importantes na epidemiologia, pois se constituem na maior fonte de vírus nos rebanhos. Portanto, a sua detecção e remoção para o controle e/ou erradicação da infecção é fundamental (Dubovi 1992, Grooms 2004). A doença das mucosas (DM) ocorre quando os bezerros PI são superinfectados com o biótipo CP homólogos antígenicamente ao vírus NCP residente (Grooms & Keilen 2002, Radostits et al. 2002, Potgieter 2004). Isto ocorre provavelmente por meio de mutações ou recombinações no genoma do vírus NCP, originando o correspondente CP (Meyers et al. 1992, 1996).

O BVDV pode reduzir a fertilidade da vaca nos primeiros 20 dias de gestação diminuindo a qualidade do oócito e interrompendo a esteroidogênese gonadal. Com

20 a 59 dias de gestação o embrião é muito susceptível ao vírus. De 100 a 150 dias de gestação o vírus pode causar lesões no sistema nervoso central do feto e aparecimento de defeitos congênitos. A infecção transplacentária do feto, a partir dos 50 dias de gestação, pode resultar em aborto em qualquer fase da gestação. Quando o vírus atinge o útero entre 130 e 280 dias de gestação podemos ter o nascimento de bezerros saudáveis soropositivos (Grooms et al. 2006). A principal preocupação com relação à eficácia das vacinas é com a grande variabilidade antigênica do vírus e a baixa reatividade sorológica cruzada entre as cepas locais e as norte-americanas (Arenhart et al. 2008).

O herpesvírus bovino tipo 1 (BoHV1) é o agente da rinotraqueite bovina infecciosa (IBR) e possui dois subtipos o BoHV-1.1, responsável pela doença respiratória e o BoHV-1.2 isolado de casos de doenças genitais. Através da infecção pelo sêmen ou monta as fêmeas em reprodução podem apresentar vulvovaginite, ooforite, endometrite e distúrbios hormonais levando ao retorno ao cio e infertilidade temporária. Os abortos podem ocorrer em qualquer fase da gestação mas são mais frequentes acima dos 6 meses de idade gestacional e os abortamentos podem levar meses após a morte fetal dificultando o diagnóstico (Crook et al. 2012). Prevalência de 36,7% para novilhas e 80% para vacas foi encontrado em avaliação do desempenho reprodutivo de um rebanho bovino de corte (Junqueira et al. 2006).

Estudos, na sua maioria em bovinos de leite, mostram que 30 a 50% dos fetos bovinos abortados apresentam diagnóstico etiológico definitivo em virtude das múltiplas causas envolvidas (Kirkbride 1992; Corbelini et al. 2006; Antoniassi et al. 2013). Além disso a expulsão do feto pode ocorrer algum tempo após a morte fetal resultando em autólise, dificultando a identificação e isolamento do agente etiológico. Na bovinocultura de corte muitos fetos não são coletados, em função do tamanho das propriedades, que dificulta os funcionários a realizarem uma busca detalhada e estes, ainda relatam que os fetos servem de alimento para "lobinhos" (*Cerdocyon thous*) e aves de rapina. Por causa da dificuldade no estabelecimento de um diagnóstico conclusivo de perdas reprodutivas, muitos veterinários e produtores rurais, com base em evidências sorológicas, utilizam a vacinação contra doenças da esfera reprodutiva, como medida sanitária para reduzir perdas reprodutivas (Aono et al. 2013).

Adoção de medidas sanitárias na bovinocultura de corte agrega custos no sistema de produção. Desta forma a adoção destas medidas justifica-se somente se as mesmas resultarem em benefícios superiores ao seu custo de implantação. Este conceito pode aplicar-se diretamente na adoção de programas de vacinação contra doenças da esfera reprodutiva em matrizes bovinas, pois, o benefício esperado (aumento da taxa de fertilidade e de natalidade) deve ser superior ao custo da vacina. A justificativa econômica para a implantação de um programa de vacinação contra febre aftosa, IBR/BVDV/Leptospirose e somente contra leptospirose deve considerar vários aspectos como: a identificação das doenças que afetam o rebanho (com base em diagnóstico laboratorial), o conhecimento da epidemiologia das mesmas e o impacto econômico causada por elas. Assim, sempre que o custo de implantação das medidas sanitárias for superior ao prejuízo econômico causado pela doença a sua implantação não se justifica. Além de economicamente viáveis as medidas têm que ser aplicáveis dentro do sistema produção (manejo da fazenda).

A presente tese aborda a viabilidade econômica e prática na utilização de protocolos de vacinação contra febre aftosa, IBR/BVDV/Leptospirose e somente contra leptospirose e tem por objetivo avaliar o impacto das vacinas contra febre aftosa, IBR/BVDV/Leptospirose e somente contra leptospirose no índice de fertilidade e perdas gestacionais de vacas Nelore, que participaram de um programa de IATF.

REFERÊNCIAS

- Adler B. & Moctezuma A.P. 2010. Leptospira and leptospiroses. *Vet. Microbiol.* 140:287-296.
- Antoniassi N.A.B., Juffo G.D., Santos A.S., Pescador C.A., Corbellini L.G. & Driemier D. 2013. Causas de aborto bovino diagnosticadas no Setor de Patologia Veterinária da UFRGS de 2003 a 2011. *Pesq. Vet. Bras.* 33(2):155-160.
- Anualpec: Anuário da pecuária brasileira. 2014. São Paulo, Brasil, Instituto FNP e Agra Pesquisas Ltda, 21 ed..

- Aono F.H., Cooke R.F., Alfieri A.A. & Vasconcelos J.L.M. 2013. Effects of vaccination against reproductive diseases on reproductive performance of beef cows submitted to fixed-timed AI. *Theriogenology* <<http://dx.doi.org/10.1016/j.theriogenology.2012.08.008>>
- Arenhart S. S.A., et al. 2008. Proteção fetal contra o vírus da diarréia viral bovina (BVDV) em vacas prenhas previamente imunizadas com uma vacina experimental atenuada. *Pesq. Vet. Brás.*28:461-470.
- Battaglia, D. F., H. B. Krasa, V. Padmanabhan, C. Viguie, and F. J. Karsch. 2000. Endocrine alterations that underlie endotoxin-induced disruption of the follicular phase in ewes. *Biol. Reprod.* 62:45-53.
- Bolin C. 2003. Diagnosis and control of bovine leptospirosis. Proceedings of the 6th Western Dairy Management Conference, Reno, NV, p. 155-159.
- Brasil 1993. Portaria ministerial nº 121, de 29 de março 1993. Normas gerais para o combate à febre aftosa no território nacional, incluindo a vacinação como estratégia a ser utilizada. Ministério da Agricultura e Abastecimento.
- Carroll, J. A., & N. E. Forsberg. 2007. Influence of stress and nutrition on cattle immunity. *Vet. Clin. Food. Anim.* 23:105-149.
- Cervantes L.P.M., Puebla M.A.C., Rosas D.G., Serrania N.R.& BarrancaJ.I.T. 2002. Estudio serológico de leptospirosis bovina en México. *Revta Cubana Med. Trop.* 54(1):24-27.
- Corbellini L.G., Pescador C.A., Frantz F., Wunder E., Steffen D.J., Smith D.R. & Driemeier D. 2006. Diagnostic survey of bovine abortion with special reference to *Neospora caninum* infection: Importance, repeated abortion and concurrent infection in aborted fetuses in southern Brazil. *Vet. J.* 172(1):114-120.

- Cooke R. F. & J. D. Arthington. 2013. Concentrations of haptoglobin in bovine plasma determined by ELISA or a colorimetric method based on peroxidase activity. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.* 97:531-536.
- Cooke R. F., J. D. Arthington D. B. Araujo & G. C. Lamb. 2009. Effects of acclimation to human interaction on performance, temperament, physiological responses, and pregnancy rates of Brahman-crossbred cows. *J. Anim. Sci.* 87:4125-4132.
- Crook T., Benavides J., Russel G., Gilray J., Maley M. & Willoughby K. 2012. Bovine herpesvirus 1 abortion: current prevalence in the United Kingdom and evidence of hematogenous spread within the fetus in natural cases. *J. Vet. Diagn. Invest.* 24(4):662-670.
- Dubovi E.J. 1992. Genetic diversity and BVDV virus. *Comp. Immun. Microb. Infect. Dis.* 15(3):155-165.
- Dutra F. 2013. Epidemiologia y control de la leptospirosis bovina en el Uruguay, con especial referencia en la zona este. Publicación académica. Leptospirosis. Ministerio de Educación y Cultura-Academia Nacional de Veterinaria. Montevideo, Uruguay, p.8-17.
- Easton C. 2006. Estudio patológico de las principales causas infecciosas en el aborto bovino en Uruguay. Tesis de Maestría, Facultad de Veterinaria, UDELAR, 60p.
- Figueiredo A.O., Pellegrin A.O., Gonçalves V.S.P., Freitas E.B., Monteiro L.A.R.C., Oliveira J.M. & Osório L.A.R. 2009. Prevalência e fatores de risco para a leptospirose em bovinos de Mato Grosso do Sul. *Pesq. Vet. Bras.* 25(5):375-381.
- Flores E.F., Weiblen R., Vogel F.S.F., Roehle P. M., Alfieri A. A. & Pituco E.M. 2005. A infecção pelo vírus da Diarréia Viral Bovina (BVDV) no Brasil – histórico, situação atual e perspectivas. *Pesq. Vet. Bras.* 25(3):125-134.

- Grooms D.L. & Keilen E.D. 2002. Screening of neonatal calves for persistent infection with bovine viral diarrhoea virus by immunohistochemistry on skin biopsy samples. *Clin Diagn Lab Immunol.* Jul. 9(4):898-900.
- Grooms D.L., Baker J.C. & Ames T.R. 2002. Diseases Caused By Bovine Virus Diarrhoea Virus. *Large Animal Internal Medicine: diseases of horses, cattle, sheep, and goats* / [edited by] Bradford P. Smith. 3rd ed.
- Grooms D.L. 2004. Reproductive consequences of infection with bovine viral diarrhoea virus. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.* March. 20(1):5-19.
- Grooms D.L., Bolin C.A. 2005. Diagnosis of fetal loss caused by bovine viral diarrhoea virus and *Leptospira* spp.. *Vet. Clin. North Am Food Anim. Pract.* 21:463-72.
- Grooms D.L. 2006. Reproductive losses caused by bovine viral diarrhoea virus and leptospirosis. *Theriogenology.* 66:624-628.
- Hansen P. J., P. Soto & R. P. Natzke. 2004. Mastitis and fertility in cattle – possible involvement of inflammation or immune activation in embryonic mortality. *Am. J. Reprod. Immunol.* 51:294–301.
- Hashimoto V.Y., Dias J.A., Spohr K.A.H., Silva M.C.P., Andrade M.G.B., Müller E.E. & Freitas J.C. 2012. Prevalência e fatores de risco associados à Leptospirose spp. em rebanhos bovinos da região centro-sul do estado do Paraná. *Pesq. Vet. Bras.* 32(2):99-105.
- Hixon D. L., and D. W. Sanson. 2012. In *Cattle Producer's Handbook* 3rd ed., 400. JRAAdams Publishing, Boise, ID.
- Horadagoda N. U., Knox K. M., Gibbs H. A., Reid S. W., Horadagoda A., Edwards S. E. & Eckersall P. D.. 1999. Acute phase proteins in cattle: Discrimination between acute and chronic inflammation. *Vet. Rec.* 144:437–441.

- Junqueira J.R.C., Freitas J.C., Alfieri A.F. & Alfieri A.A. 2006. Avaliação do desempenho reprodutivo de um rebanho bovino de corte naturalmente infectado com BoHV-1, BVDV e *Leptospira hardjo*. Semina, Ciênc. Agrárias 27(3):471-480.
- Kelling C.L. 2007. Viral diseases of the fetus. Virology. Nebraska Center for Virology Papers, p.399-408.
- Kirkbride C.A. 1992. Etiologic agents detected in a 10-year study of bovine abortions and stillbirths. J. Vet. Diagn. Invest. 4(2):175-180.
- Leal P.V., Pupin R. C., Santos A. C., Faccin T. C., Surdi E., Leal C. R. B., Brumatti R. C. & Lemos R. A. A.. 2014. Estimates of economic losses caused by local granulomatous reaction after use of an oily vaccine against FMD in cattle of Mato Grosso do Sul. Pesq. Vet. Bras. 34:738-742.
- Marques A.L.A., Simões S.V.D., Maia L.A., Silva T.R., Miranda Neto E.G., Pimentel L.A., Afonso J.A.B. & Dantas A.C. 2012. Compressão medular em bovinos associada à vacinação contra febre aftosa. Ciência Rural. 42(10):1851-1856.
- Meyers G., Tautz N. & Stark R. 1992. Rearrangement of viral sequences in cytopathogenic pestiviruses. Virology. 191:368-376.
- Meyers G., Tautz N., Becher P., Thiel H.J. & Kümmerer B.M. 1996. Recovery of cytopathogenic and noncytopathogenic bovine viral diarrhea from cDNA constructs. J. Virol. 70:8606-8613.
- Naiman B.N., Alt D., Bolin C.A., Zuerner R. & Baldwin C.L. 2001. Protective Killed *Leptospira borgpetersenii* vaccine induces potent Th1 immunity comprising responses by CD4 and T Lymphocytes. Infection and Immunity.69(12): 7550–7558.
- Oliveira F.C.S., Azevedo S.S., Pinheiro S.R., Batista C.S.A., Moraes Z.M., Souza G.O., Gonçalves A.P. & Vasconcellos S.A. 2010. Fatores de risco para leptospirose

em fêmeas bovinas em idade reprodutiva no Estado da Bahia, Nordeste do Brasil. *Pesq. Vet. Bras.* 30(5):398-402.

Parida, S. 2009. Vaccination against foot-and-mouth disease virus: strategies and effectiveness. *Expert Rev. Vaccin.* 8:347–365.

Pereira M.H.C., Cooke R.F., Alfieri A.A. & Vasconcelos J.L.M. 2013. Effects of vaccination against reproductive on reproductive performance of lactating dairy cows submitted to IA. *Anim. Reprod. Sci.* 137(2013)156-162.

Pellerin C., Van Den Hurk J. & Lecomte J. 1994. Identification of a new group of bovine viral diarrhoea virus strains associated with severe outbreaks and high mortalities. *Virology.* 203:260-267.

Peter A. T., Bosu W. T. K., DeDecher R. J.. 1989. Suppression of preovulatory luteinizing hormone surges in heifers after intrauterine infusions of *Escherichia coli* endotoxin. *Am. J. Vet. Res.* 50:368-373.

Pituco E.M. & Del Fava C. 2003. Causas infecciosas de mortalidade embrionária e fetal em bovinos. *Rev. Bras. Repr. Animal.* 27:68-75.

PNEFA - Programa nacional de erradicação da febre aftosa. 2005. Orientações para fiscalização do comércio de vacinas contra febre aftosa e para controle e avaliação das etapas de vacinação . PNEFA. p.2-3.

Potgieter L.N.D. 2004. Bovine viral diarrhoea and mucosal disease. In: *Infectious Diseases of Livestock.* 2 ed. V.2. Oxford University Press Southern África, Cape Town. 946-69. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.* 11(3):501- 20.

Radostits O.M., Gay C., Blood D.C. & Hinchcliff K.W. 2002. Diarréia viral bovina, doença das mucosas, complexo doença pestivirus bovino. In: *Clínica veterinária: Um tratado de doenças de bovinos, ovinos, suínos, caprinos e eqüinos.* 9 ed. Editora Guanabara Koogan S.A. Rio de Janeiro. 974-93.

- Ridpath J.F., Bolin S.R. & Dubovi E.J. 1994. Segregation of bovine viral diarrhoea virus into genotypes. *Virology*. 205:66-74.
- Richtzenhain L.J., Cortez A., Heinemann M.B., Soares R.M., Sakamoto S.M., Vasconcelos S.A., Higa Z.M., Scarcelli E., Genovez M.E. 2002. A multiplex PCR for the detection of *Brucella* spp and *Leptospira* spp. DNS from aborted bovine fetuses . *Veterinary Microbiology*. v.20, n. 2,139:147.
- Riet-Correa F. & Lemos R.A.A. 2001. In: Riet-Correa F. et al. *Doenças de ruminantes e equinos*. Varela: São Paulo. v.1 . 275:284.
- Rodriguez L. L., and M. J. Grubman. 2009. Foot and mouth disease virus vaccines. *Vaccine* 27:D90-D94.
- Rodrigues M. C., R. F. Cooke, R. S Marques, B. I. Cappelozza, S. A. Arispe, D. H. Keisler & D. W. Bohnert. 2015. Effects of vaccination against respiratory pathogens on feed intake, metabolic, and inflammatory responses in beef heifers. *J. Anim. Sci.* doi:10.2527/jas2015-9277.
- Santos J.E.P., Thatcher W.W., Chebel R.C., Cerri R.L.A., Galvão K.N. 2004. The effect of embryonic death rates incattle on the efficacy of estrus synchronization programs. *Animal Reproduction Science*. v. 82-83,p. 513-535.
- Steven R.B. & Grooms D.L. 2004. Origination and Consequences of Bovine Viral Diarrhoea Virus diversity. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.* March, 20(1):51-68.
- Suanes A. 2013. *Leptospirosis bovina: enfermedad, epidemiología y diagnóstico serológico*. Publicación académica. Leptospirosis. Ministerio de Educación y Cultura-Academia Nacional de Veterinaria. Montevideo, Uruguay, p.18-25.
- Tizard I. R. 2004. Vaccines and their production. In: T. Merchant, editor, *Veterinary immunology*. 7th ed. Elsevier, Philadelphia, PA. p. 247.

- Wagner J. J., Lusby K. S., Oltjen J. W., Rakestraw J., Wettemann R. P. & Walters L. E.. 1988. Carcass composition in mature Hereford cows: Estimation and effect on daily metabolizable energy requirement during winter. *J. Anim. Sci.* 66:603-612.
- Williams C. Y., Harris T. G., Battaglia D. F., Viguie C. & Karsch F. J.. 2001. Endotoxin Inhibits Pituitary Responsiveness to Gonadotropin-Releasing Hormone. *Endocrinology* 142:1915-1922.
- Wolfmeyer A., Wolf G. & Beer M. 1997. Genomic (5`UTR) and serological differences among German BVDV field isolates. *Arch Virol.* 142:2049-2057.
- Zuerner R.L., Alt D.P., Palmer M.V., Thacker,T.C., Olsen S.C. 2011. A *Leptospira borgpetersenii* serovar Hardjo vaccine induces a Th1 response, activates NK cells, and reduces renal colonization. *Clinical and Vaccine Immunology* 18, 684-691.
- Ubiali D.G., Cruz R.A.S., Lana M.V.C., Meireles Y.S., Nésoli P.B., Souza M.A., Colodel E.M. & Pescador C.A. 2011. Spinal cord compression in cattle after the use an oily vaccine. *Pesq. Vet. Bras.* 31(11):997-999.
- Yeruham I., Yadin H., Haymovich M. & Perl S.. 2001. Adverse reactions to FMD vaccine. *Vet. Dermatol.* 12:197-201.

3 ARTIGO 1

Impacto da vacinação sobre o desempenho reprodutivo de vacas Nelore multíparas

Luiz C.L. Ferreira, Henrique J. Fernandes, Aline G. da Silva, Carlos E. Fernandes,
Iveraldo S. Dutra, Claudio S.L. Barros and Ricardo A.A. Lemos

(Artigo enviado em 19/5/15 para publicação na revista Pesquisa Veterinária
Brasileira)

Impacto da vacinação sobre o desempenho reprodutivo de vacas nelore múltiparas¹

Luiz C.L. Ferreira², Henrique J. Fernandes³, Aline G. da Silva⁴, Carlos E. Fernandes⁵, Iveraldo S. Dutra⁶, Claudio S.L. Barros⁷ & Ricardo A.A. Lemos^{7*}

ABSTRACT.- Ferreira L.C.L., Fernandes H.J., Silva A.G., Fernandes C.E., Dutra I.S., Barros C.S.L. & Lemos R.A.A. 2015. [**Impact of vaccination on the reproductive performance of multiparous Nelore cows.**] *Pesquisa Veterinária Brasileira* 00(0):00-00. Departamento de Medicina Veterinária, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Av. Senador Filinto Müller, 2443, Campo Grande, MS 79070-900, Brazil. E-mail: ricardo.lemos@ufms.br

Two experiments were conducted to evaluate the impact of two vaccines on the reproductive performance of multiparous beef cows in Mato Grosso do Sul, Midwest Brazil. In Experiment 1, 765 calved multiparous Nelore cows were subjected to the same fixed-time artificial insemination (FTAI) protocol and rebred. Ultrasound pregnancy diagnosis was performed 30, and 90 days post-FTAI (DPI). Rates of pregnancy and pregnancy loss were determined for three periods: from 30 to 90 DPI, from 30 DPI to calving, and from 90 DPI to calving. The cows were assigned to three groups with different vaccination protocols—namely, Group VACMULT (n=250): vaccine against bovine herpesvirus 1 (BoHV-1), bovine viral diarrhoea virus (BVDV), and leptospirosis; Group VACL (n=245): vaccine against leptospirosis alone; Group NOVAC (n=270): no vaccination. Serum antibody titers for BoHV-1, BVDV, and leptospirosis, measured in 57 animals from each group indicated active infection, suggesting circulation of these

¹ Recebido em 19 de maio de 2015.

Aceito para publicação em ...

Parte da Dissertação de Doutorado do primeiro autor. Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, MS, Brazil.

² Médico Veterinário Autônomo, Rua Inácio Gomes 108, Campo Grande, MS 79041-231, Brazil.

³ Pós- Graduação em Zootecnia, Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul, Unidade Universitária de Aquidauana, Rodovia Aquidauana-CERA, Aquidauana, MS 79200-000, Brazil.

⁴ Departamento de Ciência Animal, Programa de Ciência Animal, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG 36570-900, Brazil.

⁵ Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Av. Filinto Müller, 2443, Campo Grande, MS 79074-460, Brazil.

⁶ Departamento de Apoio Animal, Produção e Saúde, Programa de Medicina Veterinária, Universidade Estadual Paulista, Rua Clóvis Pestana, 793, Araçatuba, SP 16050-680, Brazil.

⁷ Laboratório de Patologia Animal, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Av. Filinto Müller, 2443, Campo Grande, MS 79074-460, Brazil.

*Corresponding author: ricardo.lemos@ufms.br

pathogens in the herd. No differences in pregnancy rates were observed across groups. Pregnancy loss rates did not differ significantly across groups within any of the periods investigated (30 to 90 DPI, 30 DPI to calving, or 90 DPI to calving). In Experiment 2, two vaccination protocols for each vaccine were investigated. Group VACGEST was vaccinated on day zero of FTAI (D0) and again 30 days post-FTAI (30 DPI). Group VACPREV was vaccinated on D0 and again on the day of insemination (D11). No significant difference was observed between groups. The results revealed that neither vaccine interfered with the reproductive performance of multiparous cows. No differences were observed between vaccination carried out on both D0 and D11 and that performed on both D0 and D30.

INDEX TERMS: Vaccination, cattle reproductive diseases.

RESUMO.- [Impacto da vacinação sobre o desempenho reprodutivo de vacas nelore múltiparas]

Foram delineados dois experimentos para avaliar o impacto de duas vacinas no desempenho reprodutivo de vacas múltiparas de bovinos de corte em Mato Grosso do Sul, Centro-Oeste do Brasil. No Experimento 1 foram utilizadas 765 vacas múltiparas paridas da raça Nelore submetidas ao mesmo protocolo de inseminação artificial em tempo fixo (IATF) e repassadas por touros. O diagnóstico de gestação por ultrassonografia foi realizado aos 30 e 90 dias pós IATF. A prenhez e a taxa de perda de gestação foram determinadas para três períodos: de 30 a 90 após a inseminação (DPI), de 30 DPI até para o parto e de 90 DPI até o parto. As vacas foram distribuídas em três grupos: grupo VACMULT (n=250), vacinado com vacina contra herpesvírus tipo 1 (BoHV-1), vírus da diarreia viral bovina (BVDV) e leptospirose; grupo VACL (n=245), vacinado somente contra leptospirose; e grupo NOVAC (n=270), não vacinado. Títulos de anticorpos no soro de 57 vacas de cada grupo evidenciaram infecção por BoHV-1, BVDV e leptospirose, sugerindo circulação desses patógenos no rebanho. No diagnóstico por ultrassonografia, a prenhez não diferiu em nenhum dos três grupos. A taxa de perda de gestação não diferiu significativamente entre os grupos e dentro de qualquer um dos períodos investigados (30 a 90 DPI, 30 DPI até o parto ou 90 DPI até o parto). No Experimento 2 foram testados dois protocolos de vacinação usando as vacinas contra IBR/BVDV/leptospirose e somente contra leptospirose em ambos. No grupo VACGEST as vacas foram vacinadas no dia zero (D0) do protocolo da IATF e 30 dias pós- IATF (30 DPI). No grupo VACPREV a primeira dose foi administrada no D0 e a segunda no mesmo dia da IATF (D11). Não houve diferença significativa entre os grupos. Os resultados mostram que as vacinas contra IBR/BVDV/leptospirose e somente contra leptospirose não interferiram no desempenho reprodutivo de vacas múltiparas. Não houve diferença significativa entre o protocolo de vacinação empregado em D0 e D11 e aquele utilizado em D0 e 30 DPI.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Vacinação, doenças reprodutivas de bovinos.

INTRODUÇÃO

As perdas por mortes embrionárias e fetais representam um importante impacto negativo sobre o índice de fertilidade em sistemas de produção de bovinos (Santos et al. 2004, Junqueira et al. 2006, Aono et al. 2013, Pereira et al. 2013). Na maioria dos casos, a causa dessas perdas não é determinada (Corbelini et al. 2006, Antoniassi et al. 2013).

Devido a dificuldade no estabelecimento de um diagnóstico conclusivo de perdas reprodutivas e impulsionados por uma pressão comercial, é prática comum de veterinários e produtores rurais, com base em evidências sorológicas, utilizarem a vacinação para reduzir perdas reprodutivas (Aono et al. 2013). O objetivo deste trabalho foi avaliar o impacto das vacinas contra IBR/BVDV/Leptospirose e somente contra leptospirose no índice de fertilidade e perdas gestacionais de vacas Nelore.

MATERIAL E MÉTODOS

O presente estudo foi realizado em uma propriedade de criação extensiva de bovinos de corte nelore, com área de 5.000 ha, localizada no município de Miranda (latitude 20°14'26" sul, longitude 56°22'42" oeste) em Mato Grosso do Sul (MS) e aprovado pela comissão de ética da UFMS (Protocolo nº 703/2015). O delineamento experimental consistiu em dois experimentos descritos a seguir.

Experimento 1. O objetivo deste experimento foi avaliar 765 vacas múltiparas paridas (aproximadamente 30 a 60 dias pós parto) que participaram de um programa de inseminação artificial em tempo fixo (IATF) entre novembro de 2011 e janeiro de 2012. Todas essas vacas receberam o mesmo protocolo básico de IATF (Fig.1). Dia zero (D0), aplicação de 2mg de benzoato de estradiol (BE) e inserção de dispositivo intravaginal contendo 1,9g de progesterona (P4) que permaneceu por nove dias. No nono dia receberam 12,5mg de dinoprost trometamina (DT) com remoção do dispositivo intravaginal; administração de 1mg de cipionato de estradiol (CP) e 300UI de eCG (Novormon®). No dia onze do experimento todas as vacas foram inseminadas com sêmen do mesmo touro pelos mesmos inseminadores (n=2). As vacas estavam em pastos de *Brachiaria brizantha*, com água e suplemento mineral a vontade, em bom estado nutricional e o escore corporal (ECC) de $3,85 \pm 0,05$, estimado de acordo com Wagner et al. 1988. Após 16 dias as vacas foram repassadas pelo mesmo grupo de touros, todos com exame andrológico, até o final da estação de monta.

O diagnóstico de gestação por ultrassonografia foi realizado aos 30 e 90 dias após a inseminação (Fig.1). As vacas que estavam gestantes aos 30 dias após a inseminação, e depois de 60 dias, aos 90 dias não estavam mais gestantes, foram consideradas como tendo perdido a gestação (Curran et al. 1988). Com os resultados da ultrassonografia foram determinadas a prenhez e a taxa de perda de gestação entre os 30 e 90 dias, entre os 30 dias e o nascimento, e entre 90 dias e o nascimento.

As vacas foram divididas aleatoriamente em três grupos (Fig.1). O Grupo VACMULT, composto por 250 vacas, recebeu a vacina contra IBR/BVDV/leptospirose (*Leptospira canicola*, *L. grippotyphosa*, *L. hardjo*, *L. icterohaemorrhagiae* e *L. pomona*). O VACL, composto 245 vacas recebeu a vacina contra

leptospirose (*Leptospira canicola*, *L. grippityphosa*, *L. hardjo*, *L. icterohaemorrhagiae* e *L. pomona*)⁸. O NOVAC composto por 270 vacas não vacinadas foi utilizado como controle. Nenhuma vaca dos grupos VACMULT, VACL e NOVAC havia sido vacinada com as vacinas usadas no experimento.

Todas as vacas também foram vacinadas contra febre aftosa, durante o diagnóstico de gestação de 30 dias após a inseminação, conforme foi estabelecido pela Defesa Sanitária Animal do estado, em novembro de 2011, estabelecido pelo Programa Nacional de Erradicação de Febre Aftosa (PNEFA) devido a um foco de febre aftosa no Paraguai. O rebanho da fazenda Seriema é saneado para brucelose. As vacas recebem apenas a vacina contra aftosa e vermífugo.

No D0 da IATF foram coletadas amostras de sangue total de 57 vacas de cada grupo, escolhidas aleatoriamente, totalizando 171 vacas, para exame de soroglutinação para leptospirose e de soroneutralização para BoHV-1 e BVDV⁹. Como ponto de corte para as reações sorológicas serem consideradas positivas, adotaram-se os títulos: ≥ 100 para leptospirose, ≥ 8 para BoHV-1 e ≥ 16 para BVDV (Aono et al. 2012, Pereira et al. 2013).

Experimento 2. Para avaliar o efeito de diferentes protocolos de vacinação em vacas submetidas a programas de IATF foram testados dois protocolos em vacas múltiparas, denominados protocolo VACGEST e VACPREV (Fig.2). O protocolo VACGEST, considerado como controle, foi o preconizado pela empresa fabricante dos produtos, e o protocolo VACPREV foi proposto por este trabalho visando aumentar a proteção no início da gestação, após a IATF em vacas múltiparas. Foram consideradas apenas vacas múltiparas paridas que participaram de um programa de IATF entre novembro de 2011 a janeiro de 2012. Foram usadas as vacinas contra IBR/BVDV/leptospirose e somente contra leptospirose no protocolo VACGEST em 99 vacas no D0 do protocolo de IATF e uma segunda dose durante o diagnóstico de gestação 30 dias após inseminação artificial (DG30), comparando com o protocolo VACPREV, com 98 vacas, que usa a primeira dose também no D0 e uma segunda dose no dia da IA (D11). Todas as vacas deste experimento foram vacinadas contra febre aftosa durante o diagnóstico de gestação de 30 dias.

O índice de prenhes e de perdas dos dois experimentos foram analisados seguindo-se uma análise de regressão "logit" com intercepto aleatório, utilizando-se o procedimento GLIMMIX (com aproximação Satterthwaite para determinar os graus de liberdade do denominador para efeitos fixos) do SAS v.9.4¹⁰. A opção LSMEANS (com opção ilink e pdiff) foi utilizada para gerar as previsões de médias e comparar as médias de tratamentos. A vaca foi utilizada como unidade experimental e o modelo utilizado continha os efeitos fixos de escore corporal, das vacinações e dos protocolos, e o efeito aleatório de grupo avaliado. Para todas as análises estatísticas a significância foi declarada quando $P < 0,05$ e a tendência quando $P > 0,05$ e $< 0,10$.

⁸ Zoetis Indústria de Produtos Veterinários Ltda., Rua Luiz Fernando Rodrigues, 1701, Campinas, SP 13064-798, Brazil.

⁹ Exames realizados no Laboratório de Leptospirose e no Laboratório de Virologia Animal do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva, Universidade Estadual de Londrina, Paraná.

¹⁰ SAS Institute Inc., Cary, NC, USA.

RESULTADOS

As análises do perfil sorológico das vacas múltiparas aqui avaliadas mostrou taxas de infecção para BoHV-1, BVDV e leptospirose de 49,4%, 88,3%, 90%, respectivamente (Quadro 1). O perfil sorológico também foi comparado com o resultado de outros estudos (Quadro 2).

Os resultados de perdas reprodutivas nos grupos vacinados e não vacinado estão no Quadro 3. No diagnóstico de gestação realizado aos 30 e 90 pós IA, a gestação não diferiu estatisticamente ($P>0,05$) nos grupos VACMULT, VACL E NOVAC. A taxa de perda de gestação entre os ultrassons de 30 e 90 dias também não foi diferente estatisticamente, mesmo a perda de gestação sendo de 4,9% menor no grupo VACMULT em relação ao grupo não NOVAC, e a perda de gestação sendo de 5,3% menor no grupo VACL em relação ao grupo não vacinado. A perda de gestação diagnosticada do DG de 30 ao nascimento também não teve diferença significativa, do DG de 90 e o nascimento novamente a diferença não foi significativa, mesmo a perda de gestação sendo 7,1 % menor nas vacas VACL em relação as VACMULT, e a perda de gestação sendo 3,3% menor nas vacas do grupo NOVAC em relação as VACMULT.

Experimento 2 Comparamos dois protocolos de vacinações e analisamos a porcentagem mais provável de prenhes ou perda gestacional em vacas submetidas às vacinas contra IBR/BVDV/leptospirose e somente contra leptospirose. Os resultados desta comparação estão descritos no Quadro 4.

Não houve diferença significativa entre a porcentagem mais provável de gestação no protocolo VACGEST (vacinações no D0 e D30) e o protocolo VACPREV (vacinações no D0 e DG11), mesmo a gestação sendo 19,2% maior nas vacas que receberam o protocolo VACPREV ($p=0,174$) no DG de 90 dias.

DISCUSSÃO

Os títulos de anticorpos encontrados para BoHV-1, BVDV e *Leptospira* sp demonstram que as infecções por estes agentes ocorrem no rebanho estudado. Os percentuais de títulos observados (49,4%, 81,30% e 90%, respectivamente) condizem com infecção ativa. Coeficientes elevados destas infecções em rebanhos bovinos no Brasil são descritos por outros autores (Junqueira et al. 2006, Aono et al. 2013, Pereira et al. 2013) conforme o quadro 2.

Nos três trabalhos citados os autores utilizaram o mesmo ponto de corte do presente estudo para as reações sorológicas, entretanto os rebanhos ou a amostra, possuíam características distintas. Os coeficientes encontrados por Aono et al 2013, variaram de 94,7% a 49,1% para BoHV-1, de 68,4% a 49,1% para BVDV e de 64,1% a 87,7% para *Leptospira* sp.. Ressalta-se que as vacas ($n=171$) eram primíparas ($n=90$) e múltiparas ($n=81$) e 133 delas vacinadas semestralmente contra leptospirose, e as amostras colhidas eram provenientes de 14 propriedades. Junqueira et al. (2006) avaliou um rebanho de bovinos de corte do estado de SP, em que o manejo reprodutivo consistia de inseminação artificial e repasse com touro e encontrou os seguintes coeficientes de prevalência: 81,8% para BoHV-1, 98,9% para BVDV e 79,5% para *Leptospira* sp. Em estudo realizado em vacas girolandas não vacinadas ($n=84$) (Pereira et al. 2013), os coeficientes de bovinos soropositivos para BoHV-1, BVDV e *Leptospira* sp., foram respectivamente 100%, 52,4% e 45,2%. Quando foram avaliadas vacas vacinadas ($n=62$) que receberam

uma dose de vacina para BoHV-1 e BVDV e 3 doses de vacinas para *Leptospira* sp os coeficientes de soropositividade foram de 98%, 49% e 43% indicando que infecção ativa e a vacinação induzem títulos semelhantes.

Nas condições em que o presente estudo foi realizado não houve diferença significativa entre os grupos de vacas vacinadas e não vacinadas. Os resultados encontrados foram independentes do estado nutricional e do ECC das vacas. A ausência de efeito da vacinação pode ser explicada pelo delineamento experimental, que incluiu apenas vacas múltíparas, as quais estão expostas aos diferentes agentes infecciosos por maior período de tempo e portanto, possuem título de anticorpos protetores ou imunidade de memória maiores em relação a primíparas. Conforme mencionado anteriormente a infecção ativa e a vacinação induzem títulos semelhantes (Pereira et al. 2013). Outro estudo (n=277) realizado em rebanho de corte no MS (Aono et al. 2013) menciona que a vacinação contra BoHV-1, BVDV e *Leptospira* sp. diminuiu as perdas reprodutivas, na categoria de primíparas ($P \leq 0,03$).

Os resultados do presente estudo são iguais, quando comparamos com o grupo apenas de múltíparas, aos do estudo acima mencionado (Aono et al. 2013) que também comparou vacas múltíparas paridas de corte (n= 2.142) não imunizadas com vacas vacinadas de diferentes fazendas. Os autores concluíram que a gestação, entre o diagnóstico de 30 dias e o de 120 dias, não foi significativamente diferente ($P \leq 0,43$) nas fazendas que realizavam a vacinação contra BoHV-1, BVDV e *Leptospira* sp., quando comparadas com as que não vacinavam ou imunizavam apenas contra leptospirose semestralmente. Embora os dados sugiram que a vacinação em primíparas reduza as perdas econômicas causadas por essas doenças nas propriedades estudadas, deve-se considerar que esses dados não podem ser extrapolados para todas as propriedades do MS, se a prevalência das infecções for elevada nas primíparas, com infecção ativa, o efeito esperado é o mesmo do nosso estudo. Os resultados do nosso estudo, avaliando somente múltíparas, de uma única fazenda, submetidas ao mesmo ambiente com igual manejo, portanto sujeitas a desafios iguais em relação aos patógenos que afetam a reprodução, demonstram que as diferenças entre as perdas de gestação dos grupos vacinados com o não vacinado não foram significativas. Esses dados evidenciam que nas condições de realização do experimento a vacinação não é um procedimento sanitário indicado para as múltíparas.

O resultado do experimento 2 desse estudo mostrou que podemos usar dois protocolos de vacinação, o protocolo VACGEST (vacinações no D0 e D30) e o VACPREV (vacinações no D0 e D11) o que facilitaria o planejamento das vacinações, principalmente em fazendas que não realizam o diagnóstico de gestação 30 dias após a IATF. Trabalhos anteriores mostram que as perdas de gestação são menores quando aplicamos a primeira dose das vacinas no mínimo 30 dias antes do início do protocolo de IATF e uma segunda dose no primeiro dia do protocolo da IATF (Aono et al. 2013, Pereira et al. 2013), no entanto quando fazemos IATF em vacas de corte lactantes elas estão com aproximadamente 30 a 45 dias de paridas, logo teríamos que aplicar a primeira dose das vacinas em vacas no final da gestação ou recém paridas, o que poderia acarretar abortos ou morte de bezerros recém nascidos devido ao manejo (Antoniassi et al. 2013).

Os dados obtidos neste relato indicam que as vacinas contra IBR, BVDV e leptospirose e somente contra leptospirose não interferiram na performance reprodutiva de vacas multíparas de bovinos de corte nessas condições. O esquema de vacinas contra doenças da esfera reprodutiva nos dias D0 e D11 do protocolo de IATF mostrou que estatisticamente não tem diferenças com relação ao protocolo padrão de vacinas reprodutivas para multíparas de corte primovacinadas.

REFERÊNCIAS

- Antoniassi N.A.B., Juffo G.D., Santos A.S., Pescador C.A., Corbellini L.G. & Driemier D. 2013. Causas de aborto bovino diagnosticadas no Setor de Patologia Veterinária da UFRGS de 2003 a 2011. *Pesq. Vet. Bras.* 33(2):155-160.
- Aono F.H., Cooke R.F., Alfieri A.A. & Vasconcelos J.L.M. 2013. Effects of vaccination against reproductive diseases on reproductive performance of beef cows submitted to fixed-timed AI. *Theriogenology* <<http://dx.doi.org/10.1016/j.theriogenology.2012.08.008>>
- Corbellini L.G., Pescador C.A., Frantz F., Wunder E., Steffen D.J., Smith D.R. & Driemeier D. 2006. Diagnostic survey of bovine abortion with special reference to *Neospora caninum* infection: Importance, repeated abortion and concurrent infection in aborted fetuses in southern Brazil. *Vet. J.* 172(1):114-120.
- Curran S., Pierson R. A., & Ginther O. J.. 1986. Ultrasonographic appearance of the bovine conceptus from days 20 through 60. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 189:1295-1302.
- Junqueira J.R.C., Freitas J.C., Alfieri A.F. & Alfieri A.A. 2006. Avaliação do desempenho reprodutivo de um rebanho bovino de corte naturalmente infectado com BoHV-1, BVDV e *Leptospira hardjo*. *Semina, Ciênc. Agrárias* 27(3)471-480.
- Pereira M.H.C., Cooke R.F., Alfieri A.A. & Vasconcelos J.L.M. 2013. Effects of vaccination against reproductive on reproductive performance of lactating dairy cows submitted to IA. *Anim. Reprod. Sci.* 137(2013)156-162.
- PNEFA - Programa nacional de erradicação da febre aftosa. 2005. Orientações para fiscalização do comercio de vacinas contra febre aftosa e para controle e avaliação das etapas de vacinação . PNEFA. p.2-3.
- Santos J.E.P., Thatcher W.W., Chebel R.C., Cerri R.L.A. & Galvão K.N. 2004. The effect of embryonic death rates in cattle on the efficacy of estrus synchronization programs. *Anim. Reprod. Sci.* 82:513-535.
- Wagner, J. J., K. S. Lusby, J. W. Oltjen, J. Rakestraw, R. P. Wettemann, & L. E. Walters. 1988. Carcass composition in mature Hereford cows: Estimation and effect on daily metabolizable energy requirement during winter. *J. Anim. Sci.* 66:603-612.

Legenda para a Figura

Fig.1. Delineamento experimental dos protocolos de IATF e de vacinações dos experimentos 1.

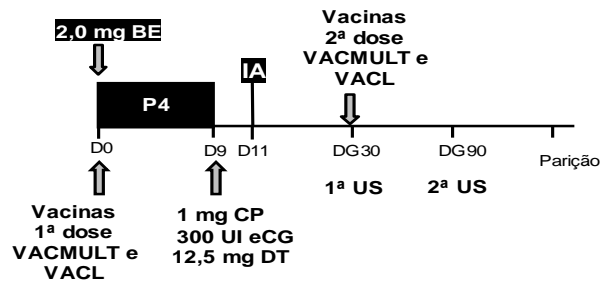
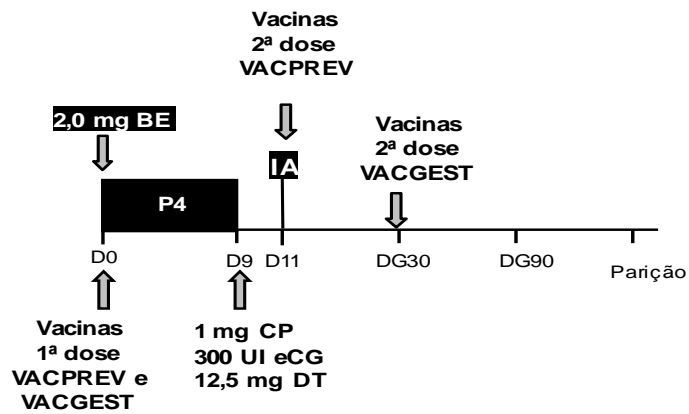


Fig.2. Delineamento experimental dos protocolos de IATF e de vacinações dos experimentos 2.



Quadro 1. Porcentagem de total de amostras com presença de anticorpos contra o BoHV-1, BVDV e *Leptospira hardjo*

Paogeno	Titulo	Numero de bovinos	%
BoHV-1	Negative (<8)	86	50.6
	Positive (≥8)	84	49.4
	8-64	69	40.6
	≥64	15	8.8
BVDV	Negative (<16)	20	11.7
	Positive (≥16)	151	88.3
	16-64	55	32.2
	>64	96	56.1
<i>Leptospira hardjo</i>	Negative (<100)	17	10.0
	Positive (≥100)	153	90.0
	100-200	37	21.8
	≥200	116	68.2

Quadro 2. Comparação de títulos, entre artigos, encontrados na soroaglutinação para leptospirose e soroneutralização para BoHV-1 e BVDV.

Patógenos	Ferreira et al. 2015^a	Junqueira et al. 2006^b	Aono et al.2013^c	<i>Pereira et al.</i> 2013^d
BoHV1	49,4	81,8	94,7 a 49,1	100 e 98
BVDV	81,3	98,8	68,4 a 49,1	52,4 e 49
Leptospirose	90,0	79,5	64,1 a 87,7	45,2 e 43

Para as reações serem consideradas positivas, adotaram-se os títulos ≥ 100 para leptospirose, ≥ 8 para BoHV-1 e ≥ 16 para BVDV.^a Títulos encontrados nesse artigo, ^b Títulos encontrados em criação extensiva de corte no estado de São Paulo, ^c Títulos encontrados em criação extensiva de corte em Mato Grosso do Sul, ^d Títulos encontrados em gado de leite, sendo a primeira coluna de vacas Girolandas não vacinadas e a segunda coluna de vacas Girolandas vacinadas contra BoHV-1 com 1 dose, BVDV com 1 dose e leptospirose 3 doses.

Quadro 3. Porcentagem mais provável de prenhes ou perda de gestação em vacas submetidas as vacinas contra IBR/BVDV/leptospirose (VACMULT) e somente contra leptospirose (VACL) e não vacinadas (NOVAC)

Características	VACMULT ^a	VACL ^b	NOVAC ^c	Valor -p ^d
P30 ^e	56.7±3.39	47.8±3.34	53.9±3.48	0.461
P90 ^e	59.9±3.43	52.6±3.44	54.9±3.58	0.545
Parição ^f	65.0±3.30	72.4±3.02	69.6±3.30	0.516
Perda 30 p/ 90DPI ^g	8.6±2.59	8.2±2.6	13.5±3.6	0.251
Perda 30-DPI/parição ^h	17.5±2.62	7.76±1.78	10.4±2.20	0.298
Perda 90-DPI/parição ⁱ	14.5±2.43	7.4±1.74	11.2±2.33	0.384

Não houve diferença significativa em nenhuma das médias. ^a Vacas vacinadas contra IBR/BVDV/leptospirose, ^b Vacas vacinadas contra leptospirose, ^c Vacas não vacinadas, ^d Valor de p, ^e Porcentagem mais provável de prenhes com 30 e 90, ^f Porcentagem mais provável de vacas que pariram, ^g Porcentagem mais provável de perda de gestação entre o DG de 30 e 90 dias, ^h Porcentagem mais provável de perda de gestação entre o DG de 30 dias e a parição, ⁱ Porcentagem mais provável de perda de gestação entre o DG de 90 dias e a parição.

Quadro 4. Porcentagem mais provável de prenhes ou perda de gestação em vacas submetidas as vacinas contra IBR/BVDV/leptospirose e somente contra leptospirose , comparando diferentes protocolos

Características	VACGEST ^a	VACPREV ^b	Valor- <i>p</i> ^c
	(D0 e 30 DPI)	(D0 e D11)	
P30 ^d	47.9±3.90	56.4±3.78	0.357
P90 ^d	40.6±3.84	59.8±3.77	0.174
Parição ^e	70.6±3.61	80.3±3.04	0.279
Perda 30 p/90 ^f	7.13±2.02	8.39±2.16	0.723
Perda 30-DPI p/pariçãog	8.37±2.19	8.97±2.21	0.875
Perda 90-DPI p/ pariçãoh	5.98±1.85	8.26±2.15	0.551

Não houve diferença significativa em nenhuma das médias. ^a Aplicação da vacinas A e B no primeiro dia do protocolo da IATF (D0) e 30 dias após a IA (DG30), ^b Aplicação da vacinas A e B no primeiro dia do protocolo da IATF (D0) e no dia da IATF (D11), ^c Valor de *p*, ^d Porcentagem mais provável de prenhes com 30 e 90, ^e Porcentagem mais provável de vacas que pariram, ^f Porcentagem mais provável de perda de gestação entre o DG de 30 e 90 dias, ^g Porcentagem mais provável de perda de gestação entre o DG de 30 dias e a parição, ^h Porcentagem mais provável de perda de gestação entre o DG de 90 dias e a parição.

3 ARTIGO 2

**Efeito da vacina contra febre aftosa no desempenho reprodutivo em vacas de
corte *Bos indicus***

L. C. L. Ferreira, R. F. Cooke, R. S. Marques, H. J. Fernandes, C. E. Fernandes, R.
Stelato, G. L. Franco, and R. A. A. Lemos

(Artigo aceito em 30/11/15 para publicação na revista : Journal of Animal Science)

Running Head: Vaccination and pregnancy loss in beef cattle

Effects of vaccination against foot-and-mouth disease virus on reproductive performance of *Bos indicus* beef cows¹

L. C. L. Ferreira,* R. F. Cooke,† R. S. Marques,† H. J. Fernandes,‡ C. E. Fernandes,§ R. Stelato,# G. L. Franco,* and R. A. A. Lemos*

* Universidade Federal de Mato Grosso do Sul - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campo Grande 79074-460, Brazil

† Oregon State University - Eastern Oregon Agricultural Research Center, Burns, OR 97720

‡ Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul – Unidade Universitária de Aquidauana, Aquidauana 79200-000, Brazil

§ Universidade Federal de Mato Grosso do Sul - Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Campo Grande 79074-460, Brazil

Laboratório Zoetis Ltda., Campo Grande 79074-460, Brazil

¹ Corresponding author: reinaldo.cooke@oregonstate.edu. Dr. Reinaldo Cooke is also affiliated as graduate professor to the Programa de Pós-Graduação em Zootecnia / Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, UNESP - Univ. Estadual Paulista, Botucatu, SP, Brazil, 18618-970.

ABSTRACT: The study compared reproductive performance of *Bos indicus* cows vaccinated against the foot-and-mouth-disease (**FMD**) virus prior to timed-AI or during early pregnancy (Exp. 1), as well as rectal temperature (**RT**) and plasma concentrations of the acute-phase protein haptoglobin in cattle vaccinated or not against the FMD virus (Exp. 2). Cattle utilized in Exp. 1 and 2 were originated from herds with no historical occurrences of FMD, and that received vaccination against the FMD virus biannually. In Exp. 1, 604 lactating, multiparous, non-pregnant Nelore cows were randomly assigned on d -31 of the experiment to receive: 1) **VACPRE** = vaccination against FMD virus on d -31 (n = 291), and 2) **VACGEST** = vaccination against FMD virus on d 30 (n = 313). From d -11 to 0, all cows were assigned to an estrus synchronization + timed-AI (d 0) protocol. Pregnancy status to AI was verified on d 30 and 90 via transrectal ultrasonography. A treatment \times day interaction was detected ($P < 0.01$) for pregnancy rates to AI, which were similar ($P = 0.17$) between VACPRE and VACGEST on d 30 (61.8 vs. 56.2%, respectively; SEM = 2.8), but greater ($P < 0.01$) for VACPRE on d 90 (59.4 vs. 46.9%, respectively; SEM = 2.8). Pregnancy loss from d 30 to 90 was greater ($P < 0.01$) in VACGEST compared with VACPRE (16.5 vs. 3.9%, respectively; SEM = 2.2). In Exp. 2, 40 pregnant Nelore females (20 nulliparous and 20 multiparous cows; BCS = 4.73 ± 0.12) were ranked by parity and assigned to receive (**VAC**; n = 20) or not (**NOVAC**; n = 20) vaccination against FMD virus. Blood samples were collected and RT recorded prior to (h 0) and 24, 72, 120, and 168 h after treatment administration. Treatment \times day interactions were detected ($P < 0.01$) for RT and plasma haptoglobin. The RT was greater ($P < 0.01$) in VAC compared with NOVAC at 24 h after treatment administration, and similar ($P \geq 0.31$) between treatments at all other sampling hours. Plasma haptoglobin concentration was similar ($P = 0.98$) between VAC and NOVAC prior to treatment administration ($P = 0.48$), and greater ($P < 0.01$) in VAC at 24, 72, 120, and 168 h after treatment administration. In summary, vaccinating *B. indicus* beef cows against FMD virus resulted in a 4-fold increase

in pregnancy loss when the vaccine was administered 30 d after timed-AI compared with 31 d prior to timed-AI. These outcomes can be associated with inflammatory and acute-phase reactions elicited by the FMD vaccine, which are known to impair pregnancy maintenance in cattle.

Key Words: Acute-phase response, beef cattle, foot-and-mouth disease, inflammation, pregnancy loss

RESUMO: O presente estudo compara o desempenho reprodutivo de vacas *Bos indicus* vacinadas contra febre aftosa antes da IATF e durante a gestação precoce (Exp. 1), como também a temperatura retal (**TR**) e a concentração plasmática da haptoglobina, uma proteína de fase aguda, em vacas vacinadas e não vacinadas contra febre aftosa (Exp. 2). O gado utilizado no Exp. 1 e 2 são originados de rebanhos sem o histórico da ocorrência de febre aftosa, e vacinado de 6 em 6 meses contra febre aftosa. No Exp. 1, 604 multíparas paridas, não gestantes da raça Nelore foram distribuídas aleatoriamente no dia d -31 do experimento para receber: 1) **VACPRE** = vacinação contra febre aftosa no dia d -31 (n = 291), e 2) **VACGEST** = vacinação contra febre aftosa no dia d 30 (n = 313). Do d -11 ao 0, todas as vacas participaram de um protocolo de inseminação artificial em tempo fixo (d 0). O diagnóstico de gestação por ultrassonografia transretal foi realizado nos dias d 30 e 90 após IA. A interação do dia x tratamento foi detectada ($P < 0.01$) para o índice de fertilidade da IA, que foram similares ($P = 0.17$) entre VACPRE e VACGEST no d 30 (61.8 vs. 56.2%, respectivamente; SEM = 2.8), mas maior ($P < 0.01$) para VACPRE no d 90 (59.4 vs. 46.9%, respectivamente; SEM = 2.8). a perda de gestação de d 30 para 90 foi maior ($P < 0.01$) no VACGEST comparado com VACPRE (16.5 vs. 3.9%, respectivamente; SEM = 2.2). No Exp. 2, 40 fêmeas da raça Nelore (20 nulíparas e 20 multíparas ; ECC = 4.73 ± 0.12) foram classificados por categoria e designadas para receber (**VAC**; n = 20) ou não (**NOVAC**; n = 20) a vacinação contra febre aftosa. Amostras de sangue foram coletadas e a TR medida antes

da (h 0) e 24, 72, 120, e 168 hs depois da aplicação da vacina. Interação do dia x tratamento foi detectada ($P < 0.01$) para haptoglobina plasmática e TR. A TR foi maior ($P < 0.01$) na VAC comparada com a NOVAC até 24 h depois da aplicação da vacina, e não variou entre os tratamentos em todas as outras horas da amostragem ($P \geq 0.31$). A concentração plasmática de haptoglobina foi similar ($P = 0.98$) entre VAC e NOVAC antes da aplicação da vacina ($P = 0.48$), e maior ($P < 0.01$) no VAC até 24, 72, 120, e 168 h depois da aplicação da vacina . Em resumo , a vacinação de vacas *B. indicus* contra febre aftosa resultou num aumento de 4 vezes a perda de gestação quando aplicada 30 d depois da IATF comparado com 31 d antes da IATF. Estes resultados podem ser associados as reações inflamatórias e de fase aguda induzidos pela vacina contra febre aftosa, que são sabidamente responsáveis por dificultar a manutenção da gestação em bovinos.

Palavras chave: Resposta de fase aguda, gado de corte, febre aftosa, inflamação, perda de gestação

INTRODUÇÃO

A febre aftosa é uma doença viral grave, altamente contagiosa que afeta animais biungulados (Grubman and Baxt, 2004), e tem sido reconhecida como uma importante enfermidade que interfere no comércio internacional de produtos e subprodutos animal (Leforban, 1999). Embora a febre aftosa tenha sido erradicada na América do Norte e Europa Ocidental, ainda é uma doença endêmica na África, América do Sul, e Ásia (USDA-APHIS, 2013). A vacinação contra febre aftosa reduziu os focos da doença em várias partes do mundo (Brown, 1992; Kahn et al., 2002); portanto, a vacinação é uma estratégia comum, e muitas vezes obrigatória, para combater a febre aftosa em regiões onde a doença é endêmica (Rodriguez and Gay, 2011).

Perda de gestação precoce, particularmente no primeiro trimestre de gestação, é um importante desafio nos sistemas produtivos de cria (Humbolt, 2001). Assim, estratégias para diminuir perdas de gestação precoce são importantes para a eficiência reprodutiva e produtiva nos sistemas de cria. A maioria das vacinas contra febre aftosa utilizadas mundialmente, contém cepas virais inativadas e um adjuvante à base de óleo para estimular uma maior resposta imunológica (Rodriguez and Grubman, 2009). Em geral, os adjuvantes induzem respostas imunes inatas associadas com a apresentação de antígenos as células de linfócitos T, incluindo as reações inflamatórias de fase aguda (Tizard, 2004; Rodrigues et al., 2015) que sabidamente podem provocar perdas de gestação em bovinos (Hansen et al., 2004). Com base nesse raciocínio, temos a hipótese de que a vacinação contra febre aftosa estimula uma reação de proteínas de fase aguda durante a gestação precoce, que resulta no aumento de perda de gestação precoce em bovinos vacinados. Para testar essa hipótese elaboramos o experimento 1, onde avaliamos o desempenho reprodutivo de vacas *Bos indicus* vacinadas contra febre aftosa antes da IATF ou durante a gestação precoce, enquanto que no experimento 2 comparou se a temperatura retal e uma proteína de fase aguda, a haptoglobina, em bovinos vacinados e não vacinados contra febre aftosa.

MATERIAIS E MÉTODOS

O experimento 1 foi realizado em uma fazenda de cria, recria e engorda na região de Miranda, MS, Brasil, os bovinos foram manejados de acordo com as práticas descritas no *Guide for the Care and Use of Agricultural Animals in Agricultural Research and Teaching* (FASS, 2010). Experimento 2 foi conduzido na fazenda escola da Universidade Federal do Mato Grosso do Sul, localizada em Terenos, MS, Brasil, os bovinos foram tratados e manejados de acordo com protocolos aprovados pelo comitê de ética da Universidade Federal do Mato Grosso do Sul (Protocolo nº 702/2015). O gado utilizado nos experimentos 1 e 2 são oriundos de rebanhos sem histórico de ocorrência de febre aftosa, com vacinação de 6 em 6

meses em bovinos até 24 meses e uma vez ao ano em bovinos adultos. Além disso, todos bovinos utilizados nos experimentos foram vacinados contra febre aftosa 6 meses antes do início de cada experimento.

Experimento 1

Animais e tratamentos. Um total de 604 vacas multíparas paridas, não gestantes, da raça Nelore (com aproximadamente 65 a 95 dias pós parto; ECC = 3.85 ± 0.05 de acordo com Wagner et al., 1988), mantidos em 2 grupos um com 291 e outro com 313 vacas em cada tratamento (d -31 para d 90 em relação a IATF). Os grupos foram mantidos em um pasto de *Brachiaria brizanta* com livre acesso a água e um suplemento mineral (DSM Produtos Nutricionais Brasil, São Paulo, SP, Brazil), independente do resultado alcançado. No d -31 do experimento as vacas foram distribuídas aleatoriamente em cada grupo, e receberam: 1) **VACPRE** = vacinação contra febre aftosa (5 mL s.c. de Ourovac Aftosa; Ourofino Saúde Animal, Cravinhos, SP, Brazil) no d -31 do experimento, e 2) **VACGEST** = vacinação contra febre aftosa (5 mL s.c. de Ourovac Aftosa; Ourofino Saúde Animal) no d 30 do experimento (30 dias após a IATF).

No d -11, Os grupos foram submetidos a um protocolo de IATF (Meneghetti et al, 2009; d -11 para 0). Mais especificamente, as vacas receberam uma aplicação de 2 mg (i.m.) de benzoato de estradiol (Gonadiol; Zoetis, São Paulo, SP, Brazil) e um dispositivo intravaginal de progesterona (**CIDR**, contendo originalmente 1.9 g de progesterona; Zoetis) no d -11, uma aplicação de 12.5 mg (i.m.) de PGF_{2α} (Lutalyse; Zoetis), remoção do CIDR, mais a aplicação de 0.6 mg (i.m.) de cipionato de estradiol (ECP; Zoetis) e 300 IU (i.m.) de eCG (Novormon, Zoetis) no d -2, e IATF no d 0. Dentro de cada grupo as vacas foram inseminadas com sêmen do mesmo touro e a distribuição das vacas por inseminador foi a mesma dentro de cada tratamento.

Amostragens. O ECC das vacas (Wagner et al., 1988) foram avaliados no d 0 da IATF. A viabilidade do conceito foi verificada no d 30 e 90 dos experimentos através da ultrassonografia transretal (5.0-MHz transdutor; Chison 600, Chison Medical Imaging Co., Ltd., Wuxi City, Jiang Su Province, China). As vacas foram expostas ao touro (relação de 1/25) 16 dias após a IATF (por 50 dias) e essa gestação não pode ser detectada pelo ultrassom no d 30. As vacas que estavam gestantes no d 30 dias, e depois de 60 dias, no d 90 não estavam mais gestantes, foram consideradas como tendo perdido a gestação (Curran et al., 1986).

Análise estatística. Os dados quantitativos foram analisados pelo PROC MIXED e os binários pelo GLIMMIX do SAS (SAS Inst., Inc.; version 9.3) e aproximação Satterthwaite para determinar os graus de liberdade do denominador para efeitos fixos, usando a vaca como unidade experimental e vaca (tratamento x categoria) como variável aleatória. No modelo estatístico usado o ECC da vaca no d 0 e perda de gestação continham como efeitos fixos os tratamentos, as categorias e as interações resultantes. O modelo estatístico usado para análise do índice de fertilidade da IATF continha os efeitos de tratamento, categoria, dia do diagnóstico de gestação e todas as interações resultantes. Os resultados são apresentados como média dos quadrados mínimos e separados usando o LSMEANS. A significância foi declarada quando $p < 0,05$ e as tendências foram declaradas se $0,05 < p < 0,10$. Os resultados foram apresentados de acordo com os efeitos de tratamento se nenhuma interação foi significativa, ou de acordo com a interação de maior ordem detectada.

Experimento 2

Animais e tratamentos. Um total de 40 fêmeas da raça Nelore, sendo 20 novilhas e 20 multíparas, foram escolhidas para o experimento (ECC = 4.73 ± 0.12 de acordo com Wagner et al., 1988). Todas as fêmeas foram mantidas em pasto de *B. brizanta* com livre acesso a água e suplemento mineral (DSM Produtos Nutricionais Brasil). No início do experimento (d

0), as vacas foram classificadas de acordo com sua categoria e designadas a receber: 1) **VAC** = vacinação contra febre aftosa (5 mL s.c. de Ourovac Aftosa; Ourofino Saúde Animal) no d 0, e 2) **NOVAC** = não vacinadas contra febre aftosa no d 0.

Amostragem. A temperatura retal foi medida (termômetro digital G-Tech ; G-Tech; São Paulo, SP, Brazil) e amostra de sangue coletada imediatamente a (0 h) e 24, 72, 120, e 168 hs depois da vacinação. O sangue foi coletado através da punção da jugular em tubos específicos (Vacutainer, 10 mL; Becton Dickinson, Franklin Lakes, NJ) com 158 USP unidades de heparina sódica, refrigeradas e centrifugadas ($2,500 \times g$ por 30 min; 4°C), no mesmo dia da colheita o plasma foi congelado a -20°C . Todas as amostras de plasma foram analisadas segundo a concentração plasmática de haptoglobina de acordo com os procedimentos colorimétricos descritos por Cooke and Arthington (2013). O CV intra e inter ensaio foram respectivamente, 2.4 e 7.6%.

Análises estatísticas. Os dados foram analisados pelo PROC MIXED do SAS (SAS Inst., Inc.; version 9.3) com aproximação Satterthwaite para determinar os graus de liberdade do denominador para efeitos fixos, usando a vacas como unidade experimental e vaca (tratamento \times categoria) como variável aleatória. O modelo estatístico usado para análise da haptoglobina plasmática e temperatura retal continha como efeito o tratamento, a categoria, hora, e as interações resultantes. O termo específico para as medidas repetidas eram hora, vaca (tratamento \times categoria) como sujeito, com base no critério de Akaike foi escolhida a estrutura de covariância auto regressiva. Os resultados são apresentados como média dos quadrados mínimos e separados usando o LSMEANS. A significância foi declarada quando $p < 0,05$ e as tendências foram declaradas se $0,05 < p < 0,10$. Os resultados foram apresentados de acordo com os efeitos de tratamento se nenhuma interação foi significativa, ou de acordo com a interação de maior ordem detectada.

RESULTADOS

Experimento 1

Não houve diferenças de ECC ($p=0,87$) das vacas no dia zero (d 0) do protocolo de IATF (3,87x 3,84 de ECC para VACPRE x vacas VACGEST; EMS = 0,10). As gestações (Tabela 1) foram semelhantes ($p=0,17$) durante o diagnóstico de gestação de 30 dias pós IATF. No diagnóstico de gestação 90 dias pós IATF, a gestação no grupo VACPRE foi maior ($p<0.01$) em comparação com as vacas VACGEST.

A perda de gestação entre o diagnóstico de gestação de 30 e 90 dias foi maior no grupo VACGEST ($P<0,01$) do que no grupo VACPRE (Tabela 1).

Experimento 2

No experimento 2 a interação dia x tratamento foi verificada ($P < 0.01$) para a temperatura retal, que foi semelhante para as vacas dos grupos VAC e NOVAC antes da vacinação ($p=0,48$). O aumento da temperatura retal foi maior nos bovinos vacinados (VAC) contra febre aftosa que nos não vacinados (NOVAC), na leitura com 24 horas ($p<0,01$), e semelhantes ($p\geq 0,31$) em 72, 120 e 168 horas (figura 1). A concentração de haptoglobina foi semelhante ($p=0,98$) entre as vacas vacinadas (VAC) e não vacinadas (NOVAC) antes da vacinação. A interação dia x tratamento foi detectada ($P < 0.01$) para a concentração de haptoglobina, foi semelhante entre as vacas VAC e NOVAC antes da vacinação ($P = 0.48$), e maior nas vacas VAC em comparação com as NOVAC ($p<0,01$) nas dosagens com 24, 72, 120 e 168 horas após a vacinação (Figura 2).

DISCUSSÃO

Em regiões onde a febre aftosa é endêmica, as vacinações ocorrem com intervalos de 6 meses, devido a imunoproteção da vacina (Parida, 2009). Com base no ciclo reprodutivo de fêmeas bovinas (Hixon and Sanson, 2012), a estação de monta ocorre durante o período de vacinação contra febre aftosa. Embora pesquisas anteriores tenham relatado que a vacina

contra febre aftosa prejudica a produção de bovinos, incluindo a diminuição na produção de leite (Yeruham et al., 2001) e causando lesões na carcaça (Leal et al., 2014), não foram encontrados trabalhos referentes ao impacto da vacinação contra febre aftosa sobre o índice de fertilidade em bovinos. Os resultados do experimento 1 suportam a hipótese de que a vacinação contra febre aftosa, durante a gestação precoce, aumenta em quatro vezes a incidência de perda de gestação, quando comparado com a aplicação da vacina antes da IATF. Importante salientar que os resultados foram independentes do ECC das vacas, e não foi associado ao estado nutricional das vacas durante a IATF (Cooke et al., 2009).

A maioria das vacinas contra febre aftosa, utilizadas em todo mundo, contém o vírus da febre aftosa inativado e um adjuvante à base de óleo que provoca respostas inatas associadas com a apresentação de antígenos aos linfócitos de células T, incluindo reações inflamatórias de fase aguda (Tizard, 2004; Rodriguez and Grubman, 2009; Rodrigues et al., 2015). Estas respostas imunes tem sido associadas de forma negativa à manutenção da gestação (Hansen et al., 2004) e desempenho reprodutivo em geral de bovinos (Cooke et al., 2009). Mais especificamente, os adjuvantes estimulam a síntese de citosinas pró inflamatórias (Rodrigues et al., 2015), que por sua vez provocam principalmente duas respostas de fase aguda: 1 - síntese de prostaglandinas que leva a hipertermia e 2 - a alteração do metabolismo e regulação gênica do fígado, favorecendo a síntese hepática de proteínas de fase aguda como a haptoglobina (Carroll and Forsberg, 2007). As citocinas pró inflamatórias são conhecidas por influenciar a manutenção da gestação através de efeitos diretos ao embrião, reduzindo a proliferação de células do endométrio, em adição ao aumento de temperatura corporal e a síntese de $\text{PGF}_{2\alpha}$ endometrial para níveis que interrompem a gestação precoce (Hansen et al., 2004). Por outro lado a haptoglobina não tem efeitos prejudiciais à produção e reprodução bovina, embora esta proteína de fase aguda seja amplamente utilizada para monitorar as

respostas inflamatórias e de fase aguda (Horadagoda et al., 1999; Cooke and Arthington, 2013).

Apoiado nesse raciocínio, o resultado do experimento 2 demonstrou que a vacinação contra febre aftosa induziu respostas inflamatórias e de fase aguda, representada pelo aumento da temperatura retal e da concentração de haptoglobina, que estão associadas diretamente com as perdas de gestação observadas no experimento 1. Reforçando as conclusões do experimento 2, Arthington et al. (2013) e Rodrigues et al. (2015) também relataram que a aplicação de uma vacina inativada, contendo patógenos mais adjuvantes, utilizada em bovinos de corte, também levou a um aumento das concentrações plasmática de haptoglobina até 120 horas após a aplicação e esses resultados estavam associados a uma queda no desempenho dos bovinos. Importante notar que a resposta inflamatória e de fase aguda podem também prejudicar os parâmetros de fertilidade de bovinos, tais como crescimento folicular e ovulação (Peter et al., 1989; Battaglia et al., 2000; Williams et al., 2001), os quais não foram avaliados no presente experimento, embora as taxas de gestação 30 dias após a IATF tenham sido semelhantes. Tendo em conta que a vacinação contra febre aftosa, nesse experimento, manteve a concentração de haptoglobina alta por sete dias, parece plausível que as vacas devam ser vacinadas, pelo menos, uma semana antes de estação de monta, para evitar perdas de fertilidade e gestação, o que sustenta o tratamento VACPRE avaliado no experimento 1. No entanto, a investigação ainda está determinando o melhor momento para a aplicação da vacina contra febre aftosa.

A vacinação contra febre aftosa em vacas nelore resultou num aumento de quatro vezes a perda de gestação quando a vacina contra febre aftosa foi aplicada 30 dias após a IATF, em comparação com a aplicação 31 dias antes da IATF. Estes resultados podem ser associados as reações inflamatórias e de fase aguda induzidos pela vacina contra febre aftosa, que são sabidamente responsáveis por dificultar a manutenção da gestação em bovinos

(Hansen et al., 2004). Concluindo, vacas de corte não devem ser vacinadas contra febre aftosa durante a fase inicial da gestação; esta deve ser aplicada antes da estação de monta para evitar perdas de gestação precoce e otimizar a eficiência reprodutiva do rebanho.

REFERÊNCIAS

- Arthington, J. D., R. F. Cooke, T. D. Maddock, D. B. Araujo, P. Moriel, N. DiLorenzo, and G. C. Lamb. 2013. Effects of vaccination on the acute-phase protein response and measures of performance in growing beef calves. *J. Anim. Sci.* 91:1831-1837.
- Battaglia, D. F., H. B. Krasa, V. Padmanabhan, C. Viguie, and F. J. Karsch. 2000. Endocrine alterations that underlie endotoxin-induced disruption of the follicular phase in ewes. *Biol. Reprod.* 62:45-53.
- Brown, F. 1992. New approaches to vaccination against foot-and-mouth disease. *Vaccine* 10:1022–1026.
- Carroll, J. A., and N. E. Forsberg. 2007. Influence of stress and nutrition on cattle immunity. *Vet. Clin. Food. Anim.* 23:105-149.
- Cooke, R. F., and J. D. Arthington. 2013. Concentrations of haptoglobin in bovine plasma determined by ELISA or a colorimetric method based on peroxidase activity. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.* 97:531-536.
- Cooke, R. F., J. D. Arthington, D. B. Araujo, and G. C. Lamb. 2009. Effects of acclimation to human interaction on performance, temperament, physiological responses, and pregnancy rates of Brahman-crossbred cows. *J. Anim. Sci.* 87:4125-4132.
- Curran, S., R. A. Pierson, and O. J. Ginther. 1986. Ultrasonographic appearance of the bovine conceptus from days 20 through 60. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 189:1295–1302.
- FASS. 2010. Guide for the Care and Use of Agricultural Animals in Agricultural Research and Teaching. (3rd ed.). Federation of Animal Science Societies, Savoy, IL.

- Grubman, M. J., and B. Baxt. 2004. Foot-and-Mouth disease. *Clin. Microbiol. Rev.* 17:465-493.
- Hansen, P. J., P. Soto, and R. P. Natzke. 2004. Mastitis and fertility in cattle – possible involvement of inflammation or immune activation in embryonic mortality. *Am. J. Reprod. Immunol.* 51:294–301.
- Hixon, D. L., and D. W. Sanson. 2012. In *Cattle Producer’s Handbook* 3rd ed., 400. JRAAdams Publishing, Boise, ID.
- Horadagoda, N. U., K. M. Knox, H. A. Gibbs, S. W. Reid, A. Horadagoda, S. E. Edwards, and P. D. Eckersall. 1999. Acute phase proteins in cattle: Discrimination between acute and chronic inflammation. *Vet. Rec.* 144:437–441.
- Humbolt, P. 2001. Use of pregnancy specific proteins and progesterone assays to monitor pregnancy and determine the timing, frequencies and sources of embryonic mortality in ruminants. *Theriogenology* 56:1417–1433.
- Kahn, S., D. W. Geale, P. R. Kitching, A. Bouffard, D. G. Allard, and J. R. Duncan. 2002. Vaccination against foot-and-mouth disease: The implications for Canada. *Can. Vet. J.* 43:349–354.
- Leal, P.V., R. C. Pupin, A. C. Santos, T. C. Faccin, E. Surdi, C. R. B. Leal, R. C. Brumatti, and R. A. A. Lemos. 2014. Estimates of economic losses caused by local granulomatous reaction after use of an oily vaccine against FMD in cattle of Mato Grosso do Sul. *Pesq. Vet. Bras.* 34:738-742.
- Leforban, Y. 1999. Prevention measures against foot-and-mouth disease in Europe in recent years. *Vaccine* 17:1755–1759.
- Meneghetti, M., O. G. Sa Filho, R. F. G. Peres, G. C. Lamb, and J. L. M. Vasconcelos. 2009. Fixed-time artificial insemination with estradiol and progesterone for *Bos indicus* cattle: I. Basis for development of protocols. *Theriogenology* 72:179-189.

- Parida, S. 2009. Vaccination against foot-and-mouth disease virus: strategies and effectiveness. *Expert Rev. Vaccin.* 8:347–365.
- Peter, A. T., W. T. K. Bosu, R. J. DeDecher. 1989. Suppression of preovulatory luteinizing hormone surges in heifers after intrauterine infusions of *Escherichia coli* endotoxin. *Am. J. Vet. Res.* 50:368-373.
- Rodrigues, M. C., R. F. Cooke, R. S Marques, B. I. Cappellozza, S. A. Arispe, D. H. Keisler, and D. W. Bohnert. 2015. Effects of vaccination against respiratory pathogens on feed intake, metabolic, and inflammatory responses in beef heifers. *J. Anim. Sci.* doi:10.2527/jas2015-9277.
- Rodriguez, L. L., and C. G. Gay. 2011. Development of vaccines toward the global control and eradication of foot-and-mouth disease. *Expert Rev. Vaccines* 10:377–387.
- Rodriguez, L. L., and M. J. Grubman. 2009. Foot and mouth disease virus vaccines. *Vaccine* 27:D90-D94.
- Tizard, I. R. 2004. Vaccines and their production. In: T. Merchant, editor, *Veterinary immunology*. 7th ed. Elsevier, Philadelphia, PA. p. 247.
- USDA-APHIS. 2013. Foot-and-mouth disease. USDA-APHIS Publications. http://www.aphis.usda.gov/publications/animal_health/2013/fs_fmd_general.pdf. Accessed July 7, 2015.
- Wagner, J. J., K. S. Lusby, J. W. Oltjen, J. Rakestraw, R. P. Wettemann, and L. E. Walters. 1988. Carcass composition in mature Hereford cows: Estimation and effect on daily metabolizable energy requirement during winter. *J. Anim. Sci.* 66:603-612.
- Williams, C. Y., T. G. Harris, D. F. Battaglia, C. Viguie, and F. J. Karsch. 2001. Endotoxin Inhibits Pituitary Responsiveness to Gonadotropin-Releasing Hormone. *Endocrinology* 142:1915-1922.

Yeruham, I., H. Yadin, M. Haymovich, and S. Perl. 2001. Adverse reactions to FMD vaccine. *Vet. Dermatol.* 12:197-201.

Tabelas e Legendas

Tabela 1. Performance reprodutiva de vacas *Bos indicus* vacinadas contra febre aftosa (5 mL s.c. of Ourovac Aftosa; Ourofino Saúde Animal, Cravinhos, SP, Brazil) no dia d -31 (VACPRE; n = 291) ou d 30 (VACGEST; n = 313) da IATF (d 0).^{1,2}

Item	VACPRE	VACGEST	SEM	P-value
Taxa de gestação da IATF, ² %				
d 30	61.8 (180/291)	56.2 (176/313)	2.8	0.17
d 90	59.4 (173/291)	46.9 (147/313)	2.8	< 0.01
Tx. de perda de gestaçãod 30 to 90, ³ %	3.9 (7/180)	16.5 (29/176)	2.2	< 0.01

¹No d -11, os grupos receberam o mesmo protocolo de IATF: 2 mg injeção (i.m.) de benzoato de estradiol (Gonadiol; Zoetis, São Paulo, SP, Brazil) e um dispositivo intravaginal (CIDR, contendo originalmente, 1.9 g de progesterona; Zoetis) no d -11, uma injeção de 12.5 mg (i.m.) de PGF_{2α} (Lutalyse; Zoetis), remoção do CIDR, com uma injeção de 0.6 mg (i.m.) de cipionato de estradiol (ECP; Zoetis) e uma injeção de 300 IU (i.m.) de eCG (Novormon, Zoetis) no d -2, e a IATF no d 0. A taxa de gestação da IA foi verificada 30 a 90 dias pós IATF com ultrassonografia (5.0-MHz transducer; Chison 600, Chison Medical Imaging Co., Ltd., Wuxi City, Jiang Su Province, China). ² Representa o numero de vacas gestantes dividido pelo total de vacas submetidas a IATF. ³ Representa o numero de vacas que perdeu a gestação dividido pelo numero de vacas que estavam gestantes na IATF no d30

Figure 1. Temperatura retal de vacas Nelore vacinadas (VAC; n = 20) ou não (NOVAC; n = 20) contra febre aftosa (5 mL s.c. of Ourovac Aftosa; Ourofino Saúde Animal, Cravinhos, SP, Brazil). A interação entre hora e tratamento foi detectada ($P < 0.01$). Hora com parada com tratamento; ** $P \leq 0.01$.

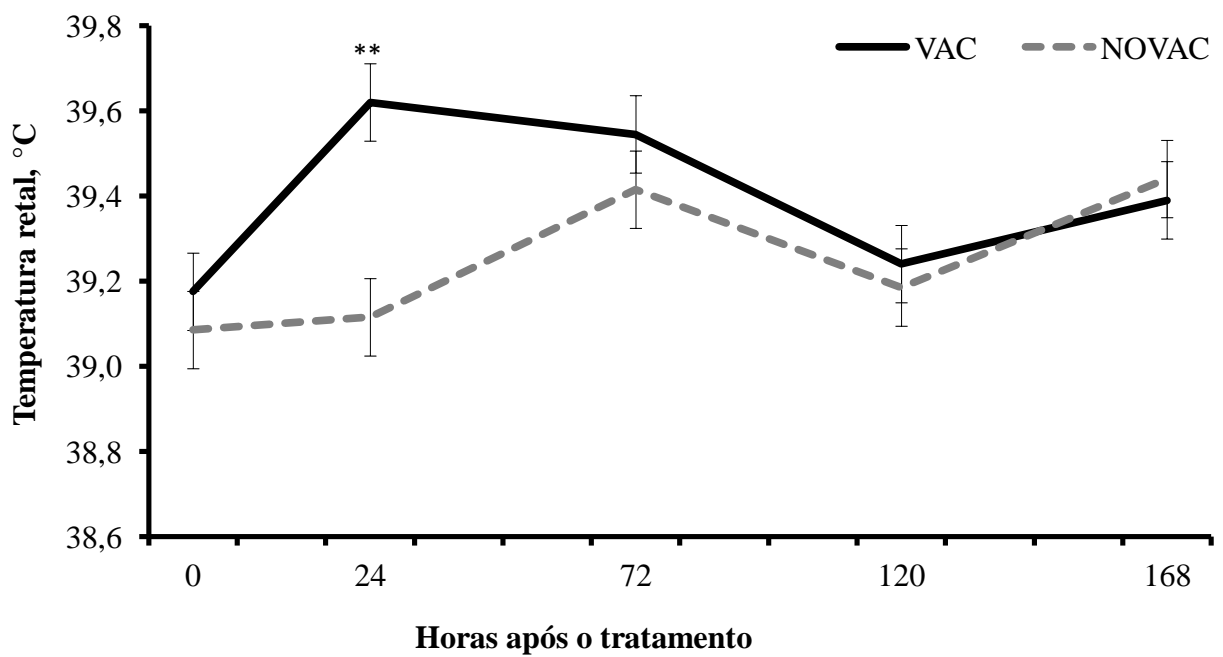
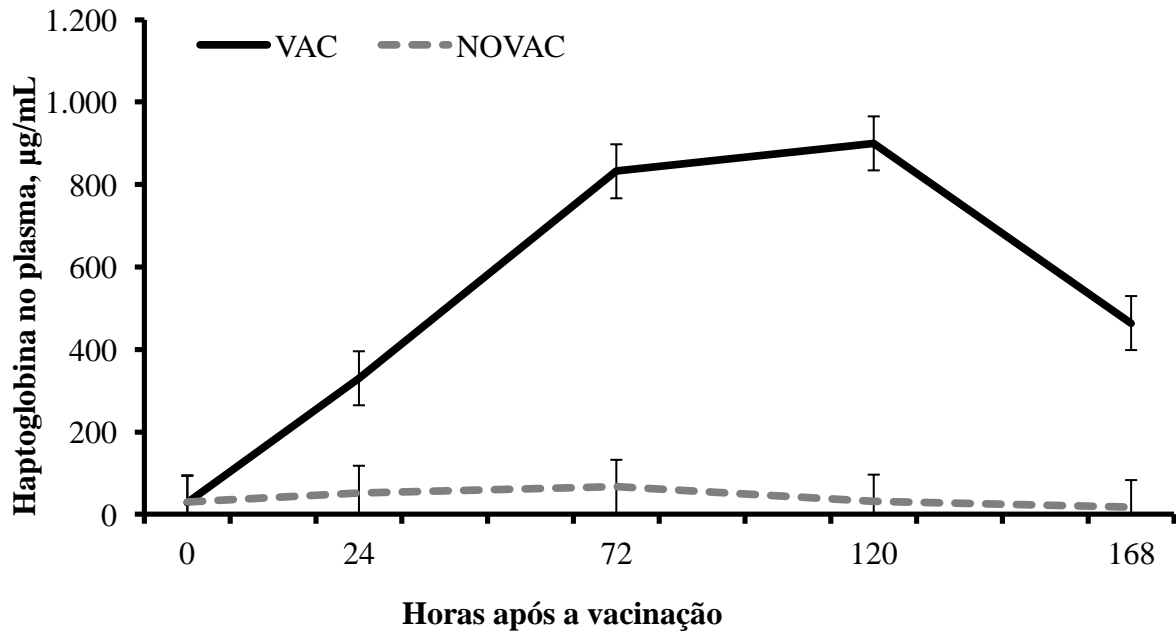


Figure 2. A concentração de haptoglobina no plasma de vacas Nelore vacinadas (VAC; n = 20) ou não (NOVAC; n = 20) contra febre aftosa (5 mL s.c. of Ourovac Aftosa; Ourofino Saúde Animal, Cravinhos, SP, Brazil). Foi detectada a interação entre hora e tratamento ($P < 0.01$). Comparação entre o tratamento e hora; ** $P \leq 0.01$.



ANEXO 1

INSTRUÇÕES AOS AUTORES

Os trabalhos para submissão devem ser enviados por via eletrônica, através do e-mail <jurgen.dobereiner@terra.com.br>, com os arquivos de texto na versão mais recente do Word. Havendo necessidade (por causa de figuras "pesadas"), podem ser enviados em CD pelo correio, com uma via impressa, ao Dr. Jürgen Döbereiner, Revista PESQUISA VETERINÁRIA BRASILEIRA, Caixa Postal 74.591, Seropédica, RJ 23890-000. Devem constituir-se de resultados de pesquisa ainda não publicados e não considerados para publicação em outra revista.

Para abreviar sua tramitação e aceitação, os trabalhos sempre devem ser submetidos conforme as normas de apresentação da revista (www.pvb.com.br) e o modelo em Word (PDF no site). Os originais submetidos fora das normas de apresentação, serão devolvidos aos autores para a devida adequação.

Apesar de não serem aceitas comunicações (*Short communications*) sob forma de "Notas Científicas", não há limite mínimo do número de páginas do trabalho enviado, que deve, porém, conter pormenores suficientes sobre os experimentos ou a metodologia empregada no estudo. Trabalhos sobre Anestesiologia e Cirurgia serão recebidos para submissão somente os da área de Animais Selvagens.

Embora sejam de responsabilidade dos autores as opiniões e conceitos emitidos nos trabalhos, o Conselho Editorial, com a assistência da Assessoria Científica, reserva-se o direito de sugerir ou solicitar modificações aconselháveis ou necessárias. Os trabalhos submetidos são aceitos através da aprovação pelos pares (*peer review*).

NOTE: Em complementação aos recursos para edição da revista (impressa e online) e distribuição via correio é cobrada taxa de publicação (page charge) no valor de R\$ 250,00 por página editorada e impressa, na ocasião do envio da prova final, ao autor para correspondência.

1. Os trabalhos devem ser organizados, sempre que possível, em Título, ABSTRACT, RESUMO, INTRODUÇÃO, MATERIAL E MÉTODOS, RESULTADOS, DISCUSSÃO, CONCLUSÕES (ou combinação destes dois últimos), Agradecimentos e REFERÊNCIAS:

a) o Título do artigo deve ser conciso e indicar o conteúdo do trabalho; pormenores de identificação científica devem ser colocados em MATERIAL E MÉTODOS.

b) O(s) Autor(es) deve(m) sistematicamente encurtar os nomes, tanto para facilitar sua identificação científica, como para as citações bibliográficas. Em muitos casos isto significa manter o primeiro nome e o último sobrenome e abreviar os demais sobrenomes:

Paulo Fernando de Vargas Peixoto escreve Paulo V. Peixoto ou Peixoto PV.; Franklin Riet-Correa Amaral escreve Franklin Riet-Correa ou Riet-Correa F.; Silvana Maria Medeiros de Sousa Silva poderia usar Silvana M.M.S. Silva, inverso Silva S.M.M.S., ou Silvana M.M. Sousa-Silva, inverso, Sousa-Silva S.M.M., ou mais curto, Silvana M. Medeiros-Silva, e inverso, Medeiros-Silva S.M.; para facilitar, inclusive, a moderna indexação, recomenda-se que os trabalhos tenham o máximo de 8 autores;

c) o ABSTRACT deverá ser apresentado com os elementos constituintes do RESUMO em português, podendo ser mais explicativos para estrangeiros. Ambos devem ser seguidos de "INDEX TERMS" ou "TERMOS DE INDEXAÇÃO", respectivamente;

d) o RESUMO deve apresentar, de forma direta e no passado, o que foi feito e estudado, indicando a metodologia e dando os mais importantes resultados e conclusões. Nos trabalhos em inglês, o título em português deve constar em negrito e entre colchetes, logo após a palavra RESUMO;

e) a INTRODUÇÃO deve ser breve, com citação bibliográfica específica sem que a mesma assuma importância principal, e finalizar com a indicação do objetivo do trabalho;

f) em MATERIAL E MÉTODOS devem ser reunidos os dados que permitam a repetição do trabalho por outros pesquisadores. Na experimentação com animais, deve constar a aprovação do projeto pela Comissão de Ética local;

g) em RESULTADOS deve ser feita a apresentação concisa dos dados obtidos. Quadros devem ser preparados sem dados supérfluos, apresentando, sempre que indicado, médias de várias repetições. É conveniente, às vezes, expressar dados complexos por gráficos (Figuras), ao invés de apresentá-los em Quadros extensos;

h) na DISCUSSÃO devem ser discutidos os resultados diante da literatura. Não convém mencionar trabalhos em desenvolvimento ou planos futuros, de modo a evitar uma obrigação do autor e da revista de publicá-los;

i) as CONCLUSÕES devem basear-se somente nos resultados apresentados no trabalho;

j) Agradecimentos devem ser sucintos e não devem aparecer no texto ou em notas de rodapé;

k) a Lista de REFERÊNCIAS, que só incluirá a bibliografia citada no trabalho e a que tenha servido como fonte para consulta indireta, deverá ser ordenada alfabeticamente pelo sobrenome do primeiro autor, registrando-se os nomes de todos os autores, em caixa alta e baixa (colocando as referências em ordem cronológica quando houver mais de dois autores), o título de cada publicação e, abreviado ou por extenso (se tiver dúvida), o nome da revista ou obra, usando as instruções do "Style Manual for Biological Journals" (American Institute for Biological Sciences), o "Bibliographic Guide for Editors and Authors" (American Chemical Society, Washington, DC) e exemplos de fascículos já publicados (www.pvb.com.br).

2. Na elaboração do texto deverão ser atendidas as seguintes normas:

a) os trabalhos devem ser submetidos seguindo o exemplo de apresentação de fascículos recentes da revista e do modelo constante do site sob "Instruções aos Autores" (www.pvb.com.br). A digitalização deve ser na fonte Cambria, corpo 10, entrelinha simples; a página deve ser no formato A4, com 2cm de margens (superior, inferior, esquerda e direita), o texto deve ser corrido e não deve ser formatado em duas colunas, com as legendas das figuras e os Quadros no final (logo após as REFERÊNCIAS). As Figuras (inclusive gráficos) devem ter seus arquivos fornecidos separados do texto. Quando incluídos no texto do trabalho, devem ser introduzidos através da ferramenta "Inserir" do Word; pois imagens copiadas e coladas perdem as informações do programa onde foram geradas, resultando, sempre, em má qualidade;

b) a redação dos trabalhos deve ser concisa, com a linguagem, tanto quanto possível, no passado e impessoal; no texto, os sinais de chamada para notas de rodapé serão números arábicos colocados em sobrescrito após a palavra ou frase que motivou a nota. Essa numeração será contínua por todo o trabalho; as notas serão lançadas ao pé da página em que estiver o respectivo sinal de chamada. Todos os Quadros e todas as Figuras serão mencionados no texto. Estas remissões serão feitas pelos respectivos números e, sempre que possível, na ordem crescente destes. ABSTRACT e RESUMO serão escritos corradamente em um só parágrafo e não deverão conter citações bibliográficas.

c) no rodapé da primeira página deverá constar endereço profissional completo de todos os autores e o e-mail do autor para correspondência, bem como e-mails dos demais autores (para eventualidades e confirmação de endereço para envio do fascículo impresso);

d) siglas e abreviações dos nomes de instituições, ao aparecerem pela primeira vez no trabalho, serão colocadas entre parênteses e precedidas do nome por extenso;

e) citações bibliográficas serão feitas pelo sistema "autor e ano"; trabalhos de até três autores serão citados pelos nomes dos três, e com mais de três, pelo nome do primeiro, seguido de "et al.", mais o ano; se dois trabalhos não se distinguem por esses elementos, a diferenciação será feita através do acréscimo de letras minúsculas ao ano, em ambos. **Trabalhos não consultados na íntegra pelo(s) autor(es), devem ser diferenciados, colocando-se no final da respectiva referência, "(Resumo)" ou "(Apud Fulano e o ano.)"; a referência do trabalho que serviu de fonte, será incluída na lista uma só vez.** A menção de comunicação pessoal e de dados não publicados é feita no texto somente com citação de Nome e Ano, colocando-se na lista das Referências dados adicionais, como a Instituição de origem do(s) autor(es). Nas citações de trabalhos colocados entre parênteses, não se usará vírgula entre o nome do autor e o ano, nem ponto-e-vírgula após cada ano; a separação entre trabalhos, nesse caso, se fará apenas por vírgulas, exemplo: (Christian & Tryphonas 1971, Priestler & Haves 1974, Lemos et al. 2004, Krametter-Froetcher et. al. 2007);

f) a Lista das REFERÊNCIAS deverá ser apresentada isenta do uso de caixa alta, com os nomes científicos em itálico (grifo), e sempre em conformidade com o padrão adotado nos últimos fascículos da revista, inclusive quanto à ordenação de seus vários elementos.

3. As Figuras (gráficos, desenhos, mapas ou fotografias) originais devem ser preferencialmente enviadas por via eletrônica. Quando as fotos forem obtidas através de câmeras digitais (com extensão ".jpg"), os arquivos deverão ser enviados como obtidos (sem tratamento ou alterações). Quando obtidas em papel ou outro suporte, deverão ser anexadas ao trabalho, mesmo se escaneadas pelo autor. Nesse caso, cada Figura será identificada na margem ou no verso, a traço leve de lápis, pelo respectivo número e o nome do autor; havendo possibilidade de dúvida, deve ser indicada a parte inferior da figura pela palavra "pé". Os gráficos devem ser produzidos em 2D, com colunas em branco, cinza e preto, sem fundo e sem linhas. A chave das convenções adotadas será incluída preferentemente, na área da Figura; evitar-se-á o uso de título ao alto da figura. Fotografias deverão ser apresentadas preferentemente em preto e branco, em papel brilhante, ou em diapositivos ("slides"). Para evitar danos por grampos, desenhos e fotografias deverão ser colocados em envelope.

Na versão online, fotos e gráficos poderão ser publicados em cores; na versão impressa, somente quando a cor for elemento primordial a impressão das figuras poderá ser em cores.

4. As legendas explicativas das Figuras conterão informações suficientes para que estas sejam compreensíveis, (até certo ponto autoexplicativas, com independência do texto) e serão apresentadas no final do trabalho.

5. Os Quadros deverão ser explicativos por si mesmos e colocados no final do texto. Cada um terá seu título completo e será caracterizado por dois traços longos, um acima e outro abaixo do cabeçalho das colunas; entre esses dois traços poderá haver outros mais curtos, para agrupamento de colunas. Não há traços verticais. Os sinais de chamada serão alfabéticos, recomendoando, se possível, com "a" em cada Quadro; as notas serão lançadas logo abaixo do Quadro respectivo, do qual serão separadas por um traço curto à esquerda.

ANEXO 2

INSTRUCTIONS FOR AUTHORS (REVISED 2015) Journal of Animal Science The Instructions for Authors, Journal of Animal Science (JAS) is divided into 2 sections: I. Manuscript Preparation, which describes the Style and Form that authors must follow in the preparation of manuscripts; and II. Policies and Procedures of JAS, which describes the mission of JAS, contact information, care and use of animals, protection of human subjects, conflict of interest, types of articles published in JAS, manuscript submission, copyright policies, review procedures and policies, papers in press, author proofs, and publication charges.

I. MANUSCRIPT PREPARATION (STYLE AND FORM) The most important thing authors can do as they prepare their manuscripts is to consult a recent issue of JAS to see the acceptable format for headings, title page, ABSTRACT, Key words, INTRODUCTION, MATERIALS AND METHODS, RESULTS, DISCUSSION (or combined RESULTS AND DISCUSSION), LITERATURE CITED, and tables and figures (including figure captions). Each of these topics is described in this document. The headings are shown in uppercase letters to illustrate how they should appear in manuscripts. A basic manuscript template in Microsoft Word is available at <http://www.animalsciencepublications.org/publications/jas/infora>. Manuscripts that are not consistent with the Instructions for Authors will be immediately rejected. General. Manuscripts must be written in English and must use American spelling and usage, as well as standard scientific usage. The following online resources provide detailed information.

- For general style and form, authors should follow that recommended in Scientific Style and Format: The CSE Manual for Authors, Editors, and Publishers. 7th ed. Council of Science Editors, Reston, VA.
- For American English spelling and usage, consult Merriam-Webster Online. <http://www.m-w.com/>
- For how to use numbers, refer to Policies Regarding Number Usage later in this document.
- For SI units, the National Institute of Standards and Technology provides a comprehensive guide. <http://physics.nist.gov/cuu/Units/index.html>
- For capitalization and spelling of plants, consult the USDA Plants website. <http://plants.usda.gov>
- For anatomical nomenclature, consult the current Nomina Anatomica Veterinaria. http://www.wava-amav.org/Downloads/nav_2012.pdf
- For bacterial nomenclature, consult Approved Lists of Bacterial Names. <http://www.bacterio.net/alintro.html>

Manuscripts should be prepared double-spaced in Microsoft Word, with lines and pages numbered consecutively, using Times New Roman font at 12 points and no less than 2.54-cm (1 inch) margins all around. Special characters (e.g., Greek and symbols) should be inserted using the symbols palette available in this font. Complex equations should be entered using MathType (<http://www.dessci.com/en/products/mathtype/>). Tables and figures should be placed in separate sections at the end of the manuscript, and not placed in the text. Manuscripts should be uploaded to Thomson Reuters ScholarOne Manuscripts (formerly called Manuscript Central) using the fewest files possible to facilitate the review and editing processes. Manuscripts should contain the following sections in this order. Title Page. The title page includes a running head (the first word only and any proper nouns capitalized and no more than 45 keystrokes [i.e., characters and spaces; a space is counted as a keystroke]); the title (only the first word and any proper nouns capitalized, as brief as possible, and including the species involved); names of authors (e.g., T. E. Smith; no title, positions, or degrees) and institutions, including the department, city, state or country (all with first letters capitalized), and ZIP or postal code. Author affiliations are footnoted using the symbols *, †, ‡, §, #, ||, and ¶ and are placed below the author names. If a consortium is listed in the byline, a footnoted reference to a website showing the names and affiliations of each member of the consortium should be included in acknowledgements; names and affiliations of each member of the consortium will not be listed on the title page. Superscript numbers are used to reference footnotes on the first page. Acknowledgments, including acknowledgements of consortia, grants, experiment station, or journal series number, are given as a footnote to the title. Authors disclosing potential or actual conflicts of interest related to the research presented in the manuscript should describe this in a footnote with other acknowledgements (for details, see Conflict of Interest). Abstract. ABSTRACT consists of no more than 2,500 keystrokes (characters and spaces) in one paragraph and contains a summary of the pertinent results, with statistical evidence (i.e., P-values), in a brief but understandable form, beginning with a clear statement of the objective and ending with the conclusions, with no references cited. Abbreviations in the abstract that are not in Standard JAS Abbreviations must be defined at first use. Key words. List up to 6 key words or phrases including the species, variables tested, and major response criteria. The first letter of each key word is lowercase, Instructions for Authors of Journal of Animal Science unless it is a proper noun; key words are separated by commas and presented in alphabetical order; and no abbreviations should be used. Because major words in the title are not used for the subject index, which is published in the last issue of each volume of JAS, appropriate words from the title should be listed as key words. Introduction. INTRODUCTION must not exceed 2,000 keystrokes (characters and spaces) and must contain a brief justification for conducting the research, the hypotheses to be tested, and the objective(s). Extensive discussion of relevant literature should be included in DISCUSSION, not in INTRODUCTION. Materials and Methods. MATERIALS AND METHODS is a required section and must contain a clear description or specific original reference for all biological, analytical, and statistical procedures. All modifications of procedures must be explained. Diets, dates of experimental activities if appropriate, animals (breed, sex, age, body weight, and weighing conditions [i.e., with or without restriction of feed and water]), surgical techniques, measurements, and statistical models should be described clearly and fully. Manufacturer information must be provided at the first mention of each proprietary product used in the research (for details see, Commercial Products). Appropriate statistical methods should be used, although the biology should be emphasized. Statistical methods commonly used in the animal sciences need not be described in detail, but adequate references should be provided. The statistical model, classes, blocks, and experimental unit must be designated. Any restrictions used in estimating parameters should be defined. Reference to a statistical package without reporting the sources of variation (classes) and other salient features of the analysis, such as covariance or orthogonal contrasts, is not sufficient. Always reference SAS with the manufacturer information (SAS Inst. Inc., Cary, NC); do not call out as a reference in LITERATURE CITED. The threshold (e.g., $P < 0.05$) for significance should be stated. A statement of the results of the statistical analysis should justify the interpretations and conclusions. The experimental unit is the smallest unit to which an individual treatment is imposed. Measurements on the same experimental unit over time are not independent and should not be considered as independent experimental units. Provide a validation for assays (e.g., mean and CV for repeated analysis of a sample [both between and within-assay if available] and the sensitivity [minimum amount or

concentration detectable]). Also, provide a publication reference for the methods used in kits. Centrifugal force should be provided in $\times g$, not rpm, and duration and temperature of centrifugation must be included. Include volume of blood collected, container used, and amount of preservative or anticoagulant (e.g., 10 μ L of heparin). Results. RESULTS are presented in the form of tables or figures when feasible. The text should explain or elaborate on the tabular data, but numbers should not be repeated within the text. Sufficient data, all with some index of variation attached, including significance level (i.e., P-value), should be presented to allow readers to interpret the results of the experiment. Reporting the P-value is preferred to the use of the terms significant and highly significant, which are more editorial than quantitative descriptions. Thus, the P-value (e.g., $P = 0.042$ or $P < 0.05$) should be presented, thereby allowing readers to decide what to reject. Other probability (alpha) levels may be discussed if properly qualified so that the reader is not misled (e.g., trends in the data). Discussion. DISCUSSION contains the author's, or authors', interpretations of the results of the study. The presentation should be clear and concise, address biological mechanisms and their significance, and integrate the research findings with the body of previously published literature to provide readers with a broad base on which to evaluate the author's, or authors', interpretations and assertions. Authors may speculate, but they should make it clear that their statements are speculative, rather than factual. A stand-alone DISCUSSION should not refer to any tables or figures, nor should it include P-values, unless citing a P-value from another work. The discussion must be consistent with the data from the research. Results and Discussion. In JAS, authors have the option of combining the results and discussion into one section. Literature Cited. To be listed in LITERATURE CITED, papers must be published or accepted for publication ("in press"). Personal communications and unpublished data must not be included in LITERATURE CITED. Guidelines and formats for references and citations are described in the Literature Cited Section of this document. Tables and Figures. Tables and figures must be prepared so they meet the stand-alone criterion; that is, information in a table or figure can be understood without referring to information in the body of the manuscript. Tables and figures shall be placed at the end of the manuscript. Each table and each figure shall be placed on a separate page (separated with section breaks) and identified with table and figure numbers. Author-defined abbreviations must be defined (or redefined) in each table and figure. Manufacturer name and location must be provided for any proprietary product appearing in a table or figure. Tables must be created using the table feature in MS Word (for instructions, see Guidelines for Creating Tables Using Microsoft Word (<http://www.animalsciencepublications.org/files/publications/jas/wordtableguidelines-jas.pdf>)). Refer to a recent issue of JAS for examples of table construction. When possible, tables should be organized to fit across the page (i.e., portrait layout) without running broadside (i.e., landscape). Each column must have a heading (e.g., Item, Ingredient, Trait, Fatty acid). Units (e.g., kg) should be separated from headings by a comma, rather than being shown in parentheses. Limit the data field to the minimum needed for meaningful comparison within the accuracy of the methods. In the body of the table, numerals are used to reference footnotes. Each footnote should begin on a new line. Lowercase, superscript letters are used to indicate significant differences among means within a row or column and to reference footnotes explaining how to interpret the letters. Figures should follow the Quality Guidelines for Journal of Animal Science (JAS) Figures ([http://www.animalsciencepublications.org/files/pub-Instructions for Authors of Journal of Animal Science lications/jas/infora-guidelines-for-figures.pdf](http://www.animalsciencepublications.org/files/pub-Instructions%20for%20Authors%20of%20Journal%20of%20Animal%20Science%20lications/jas/infora-guidelines-for-figures.pdf))). Figure captions should be typed double-spaced on a separate page. Now that JAS is a fully electronic publication, authors are encouraged to use color to enhance figures; there are no additional fees for color figures and images in issues of JAS. Individuals may purchase print-on-demand copies of JAS issues from Sheridan Press. Print-on-demand copies will contain gray-scale, rather than color, figures and images. To purchase these, contact Sheridan at Journal of Animal Science or American Society of Animal Science, PO Box 465, Hanover, PA 17331 P: 717-632-3535, F: 717-633-8920, E: pubsvc.tsp@sheridan.com. Appendices. An appendix or appendices are optional and used to provide numerical examples or give extensive detail of analytical procedures. However, if the supplemental material is of interest only to a limited number of JAS readers, it should not be included as an appendix. Instead, state that supplemental information is available on request from the corresponding author; addresses for websites with appropriate supplemental information are acceptable. If extensive, the data may be included as an e-supplement to the manuscript (see E-Supplements). Appendices should follow LITERATURE CITED and be introduced with a major heading (e.g., APPENDIX 1: TITLE). E-Supplements. Authors may present material in an e-supplement (e.g., detailed data sets, Excel files, and video) that is more extensive or detailed than necessary for a JAS article. A note will appear in the JAS article that more material can be found online. Material in an e-supplement must undergo peer review and, thus, should be in a format that is easily accessible (i.e., does not require dedicated software or software that is not generally available) to most reviewers and readers. Additional Usage Notes Numbers. For details, see Policies Regarding Number Usage for Journal of Animal Science later in this document. Abbreviations. Except to begin a sentence and when specifically contraindicated (e.g., units of time should only be abbreviated when used with a number), authors must use the abbreviations that are listed in this document under STANDARD JAS ABBREVIATIONS. Abbreviations in the text that are not listed in STANDARD JAS ABBREVIATIONS must be defined at first use, unless they are international abbreviations for elements, units of measure, amino acids, and chemicals, as examples. Abbreviations listed in STANDARD JAS ABBREVIATIONS or standard international abbreviations cannot be used to create author-defined abbreviations (e.g., t = metric ton and cannot be used as an abbreviation for time, temperature, or treatment; C = carbon and cannot be used for Control). Once defined, author-defined abbreviations should always be used, except to begin a sentence. Author-defined abbreviations must be defined in the abstract and redefined at first use in the body of the manuscript, in each table, and in each figure. Authors should avoid excessive use of author-defined abbreviations. Gene and Protein Names. Because there is no universally accepted style for gene and protein names that applies to all species, the JAS asks authors to assume the responsibility of using the convention appropriate for the particular species. Some general guidelines can be found in the CSE Manual for Authors, Editors, and Publishers (7th ed., 2006). For example, the gene that codes for the protein p53 is TP53 in humans and Trp53 in mice (note that, by convention, gene names are italicized, and protein names are generally not italicized). Quantitative Trait Loci and DNA Markers and Microarray Data. Authors of papers that contain original quantitative trait loci (QTL) or DNA marker association results for livestock are strongly encouraged to make their data available in an electronic form to one of the publicly available livestock QTL databases after the manuscript appears on the JAS First Look website (<http://www.animalsciencepublications.org/publications/jas/first-look>). The date on which the paper is posted to the JAS-Papers in Press website may represent the official public disclosure date for the

contents of the article. Current QTL databases for livestock include, but may not be limited to, the Animal QTL database (<http://www.animalgenome.org/QTLdb>) and the Bovine QTL database (<http://genomes.sapac.edu.au/bovineqtl/index.html>). Similarly, for microarray data we request that all authors using microarray data analysis in their research submit a complete data set to 1 of 3 databases before submission of a manuscript: the NCBI Gene Expression Omnibus (GEO; <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/geo>), the EMBL-EBI ArrayExpress repository (<http://www.ebi.ac.uk/arrayexpress>), or the Center for Information Biology Gene Expression (CIBEX) database. Commercial Products. The use of names of commercial products should be minimized. When a commercial product is used as part of an experiment, the manufacturer name and location (city and state if in the US; city, administrative region or district [e.g., province], and country if outside the US) or a website address must be given parenthetically at first mention in text, tables, and figures. The generic name should be used subsequently. No TM, ®, or © symbols should be used. General Usage. • Abbreviations are not used to begin sentences. Words must be spelled out • Note that “and/or” is allowed but not preferred; we ask that authors choose the more appropriate meaning or use “x or y or both” if possible. • “Sex” should be used, rather than “gender.” Gender is more appropriate for describing a role in society than for describing biological sex. • State total sample size (e.g., the study included a total of 600 animals), rather than using “N” to represent total sample size. • In math, the hierarchy for brackets and parentheses is [()]. For example, [(2 + 3) × (12 ÷ 2)] × 2 = 60. • In writing, however, a parenthetical remark within a parenthetical is punctuated as brackets within parentheses, ([]). For example, “The title page includes a running head (no more than 45 keystrokes [i.e., characters plus spaces]); the title...” Instructions for Authors of Journal of Animal Science • Meat shear force should be expressed in kilograms (kg), although newtons (N) may also be acceptable. • Report time using the 24-h system (e.g., 1410 h rather than 2:10 p.m.). • Use italics to designate genus and species (e.g., *Bos taurus*) and botanical varieties (e.g., *Medicago sativa* var. *Potomac*). Designations for botanical cultivars should be preceded by “cv.” or enclosed in single quotes (e.g., *Festuca arundinacea* cv. *Kentucky 31* or *Festuca arundinacea* ‘*Kentucky 31*’). • Names of muscles are not italicized. • Specify the basis (i.e., as-fed or dry matter) for dietary ingredient and chemical composition data listed in text or in tables. Similarly, specify the basis for tissue composition data (e.g., wet or dry basis). • Calculations of efficiency should be expressed as output divided by input (i.e., gain:feed, not feed:gain). This avoids the spurious positive and negative infinity values when body weight gain is zero or negative. It also avoids the confusion associated with discussing an improvement as being a decrease. • A diet is a feedstuff or a mixture of feedstuffs; a ration is the daily allotment of the diet. • Restrict the use of “while” and “since” to meanings related to time. Appropriate substitutes include “and,” “but,” or “whereas” for “while,” and “because,” “even though,” or “although” for “since.” • The word “Table” is capitalized and never abbreviated. • Except to begin a sentence, the word “Figure” should be abbreviated to “Fig.” • Except to begin a sentence, experiment and equation should be abbreviated to Exp. and Eq., respectively, when preceding a numeral (e.g., Exp. 1). • Avoid jargon unfamiliar to scientists from other disciplines. Do not use the term “head” to refer to an animal or group of animals. Instead, use animal, sow, ewe, steer, heifer, cattle, etc. • Avoid bi- as a prefix because of its ambiguity; biweekly means twice per week and once every 2 weeks. • Breed and variety names should be capitalized (e.g., Landrace and Hereford). • Trademarked or registered names should be capitalized, but no TM or ® symbols should be used. II. POLICIES AND PROCEDURES OF JAS The mission of the American Society of Animal Science (ASAS) is to “foster the discovery, sharing, and application of scientific knowledge concerning the responsible use of animals to enhance human life and well-being” (<https://asas.org/about-asas/historyand-mission>). The Journal of Animal Science, which is published monthly by ASAS, accepts manuscripts presenting information for publication with this mission in mind. The JAS is divided into the following Sections: Animal Genetics; Animal Nutrition: Nonruminant Nutrition; Animal Nutrition: Ruminant Nutrition; Animal Physiology; Animal Production; Animal Products; Special Topics; and Symposia, which contains invited manuscripts from symposia at ASAS meetings. Manuscripts that do not fit one of the JAS Sections will not be considered for publication. The Editor-in-Chief, Managing Editor, and Section Editors establish the editorial policies of JAS, subject to review by the publications committee and ASAS Board of Directors. The views expressed in articles published in JAS represent the opinions of the author(s) and do not necessarily reflect the official policy of the institution with which an author is affiliated, the ASAS, or the JAS Editor-in-Chief. Authors are responsible for ensuring the accuracy of collection, analysis, and interpretation of data in manuscripts and ultimately for guaranteeing the veracity of the contents of articles published in JAS. The JAS is one of the most frequently cited, peer-reviewed, agriculturally oriented research journals in the world, based on statistics published by Thomson Reuters (formerly ISI Inc.; Philadelphia, PA). Its high ranking in several categories attests to the quality standards of the JAS editors, editorial board, and staff and the authors who submit manuscripts for publication. Contact Information For information on the scientific content of the journal, contact the Editor-in-Chief, Dr. Gregory S. Lewis, American Society of Animal Science, P.O. Box 7410, Champaign, Illinois 61826-7410; e-mail: glewis@asas.org. For questions about submitting a manuscript and ScholarOne Manuscripts, contact Mr. Brett Holte, Submission Services Manager; e-mail: bholte@sciencesocieties.org. For assistance with author proofs, contact Ms. Emily Mueller, Managing Editor; e-mail: emueller@sciencesocieties.org. Care and Use of Animals All authors submitting to JAS must complete the Care and Use of Animals form certifying that any research that involves animals has followed established standards for the humane care and use of animals and must specify which standards were used. Only investigations that have followed high standards for the humane care and use of animals in research will be reported in JAS. Also, the manuscript must include a statement of institutional animal care and use committee (IACUC), or equivalent, approval of all animal procedures. The IACUC statement should appear as the first item in MATERIALS AND METHODS and should specify which publically available animal care and use standards were followed (e.g., FASS Guide for the Care and Use of Agricultural Animals in Research and Teaching; Primary Industries Ministerial Council, Model code of practice for the welfare of animals: the sheep). The manuscript should describe anesthetics, analgesics, tranquilizers, and care taken to minimize pain and discomfort during preoperative, operative, and postoperative procedures. If research requires discomfort to the animals or stress- Instructions for Authors of Journal of Animal Science ful conditions, justification for these conditions must be evident in papers published in JAS. Protection of Human Subjects In the United States, federally funded or regulated research involving human subjects must comply with Code of Federal Regulations (CFR), Title 45 Public Welfare, Part 46 Protection of Human Subjects. However, CFR 45 Part 46.101(b) exempts some research from these regulations. For all exempted research and other details, see <http://www.hhs.gov/ohrp/humansubjects/guidance/45cfr46.html>. Exempted research

includes that in which the only involvement of human subjects is for “taste and food quality evaluation and consumer acceptance if 1) wholesome foods without additives are consumed or 2) a food is consumed that contains a food ingredient at or below the level and for a use found to be safe, or agricultural chemical or environmental contaminant at or below the level found to be safe, by the Food and Drug Administration or approved by the Environmental Protection Agency or the Food Safety and Inspection Service of the U.S. Department of Agriculture.” If human subjects were used in exempted research and the research was in compliance with CFR 45 Part 46, or equivalent regulations where the research was conducted, authors must state in MATERIALS AND METHODS or acknowledgements that they were in full compliance. If human subjects were used in research that was not exempted in CFR 45 Part 46, or equivalent regulations where the research was conducted, authors must certify that the research received a priori approval from an appropriate Institutional Review Board. Conflict of Interest All JAS editors, ASAS staff, ASAS Board of Directors, and submitting authors must disclose any actual or potential conflicts of interest that may affect their ability to objectively present or review research or data. This generally includes any relevant professional, personal, political, intellectual, religious, or financial interest in, or relationship with, an individual or business that could have an actual or perceived influence, positive or negative, on the conduct and publication of the research or data. Financial relationships generally refer to financial benefits accrued to authors through avenues such as salary, consulting fees, honoraria (including paid holidays, use of vacation property, country club privileges, and other nonmonetary rewards for service), intellectual property rights, royalties, business ownership, and investments, other than diversified mutual funds or the equivalent. Disclosures for JAS authors are to be provided as an acknowledgement on the title page of a manuscript (for instructions, see Title Page). The JAS may use such information as a basis for editorial and publication decisions, and may publish such disclosures if that is deemed relevant and sufficient. The JAS editors, ASAS staff, and ASAS Board of Directors with actual or potential conflicts of interest that may affect their ability to objectively evaluate or manage a manuscript will be prevented from gaining access to the manuscript and associated documents, unless they are an author or coauthor, in which case ScholarOne Manuscripts will limit their access to the Corresponding Author Center. When the current Editor-in-Chief, for example, has an actual or potential conflict of interest with a manuscript, a former Editor-in-Chief will assume the responsibilities of the Editor-in-Chief for that manuscript. Types of Articles Articles published in JAS encompass a broad range of research topics in animal production and fundamental aspects of genetics, nutrition, physiology, and preparation and utilization of animal products. Many articles are multidisciplinary and cannot be conveniently categorized. Articles typically report research with cattle, goats, pigs, and sheep. However, studies involving other farm animals (e.g., poultry and meat and working horses) and companion animals, including performance and recreational horses, aquatic, and wildlife species will be considered for publication. Studies with laboratory animal species that address fundamental questions related to the biology of livestock, companion animals, and other managed animals may be considered. Manuscripts that report research on production issues in animals other than those constituting the main focus of JAS should be submitted to other journals. The preceding paragraph is not meant to exclude manuscripts but, rather, is a clarification of the focus of JAS. Authors may contact the Editor-in-Chief if there are questions about whether the topic of a manuscript is appropriate for JAS. Research Articles. Results of research contained in manuscripts submitted to JAS must not have been published in or submitted previously to a peerreviewed scientific journal. Previous presentation at a scientific meeting or the use of data in field-day reports or similar documents, including press publications or postings to personal or departmental websites, do not preclude the publication of such data in JAS. However, abstracts, proceedings papers, field-day reports, or similar presentations that are expanded to produce full-length manuscripts should be referenced and cited in JAS manuscripts. Articles simultaneously posted to websites and submitted to JAS should carry a disclaimer on the website that this version of the paper has not undergone JAS peer-review and is not to be considered the final published form of the article. If the article has been published in JAS, the author should include the complete JAS citation so that proper credit can be given to JAS as the publisher of the article. Because JAS holds the copyright to articles it publishes, posting altered JAS articles that are represented as exact duplicates of the published version constitutes copyright violation. Review Articles. The journal publishes invited review articles. The Editor-in-Chief, in consultation with Section Editors and the ASAS Board of Directors, identifies invited reviews. Section Editors may solicit proposals for review articles to be published in JAS, after consultation with and approval by the Editor-in-Chief; the authors may be responsible for a portion of the publication charges for invited reviews. Unsolicited review Instructions for Authors of Journal of Animal Science articles will not be considered. Special Topics. This Section includes Biographical or Historical Sketches and Contemporary Issues in the animal sciences. Even though Biographical or Historical Sketches are part of the Special Topics Section, they will be published on the ASAS website and in the Association News section of JAS. The frequency of publication depends on the availability of the prepared sketches. For more information, see <http://www.animalsciencepublications.org/publications/jas/infora..> Contemporary Issues include topics such as environmental concerns, legislative proposals, systems analysis, and various “newsworthy” scientific issues. Even though Contemporary Issues manuscripts do not have to include original data, authors’ assertions should be substantiated with references to established information from credible published sources. Special Topics papers will be subject to peer review in a manner similar to other JAS submissions. Because of the nature of these manuscripts, their format may vary from that of standard scientific articles, although ABSTRACT and INTRODUCTION must be consistent with keystroke (characters and spaces) limitations defined earlier in this document. Teaching articles should be submitted to Natural Sciences Education, which is a joint venture of several professional societies, including the ASAS. Articles in Natural Sciences Education are “written by and for educators in extension, universities, industry, administration, and grades K–12” and highlight teaching techniques, concepts, ideas, and other teaching-related issues. The goal is build a portfolio of teaching-related articles that can be accessed at a single location. For detailed information about Natural Sciences Education, see <https://www.agronomy.org/publications/nse>. Technical Notes. A technical note is used to report a new method, technique, or procedure of interest to JAS readers. When possible, a technical note should include a comparison of results from the new method with those from previous methods, using appropriate statistical tests. The advantages and disadvantages of the new procedure should be discussed. When typeset for publication, a technical note shall not exceed 8 pages (approximately 12 Microsoft Word document pages), including tables and figures. “Technical note:” shall be the first portion of the title of such manuscripts. The review process for a technical note will be the same as that for other manuscripts. Information that is more

extensive or detailed than necessary for a Technical note may be presented in an e-supplement (see E-Supplements). Short communications, brief communications, and similar types of articles will not be considered for publication in JAS. Letters to the Editor. A letter judged suitable for publication will be printed in a "Letters to the Editor" section of JAS. The purpose of this section is to provide a forum for scientific exchange relating to articles published in JAS. To be acceptable for publication, a letter must adhere to the following guidelines. 1) Only a letter that addresses matters of science and relates to information published in JAS will be considered. In general, a letter should not exceed 5,000 keystrokes and should contain no more than 5 citations. 2) A letter should provide supporting evidence based on published data for the points made or must develop logical scientific hypotheses. A letter based on conjecture or unsubstantiated claims will not normally be published. No new data may be presented in a letter. 3) The Editor-in-Chief will evaluate each letter and determine whether a letter is appropriate for publication. If a letter is considered appropriate, the author(s) of original JAS article(s) will be invited to write a letter of response. Normally both letters will be published together. 4) All letters will be subject to acceptance and editing by the Editor-in-Chief and editing by a technical editor.

SUBMISSION OF MANUSCRIPTS Manuscripts should be submitted electronically through ScholarOne Manuscripts at <http://mc.manuscriptcentral.com/jas>. Authors with questions about using the electronic manuscript submission system or, for technological reasons, are unable to submit manuscripts electronically may contact Mr. Brett Holte (bholte@sciencesocieties.org). Copyright Agreement Authors shall complete the Manuscript Submission and Copyright Release form for each new manuscript submission. The form is completed during the submission process through ScholarOne Manuscripts. Authors, such as United States government employees, who are unable to grant copyright to ASAS must indicate the reason for exemption on the form; material that was produced as an official duty of a U.S. Government employee is considered public domain. The American Society of Animal Science holds the copyright to material published in JAS. Persons who wish to reproduce material in JAS must request written permission to reprint copyrighted information from the Managing Editor, Ms. Emily Mueller (emueller@sciencesocieties.org). Likewise, authors of JAS manuscripts who include material (usually tables or figures) taken from other copyrighted sources must secure permission from the copyright holders and provide evidence of this permission at the time the manuscript is submitted to JAS for review. Tables or figures reproduced from the work of others, or data extracted from the work of others and used to construct summary tables (or figures) or for meta-analyses, must include an acknowledgement of the original source in a footnote or legend and, when appropriate, a complete citation in LITERATURE CITED. The ASAS, however, grants to the author(s) of JAS articles the right of republication in any book of which he or she is author or editor, subject only to his or her giving proper credit in the book to the original JAS publication of the article by ASAS.

REVIEW OF MANUSCRIPTS General Procedures. The Editor-in-Chief and Section Editors determine whether manuscripts are suitable for publication in JAS. All communications about a submitted manuscript should maintain confidentiality. Section Editors handle correspondence with the peer reviewers. Instructions for Authors of Journal of Animal Science viewers and corresponding author and promptly decide whether a manuscript should be accepted, revised, or rejected. A Section Editor's decision to accept, invite revision, or reject a manuscript after peer review is based on peer-reviewer comments and recommendations and the Section Editor's own review of the manuscript. Section Editors forward document files for accepted and rejected manuscripts to the Editor-in-Chief. After acceptance, manuscript files are forwarded to the technical editors. The Editor-in-Chief is the final arbiter concerning acceptance or rejection of manuscripts submitted for publication.

Rejections. Manuscripts are rejected for 3 general reasons. 1) The substance of the manuscript may not meet JAS standards; the work may be incomplete, the evidence may not support the conclusions, the experimental approach may be poorly conceived, or the work may repeat established fact or represent no advancement of the existing knowledge. 2) Even though the work may be sound and the results valid, the paper may be better suited for publication elsewhere. 3) Manuscripts are not written clearly, concisely, and coherently, or they are not consistent with guidelines in the 2015 Instructions for Authors, Journal of Animal Science. These manuscripts may be rejected without review. Authors whose first language is not English are urged to have an editing service review their manuscripts before they are submitted to JAS. However, JAS considers the authors, and not an editing service, responsible for the content of manuscripts. Appeals. If a manuscript is rejected, as a first course of action the author should discuss the matter with the Section Editor responsible for the manuscript. Decisions must be appealed to the Editor-in-Chief if the author(s) believe(s) that the judgment was erroneous or biased. A letter presenting the reasons for the appeal should be sent to the Editor-in-Chief. The Editor-in-Chief will review the author's reasons, all documents related to the manuscript, and, if necessary, consult with the Section Editor responsible for the manuscript. The Editor-in-Chief will then decide whether to accept or deny the appeal. A rejected manuscript may be resubmitted for publication in another Section of JAS only if the Editor-in-Chief recommends this action or if the Section Editor originally assigned to the manuscript has specifically recommended this action and the Editor-in-Chief has approved the transfer.

Revisions. Most manuscripts that are eventually accepted for publication are returned to the author(s) at least once for revision. All revised manuscripts must be returned to Section Editors via JAS ScholarOne Manuscripts. Authors will be permitted 15 days to revise and return manuscripts classified as Minor Revision and permitted 35 days to revise and return manuscripts classified as Major Revision. ScholarOne Manuscripts prompts reviewers to classify manuscripts as Minor Revision or Major Revision. Section Editors will use the reviewers' classifications and their own evaluations to estimate the time required for authors to respond to reviews and use that estimate during the process of classifying manuscripts. A manuscript that will clearly require more than 35 days for revisions may be rejected. However, the author will be invited to revise the manuscript, create a new submission, and reference the original manuscript tracking number (e.g., Manuscript ID E-2015-1234) in the submission letter that accompanies the new submission. Section Editors will use the original reviews and the author's responses to the original reviews to evaluate the submission. Unless the new submission contains a significant amount of new data, there should be no reason to seek new reviews. Manuscripts that exceed the revision-option deadline will be withdrawn. Extenuating circumstances may justify the need to extend the revision-option deadline. Requests for extensions must be communicated to the Section Editor responsible for the manuscript before the revision-option expires. The Editor-in-Chief must approve extensions. As a general rule, only one short extension will be approved. The Revision Checklist for Authors is sent with requests for revision (<http://www.animalsciencepublications.org/files/publications/jas/jasrevision-checklist.pdf>). Authors should closely follow the Checklist.

PAPERS IN PRESS, AUTHOR PROOFS, AND PUBLICATION CHARGES Papers in Press. To facilitate earlier disclosure of

research results, accepted manuscripts will be assigned a digital object identifier (doi) and posted to the JAS First Look site (<http://www.animalsciencepublications.org/publications/jas/first-look>) in the form in which they are accepted. The authors bear the primary responsibility for the content of manuscripts posted to the Papers in Press site. Because articles posted to this site have not been professionally edited and typeset, and are frequently changed in response to questions from editors, they do not represent the final, published form of the manuscript. The date a complete monthly issue of JAS is posted online is the official publication date for JAS articles. However, the date on which a manuscript is posted to the JAS-Papers in Press website may represent the official public disclosure date for the contents of the article. Authors concerned about intellectual property issues, such as patents and disclosure dates, should seek legal counsel before submitting manuscripts to a scientific journal.

Author Proofs. Accepted manuscripts are forwarded to the editorial office for technical editing and typesetting. During this process, the technical editor may contact the authors for missing information or figure revisions. The manuscript is then typeset, figures reproduced, and author proofs (also called galley proofs) prepared. Correspondence concerning the accepted manuscript should be directed to the technical editor. Proofs of all manuscripts will be provided to the corresponding author and should be read carefully and checked against the typed manuscript. Accuracy of the author proof is the sole responsibility of the author(s). Corrections may be returned by e-mail (preferred), fax, or overnight mail. For faxed or mailed corrections, changes to the proof should be made neatly and clearly in the margins of the proof. If extensive correction is required, changes should be provided on a separate sheet of paper with a symbol indicating location on the proof. Instructions for Authors of Journal of Animal Science Changes e-mailed to the technical editor must indicate page, column, and line numbers for each correction to be made on the proof. Notes created with Adobe editing tools and pointing to specific locations for corrections may also be used. Editor queries should be answered on the galley proofs; failure to do so may delay or prevent publication. Excessive author changes made at the proof stage may result in a \$250 surcharge for additional typesetting, and they may be deemed so excessive that the manuscript will be returned to the Section Editor for additional scientific review.

Publication Charges and Reprints. The journal has 2 options available for publication: open access and conventional page charges. For the open access option, authors will pay the open access fee when proofs are returned to the editorial office so that their article will become freely available upon publication in an online issue of JAS. Charges for open access publication are \$2,500 per article if at least one author is a current professional member of ASAS; the charge is \$3,250 when no author is a professional ASAS member. For conventional publication, the charge is \$85 per printed page in JAS if at least one author is a professional ASAS member; the page charge is \$170 when no author is a professional member of ASAS. Reprints may be ordered at an additional charge. Professional membership in ASAS is available to any person who has research, educational, commercial, or administrative responsibilities or interests in the broad disciplines within animal science. Annual professional membership is \$135, and the complete details are available at the following website: <https://www.asas.org/membership-services/member-information>. When the author proof is sent, the author is asked to complete a reprint order form requesting the number of reprints desired and the name of the institution, agency, or individual responsible for publication charges. Now that JAS is a fully electronic publication, there are no additional charges for color figures and images that appear in electronic issues of JAS. However, authors who order reprints are responsible for paying any additional charges for printing reprints that contain color.

STANDARD JAS ABBREVIATIONS The following abbreviations should be used without definition in JAS. Plural abbreviations do not contain a final "s" because the context of an abbreviation implies whether it is singular or plural. Use of the standard 3-letter abbreviations for amino acids (e.g., Ala) is acceptable in JAS. Use of the internationally recognized chemical symbols for chemical elements (e.g., P and S) is acceptable in JAS. Except for N (not italicized), which is the recognized abbreviation for nitrogen and newton (unit of force), chemical symbols for elements are reserved for elements (e.g., C is for carbon and never for control). For chemical units and abbreviations, refer to the ACS Style Guide (published by the American Chemical Society, Washington, DC).

Physical units

Item	Unit	Bq becquerel	°C degree Celsius	cal calorie	Ci curie	cM centimorgan (spell out morgan if used without a prefix)	Da dalton	Eq equivalent (only can be used with a prefix; e.g., mEq)	g gram	ha hectare	Hz hertz	IU international unit	J joule	L liter	lx lux	m meter	M molar (concentration; preferred over mol/L)	mol mole	N newton (N not italicized)	N normal (concentration)	Pa pascal	rpm revolutions/minute (not to be used to indicate centrifugal force)	t metric ton (1,000 kg)	V volt	W watt
------	------	--------------	-------------------	-------------	----------	--	-----------	---	--------	------------	----------	-----------------------	---------	---------	--------	---------	---	----------	-----------------------------	--------------------------	-----------	---	-------------------------	--------	--------

Units of time

Item	Unit	s second	min minute	h hour	d day	wk week	mo month	yr year
------	------	----------	------------	--------	-------	---------	----------	---------

Statistical symbols and abbreviations

Item	Term	ANOVA analysis of variance	CI confidence interval	CV coefficient of variation	Instructions for Authors of Journal of Animal Science	df degree(s) of freedom (spell out if used without units)	F F-distribution (variance ratio)	LSD least significant difference	n sample size (used parenthetically or in footnotes; note italics)	P probability	r simple correlation coefficient	r ² simple coefficient of determination	R multiple correlation coefficient	R ² multiple coefficient of determination	s ² variance (sample)	SD standard deviation (sample)	SE standard error	SED standard error of the differences of means	SEM standard error of the mean	t t-(or Student) distribution	α probability of Type I error	β probability of Type II error	μ mean (population)	σ standard deviation (population)	σ ² variance (population)	χ ² chi-squared distribution
------	------	----------------------------	------------------------	-----------------------------	---	---	-----------------------------------	----------------------------------	--	---------------	----------------------------------	--	------------------------------------	--	----------------------------------	--------------------------------	-------------------	--	--------------------------------	-------------------------------	-------------------------------	--------------------------------	---------------------	-----------------------------------	--------------------------------------	---

Others

Item	Term	AA amino acid(s)	ACTH adrenocorticotrophic hormone	ADF acid detergent fiber (assumed sequential unless designated otherwise)	ADFI average daily feed intake (not to be confused with DMI)	ADG average daily gain	ADIN acid detergent insoluble nitrogen	ADL acid detergent lignin	ADP adenosine diphosphate	AI artificial insemination	AIA acid insoluble ash	ARS Agricultural Research Service	ATP adenosine triphosphate	avg average (use only in tables, not in the text)	BCS body condition score	BLUE best linear unbiased estimate	BLUP best linear unbiased prediction	bp base pair	BSA bovine serum albumin	BTA Bos taurus chromosome	BW body weight (used for live weight)	cDNA complementary deoxyribonucleic acid	C/EBP CAAT-enhancer binding protein	cfu colony-forming unit	CIE International Commission on Illumination (Commission Internationale d'Éclairage)	CLA conjugated linoleic acid	CoA coenzyme A	Co-EDTA cobalt ethylenediaminetetraacetate	CP crude protein (N × 6.25)	D dextrodiam. diameter	DE digestible energy	DEAE (dimethylamino)ethyl (as in DEAE-cellulose)	DFD dark, firm, and dry (meat)	DM dry matter	DMI dry matter intake	DNA deoxyribonucleic acid	EBV estimated breeding value(s)	eCG equine chorionic gonadotropin	EDTA ethylenediaminetetraacetic acid	EFA essential fatty acid	EIA enzymeimmunoassay	ELISA enzyme-linked immunosorbent assay	EPD expected progeny difference(s)	Eq. Equation(s)	Exp. experiment (always followed by a numeral)	FFA free fatty acid(s)	FSH follicle-stimulating hormone	GEBV genomic estimated breeding value(s)	g gravity	GE gross energy	G:F gain-to-feed ratio	GLC gas-liquid chromatography	GLM general linear model	GnRH gonadotropin-releasing hormone	GH growth hormone	GHRH growth
------	------	------------------	-----------------------------------	---	--	------------------------	--	---------------------------	---------------------------	----------------------------	------------------------	-----------------------------------	----------------------------	---	--------------------------	------------------------------------	--------------------------------------	--------------	--------------------------	---------------------------	---------------------------------------	--	-------------------------------------	-------------------------	--	------------------------------	----------------	--	-----------------------------	------------------------	----------------------	--	--------------------------------	---------------	-----------------------	---------------------------	---------------------------------	-----------------------------------	--------------------------------------	--------------------------	-----------------------	---	------------------------------------	-----------------	--	------------------------	----------------------------------	--	-----------	-----------------	------------------------	-------------------------------	--------------------------	-------------------------------------	-------------------	-------------

hormone-releasing hormone h² heritability i.m. intramuscular i.p. intraperitoneal i.v. intravenous hCG human chorionic gonadotropin HCW hot carcass weight Instructions for Authors of Journal of Animal Science HEPES N-(2-hydroxyethyl)piperazine-N'-2-ethanesulfonic acid HPLC high-performance (pressure) liquid chromatography i.d. inside diameter Ig immunoglobulin (when used to identify a specific immunoglobulin) IGF insulin-like growth factor IGFBP insulin-like growth factor-binding protein(s) IL interleukin IVDMD in vitro dry matter disappearance kb kilobase(s) KPH kidney, pelvic, heart fat L levoLD50 lethal dose 50% LH luteinizing hormone LHRH luteinizing hormone-releasing hormone LM longissimus muscle ME metabolizable energy MP metabolizable protein mRNA messenger ribonucleic acid MUFA monounsaturated fatty acid NAD nicotinamide adenine dinucleotide NADH reduced form of NAD NDF neutral detergent fiber NDIN neutral detergent insoluble nitrogen NE net energy NEg net energy for gain NEI net energy for lactation NEm net energy for maintenance NEFA nonesterified fatty acid No. number (use only in tables, not in the text) NPN nonprotein nitrogen NRC National Research Council o.d. outside diameter OIE World Organisation for Animal Health (Office International des Epizooties) OM organic matter PAGE polyacrylamide gel electrophoresis PBS phosphate-buffered saline PCR polymerase chain reaction PG prostaglandin PGF₂α prostaglandin F₂α PMSG pregnant mare's serum gonadotropin PPAR peroxisome proliferator-activated receptor PSE pale, soft, and exudative (meat) PUFA polyunsaturated fatty acid(s) QTL quantitative trait locus (loci) RDP ruminally degradable protein REML restricted maximum likelihood RFLP restriction fragment length polymorphism RIA radioimmunoassay RNA ribonucleic acid RQ respiratory quotient RUP ruminally undegradable protein rRNA ribosomal ribonucleic acid SAS SAS Institute Inc. (no longer stands for Statistical Analysis System) s.c. subcutaneous SDS sodium dodecyl sulfate SFA saturated fatty acid SNP single nucleotide polymorphism spp. species ssp. subspecies SSC *Sus scrofa* chromosome ST somatotropin TDN total digestible nutrients TLC thin layer chromatography Tris tris(hydroxymethyl)aminomethane tRNA transfer ribonucleic acid TSAA total sulfur amino acids USDA US Department of Agriculture UV ultraviolet VFA volatile fatty acid(s) vol volume vol/vol volume/volume (used only in parentheses) vs. versus wt weight (use only in tables, not in the text) wt/vol weight/volume (used only in parentheses) wt/wt weight/weight (used only in parentheses) LITERATURE CITED GUIDELINES FOR JOURNAL OF ANIMAL SCIENCE References in the Text. In the body of the manuscript, refer to authors as follows: Smith and Jones (1992) or Smith and Jones (1990, 1992). If the sentence structure requires the authors' names to be included in parentheses, the proper format is (Smith and Jones, 1982; Jones, 1988a,b; Jones et al., 1992, 1993). When there are more than 2 authors of an article, the first author's name is Instructions for Authors of Journal of Animal Science followed by the abbreviation et al. More than 1 article listed in the same sentence or parentheses must be in chronological order first and alphabetical order for 2 publications in the same year. Published, peer-reviewed articles, and not abstracts, should be cited. However, if authors originally described their work in a meeting abstract, proceedings paper, field-day report, or similar presentation and then expanded the information to produce a full-length manuscript, the authors should reference and cite those reports. If the work was someone else's and originally described in an abstract, proceedings paper, field-day report, or similar presentation, the authors should determine whether the work has been expanded and published as a peer-reviewed article, and then reference and cite the peer-reviewed article. Work that has not been accepted for publication shall be listed in the text as "J. E. Jones (institution, city, and state or country, personal communication)." The author's own unpublished work should be listed in the text as "(J. Smith, unpublished data)." Personal communications and unpublished data must not be included in the Literature Cited section. Literature Cited Section. To be listed in LITERATURE CITED, articles must be published or accepted for publication ("in press"). In-press citations should be updated with complete information during revision or in the author proofs. In LITERATURE CITED, citations are listed alphabetically according to author(s) last name(s), and then chronologically. The year of publication follows author names. As with text references, 2 or more publications by the same author or set of authors in the same year shall be differentiated by adding lowercase letters after the date. With the exception of consortia, the names of all authors must appear in LITERATURE CITED. For consortia, authors may include, as an acknowledgement on the title page, a link to the website containing the names and locations of the members of the consortium, or they may include the names and locations of the members of the consortium in an appendix, but not in an acknowledgement on the title page. Journal names shall be abbreviated according to the conventional ISO abbreviations used by PubMed (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nlmcatalog/journals>). One-word titles must be spelled out. Inclusive page numbers must be provided. Sample references are as follows: 1. Books and articles within edited books: AOAC. 1990. Official methods of analysis. 15th ed. Assoc. Off. Anal. Chem., Arlington, VA. NRC. 2000. Nutrient requirements of beef cattle. 7th rev. ed. Natl. Acad. Press, Washington, DC. Robinson, P. H., E. K. Okine, and J. J. Kennelly. 1992. Measurement of protein digestion in ruminants. In: S. Nissen, editor, Modern methods in protein nutrition and metabolism. Academic Press, San Diego, CA. p. 121–127. 2. Handbooks, technical bulletins, theses, and dissertations Goering, H. K., and P. J. Van Soest. 1970. Forage fiber analyses (apparatus, reagents, procedures, and some applications). Agric. Handbook No. 379. ARS-USDA, Washington, DC. Shreck, A. L., C. D. Buckner, G. E. Erickson, and T. J. Klopfenstein. 2011. Digestibility of crop residues after chemical treatment and anaerobic storage. In: 2011 Nebraska Beef Cattle Report. Rep. No. MP94. Univ. of Nebraska, Lincoln. p. 35–36. Sigma. 1984. Total hemoglobin: Quantitative, colorimetric determination in whole blood at 530–550 nm. Tech. Bull. No. 525. rev. ed. Sigma Chemical, St. Louis, MO. Ward, J. D. 1995. Effects of copper deficiency on performance and immune function of cattle. PhD Diss. North Carolina State Univ., Raleigh. 3. Journal articles and abstracts Centon, J. R., G. E. Erickson, T. J. Klopfenstein, K. J. Vander Pol, and M. A. Greenquist. 2007. Effects of roughage source and level in finishing diets containing wet distillers grains on feedlot performance. *J. Anim. Sci.* 85(Suppl. 2):76. (Abstr.) doi:10.2527/jas.2006-354 (NOTE: The doi is now considered part of a citation.) Cleale, R. M., IV, R. A. Britton, T. J. Klopfenstein, M. L. Bauer, D. L. Harmon, and L. D. Satterlee. 1987a. Induced non-enzymatic browning of soybean meal. II. Ruminal escape and net portal absorption of soybean protein treated with xylose. *J. Anim. Sci.* 65:1319–1326. (NOTE: Articles published before circa 2005 may not have a doi.) Perez, V. G., A. M. Waguespark, T. D. Bidner, L. L. Southern, T. M. Fakler, T. L. Ward, M. Steidinger, and J. E. Pettigrew. 2011. Additivity of effects from dietary copper and zinc on growth performance and fecal microbiota of pigs after weaning. *J. Anim. Sci.* 89:414–425. doi:10.2527/jas.2010-2839 Revidatti, M. A., J. V. Delgado Bermejo, L. T. Gama, V. Landi Periat, C. Ginja, L. A. Alvarez, J. L. VegaPla, A. M. Martínez, and BioPig Consortium. 2014. Genetic characterization of local Criollo pig breeds from the Americas using microsatellite markers. *J. Anim. Sci.* 92:4823–4832. doi: 10.2527/jas.2014-7848 The Bovine Hap Map Consortium. 2009.

Genome-wide survey of SNP variation uncovers the genetic structure of cattle breeds. *Science*. 324:528-532. doi 10.1126/science.1167936

4. Conference proceedings Bailey, E. A., J. R. Jaeger, J. W. Waggoner, G. W. Preedy, L. A. Pacheco, and K. C. Olson. 2012. Effect of weaning method on welfare and performance of beef calves during receiving. *Proc. West. Sec. Amer. Soc. Anim. Sci.* 63:25-29.

NMC. 1995. Summary of peer-reviewed publications on efficacy of premilking and postmilking teat disinfections published since 1980. In: *Natl. Mastitis Counc. Reg. Meet. Proc.*, Harrisburg, PA. *Natl. Mastitis Counc.*, Arlington, VA. p. 82–92.

Talmant, A., X. Fernandez, P. Sellier, and G. Monin. 1989. Glycolytic potential in longissimus dorsi Instructions for Authors of *Journal of Animal Science* muscle of Large White pigs as measured after in vivo sampling. In: *Proc. 35th Int. Congr. Meat Sci. Technol.*, Copenhagen, Denmark. p. 1129.

Van der Werf, J. H. J. 1990. A note on the use of conditional models to estimate additive genetic variance in selected populations. *Proc. 4th World Congr. Genet. Appl. Livest. Prod.*, Edinburgh, Scotland XIII:476–479.

5. Electronic Publications FDA. 2014. Approved animal drug products online (Green Book). <http://www.fda.gov/AnimalVeterinary/Products/ApprovedAnimalDrugProducts/default.htm> (Accessed 26 December 2014.)

Galyean, M. L. and P. J. Defoor. 2003. Effects of roughage source and level on intake by feedlot cattle. *J. Anim. Sci.* 81(E. Suppl. 2):E8–E16.

Heaton, M. P., T. S. Kalbfleisch, D. T. Petrik, B. Simpson, J. W. Kijas, M. L. Clawson, C. G. Chitko-McKown, G. P. Harhay, K. A. Leymaster, and the International Sheep Genomics Consortium. 2013. Genetic testing for TMEM154 mutations associated with lentivirus susceptibility in sheep. *PLoS ONE* 8(2): e55490. doi:10.1371/journal.pone.0055490

POLICIES REGARDING NUMBER USAGE FOR JOURNAL OF ANIMAL SCIENCE

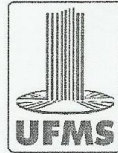
Number usage in JAS is consistent with the Scientific Style and Format: The CSE Manual for Authors, Editors, and Publishers.

- All cardinal numbers are written as numerals except when they begin a sentence or appear in a title, when 2 numerals are adjacent in a sentence (spell out the number most easily expressed in words; e.g., two 10-kg samples), or when a number is used as a figure of speech.
- Numbers less than 1 are written with a preceding (leading) zero (e.g., 0.75).
- A comma separator is used in numbers greater than 999 (e.g., 1,234 and 1,234,567).
- Numerals should be used to designate ratios and multiplication factors (e.g., 2:1 and 3-fold increase).
- Statements such as “5 times less” should be avoided because “times” means multiplied by, and the product of a positive number (multiplicand) multiplied by 5, for example, is greater, not less, than the multiplicand. The opposite is true for a negative multiplicand, but the notion of “5 times less than –5,” for example, may be not be clear to readers.
- If a number is spelled out at the beginning of a sentence, its associated unit is also spelled out (e.g., Ten microliters of fluid . . ., not Ten μ L of fluid . . .).
- Units of measurement not associated with a number should be spelled out rather than abbreviated (e.g., lysine content was measured in milligrams per kilogram of diet) unless used parenthetically, as “lysine content (mg/kg of diet) was measured,” or in tables and figures.
- Single-digit ordinals are spelled out (i.e., first through ninth); larger ordinals are expressed in numeric form. Single-digit ordinals may be expressed numerically when they form part of a series (e.g., 1st, 3rd, 10th, 20th, not first, third, 10th, and 20th).
- Measures must be presented in the metric system (SI or *Système International d’Unités*; see <http://physics.nist.gov/cuu/Units/introduction.html>).
- When a term must be expressed in nonmetric units for clarity (e.g., bushel weight), show the nonmetric value in parentheses immediately after the metric value.
- Use “to” instead of a hyphen to indicate a numerical range in text (e.g., 1 to 10).
- Avoid the use of multiplying factors (e.g., $\times 10^{-6}$) in table columns or rows, or in figure axis labels because of the uncertainty about whether the data are to be, or already have been, multiplied by the factor.
- Avoid ambiguity by stating units (e.g., numbers of spermatozoa, millions/mL).
- Do not use more than one slant line (for “per”) in a single expression; for example, use 5 mg/(g \cdot d) or 5 mg \cdot g $^{-1}$ \cdot d $^{-1}$ instead of 5 mg/g/d. Mathematically, “per” implies division; when 2 “per” occur consecutively, it is unclear precisely what is being divided by what.
- Dietary energy may be expressed in calories or in joules, although joule is the standard SI unit for energy.
- Hyphenate units of measure used as preceding adjectives (e.g., 5-kg sample). Hyphens are not used with percent or degree signs.
- Insert spaces around all signs (except slant lines) of operation when these signs occur between 2 values (e.g., 10 \pm 1; 5 < 10; 2 + 2 = 4).
- Convert “mg %” to other units, such as mg/L or mg/mL.
- Use “mol/100 mol” rather than “molar percent.”

ANEXO 3



Serviço Público Federal
Ministério da Educação
Fundação Universidade Federal de Mato Grosso do Sul



C E R T I F I C A D O

Certificamos que o projeto intitulado "Impacto da vacinação sobre o desempenho reprodutivo de vacas nelore multíparas", Protocolo nº 703/2015 sob a responsabilidade de **Ricardo Antônio Amaral de Lemos** - que envolve a utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata, para fins de pesquisa científica – encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovada pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS/CEUA da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul/UFMS, em reunião ordinária do dia 09 de setembro de 2015.

Vigência do Projeto	01/10/2015 a 30/12/2015
Espécie/Linhagem ou Raça	<i>Bos indicus</i> / Nelore
Números de Animais	750
Peso/Idade	400 kg a 460 kg/36 meses
Sexo	Fêmea
Origem (fornecedor)	Fazenda Seriema Agropecuária Ltda

M. Araújo Teixeira
Maria Araújo Teixeira

Coordenadora da CEUA/UFMS
Campo Grande, 11 de setembro de 2015.

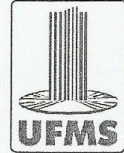
Pró-Reitoria de Pesquisa, Pós-Graduação e Inovação- PROPP

Cidade Universitária, s/n | Caixa Postal 549
Fone: 67 3345.7186 E-mail: gab.propp@ufms.br
CEP 79070-900 | Campo Grande | MS

ANEXO 4



Serviço Público Federal
Ministério da Educação
Fundação Universidade Federal de Mato Grosso do Sul



C E R T I F I C A D O

Certificamos que o projeto intitulado “Efeito da vacina contra febre aftosa na performance reprodutiva em vacas multíparas de corte em Mato Grosso do Sul, Brasil”, Protocolo nº 702/2015 sob a responsabilidade de **Ricardo Antônio Amaral de Lemos** - que envolve a utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata, para fins de pesquisa científica – encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovada pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS/CEUA da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul/UFMS, em reunião ordinária do dia 09 de setembro de 2015.

Vigência do Projeto	01/10/2015 a 30/12/2015
Espécie/Linhagem ou Raça	<i>Bos indicus</i> / Nelore
Números de Animais	600 40
Peso/Idade	400 kg/36 meses 250 kg a 420 kg/24 a 48 meses
Sexo	Fêmea
Origem (fornecedor)	Fazenda Seriema Agropecuária Ltda Fazenda Escola da FAMEZ/UFMS

Maria Araújo Teixeira
Maria Araújo Teixeira

Coordenadora da CEUA/UFMS
Campo Grande, 11 de setembro de 2015.

Pró-Reitoria de Pesquisa, Pós-Graduação e Inovação- PROPP
Cidade Universitária, s/n | Caixa Postal 549
Fone: 67 3345.7186 E-mail: gab.propp@ufms.br
CEP 79070-900 | Campo Grande | MS