

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
ESCOLA DE VETERINÁRIA
Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal**

**ESTUDO DO COMPLEXO DE DOENÇAS RESPIRATÓRIAS
DOS BOVINOS EM CONFINAMENTO DE TERMINAÇÃO:
Fatores de Risco, Aspectos Clínicos e Anatomopatológicos**

MATHEUS FERREIRA SERAFINI

**Belo Horizonte
Escola de Veterinária – UFMG
2016**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
ESCOLA DE VETERINÁRIA
Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal**

**ESTUDO DO COMPLEXO DAS DOENÇAS RESPIRATÓRIAS DOS BOVINOS
EM CONFINAMENTO DE TERMINAÇÃO:
Fatores de Risco, Aspectos Clínicos e Anatomopatológicos**

MATHEUS FERREIRA SERAFINI

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em ciência animal da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciência Animal.

Área de Concentração: Clínica e Cirurgia Veterinárias

Orientador: Antônio Último de Carvalho

Coorientador: Elias Jorge Facury Filho

**Belo Horizonte
Escola de Veterinária – UFMG
2016**

DEDICATÓRIA

Dedico a presente dissertação aos meus pais, Andréa Ferreira Serafini e Ilonir Carlos Serafini, que sempre estiveram ao meu lado, me encorajando a alcançar o que almejava, sem nunca recuar, e sem jamais desistir. Também ao meu irmão, Thiago Ferreira Serafini, que foi minha companhia durante escola e graduação, sendo o melhor amigo que se pode ter, e disposto a apoiar todas as escolhas, mas também, a chamar a atenção quando algo não ia certo.

AGRADECIMENTOS

A Deus, que tudo fez.

Ao Antônio Último de Carvalho, muito mais que um orientador, um amigo, a dar conselhos para toda a vida.

Ao Elias Jorge Facury Filho (Lobão), mais um grande mestre e amigo, participando do projeto e a ajudar sempre que foi necessário.

A Juliana Bicalho, ao meu lado desde o início do projeto, me apoiando e sendo um refúgio aos momentos difíceis, mostrando sempre que há um paraíso de alegrias no fim de tudo.

Ao Ronaldo, amigo e colega de mestrado e projeto, nos toleramos por 6 meses de projeto, e ainda nos contratemos do pós projeto.

Ao Felipe Pierezan, professor animado, disposto a ajudar pessoalmente a compreender um pouco os detalhes da histopatologia, e a motivar a continuação do projeto após duros contratemos.

A equipe do confinamento, que disponibilizou condição, estrutura e parte do financiamento do projeto, além de nos ajudarem no dia a dia na avaliação dos animais.

A Thaís Camargos e Markus Araújo, dois alunos de Iniciação Científica ímpares na escola, sem tempo ruim para nada, Markus foi voluntário para ajudar no confinamento durante o recesso de fim de ano e Thaís a preparar entre uma aula e outra o material da histologia.

A Letícia, colega de mestrado, que organizou a equipe a trabalhar nos cultivos bacterianos.

Ao Gustavo, que colaborou na redação do projeto e de revisões, e com a burocracia do programa de pós-graduação.

Ao Frederico, amigo para todas as horas, sempre com uma conversa motivadora e positiva.

A clínica de ruminantes da UFMG, que me acolheu e me proporcionou conviver com pessoas incríveis.

Aos estagiários curriculares Natalia, Vinícius, Álvaro e Flávio que nos apoiaram no confinamento durante sua estadia junto a UFMG.

Ao Filipe, colega do doutorado, que sempre tratou de receber as amostras encaminhadas a UFMG, e ainda a coordenar a ida de estagiários para ajudar no confinamento

As técnicas de laboratório Leimar e Natalia, que foram pacientes e simpáticas ao ensinar a arte de recortar o material para a histologia.

Ao Geder Herrmann, professor da UFSM, e amigo para todas as horas, além de boas conversas, estimulando a ser melhor, guiando o caminho acadêmico.

A FAPEMIG pela concessão de bolsa de estudo durante o mestrado.

A todos que de algum modo, por menor que fosse, ajudaram a chegar aqui.

Melhor que haja dois do que um, pois o trabalho de
ambos dará bons frutos. E caso um caia,
o outro erguerá seu companheiro.
(Eclesiastes 4:9-10)

SUMÁRIO

	RESUMO.....	9
	ABSTRACT.....	9
1.	INTRODUÇÃO.....	10
2.	OBJETIVOS.....	11
3.	REVISÃO DE LITERATURA.....	11
3.1	Perdas associadas ao DRB em sistema de confinamento.....	11
3.2	Anatomia, fisiologia e imunologia do sistema respiratório dos bovinos..	12
3.3	Fatores de risco.....	13
3.4	Complexo de doença respiratória dos bovinos.....	14
3.5	Patógenos do sistema respiratório dos bovinos.....	15
3.6	Alterações pulmonares frequentes dos bovinos.....	18
3.6.1	Edema pulmonar.....	19
3.6.2	Broncopneumonia.....	19
3.6.3	Pneumonia intersticial.....	20
3.6.4	Pneumonia broncointersticial.....	21
3.6.5	Pleurites.....	21
4.	MATERIAL E MÉTODOS.....	21
4.1	Local e período.....	21
4.2	Animais experimentais	23
4.3	Inspeção dos animais.....	23
4.4	Avaliação <i>post mortem</i> e coleta de material.....	24
4.5	Processamento, cultivo e isolamento bacteriano.....	26
4.6	Processamento e leitura histopatológica.....	26
4.7	Análise dos dados.....	26
5.	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	27
5.1	Chegada dos animais e inspeções.....	27
5.2	Fatores de risco.....	27
5.3	Avaliação <i>post mortem</i>.....	31
5.4	Diagnóstico definitivo.....	32
5.5	Doenças respiratórias.....	34
5.6	Isolados bacterianos.....	38
6.	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	39
7.	CONCLUSÃO.....	40
8.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	40
9.	ANEXOS.....	45
9.	Anexo 1: certificado do projeto na comissão de ética no uso de animais/ufmg.....	45

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Produção, consumo e exportações de carne bovina no Brasil.....	10
Figura 2	Apresentação confinamento.....	22
Figura 3	Perfil racial dos animais confinados.....	23
Figura 4	Inspeção dos currais.....	24
Figura 5	Sequência de necropsia e coleta de amostras.....	25
Figura 6	Animais desembarcados no confinamento.....	28
Figura 7	Temperaturas máximas e mínimas diárias e intervalo de conforto térmico para zebuínos.....	29
Figura 8	Ambiente após início das chuvas.....	30
Figura 9	Frequência de lesões macroscópicas encontradas nas necropsias de bovinos confinados em sistema de terminação, conforme localização.....	32
Figura 10	Bovino com abdução de membros para sustentação e lesão de polioencefalomalácia.....	32
Figura 11	Diagnósticos definitivos primários (associados a morte do animal), definidos após a comparação entre macroscopia e microscopia.....	33
Figura 12	Frequência de lesões pulmonares.....	35
Figura 13	Broncopneumonia supurativa com trombos de fibrina (400x).....	36
Figura 14	Pneumonia intersticial com células sinciciais (400x).....	37
Figura 15	Frequência de bactérias isoladas de pulmões e <i>swab</i> de bronquíolo.....	39

RESUMO

O Complexo da Doença Respiratória dos Bovinos (DRB) é uma síndrome respiratória, assim denominada quando de diagnóstico ainda incerto. Traz grandes prejuízos econômicos aos sistemas de terminação do tipo confinamento e impacta negativamente o bem-estar dos animais. O objetivo deste trabalho foi identificar as principais lesões no sistema respiratório dos animais que morreram e seus prejuízos no sistema de produção. O experimento foi conduzido em confinamento de terminação no sudeste do Brasil, que possuía capacidade de 16.625 bovinos machos, predominantemente zebuínos, alojados em currais de cascalho batido a céu aberto. Por um período de 6 meses foi monitorado o dia a dia do confinamento com inspeção, avaliação clínica dos animais doentes e realização de necropsia de 134 animais que morreram, coletando-se amostras de tecidos em formol tamponado a 10% seguido de processamento e análise histopatológica afim de caracterizar as lesões. As alterações macroscópicas e microscópicas foram registradas e comparadas para definir a causa da morte. Do total de 134 animais que morreram, em 94,8% foram encontradas lesões em algum sistema, sendo que 44,1% apresentaram alterações no trato respiratório, 6,7% no sistema nervoso, 5,2% no sistema urinário e 0,8% no sistema digestivo.

Palavras-Chave: Mortalidade; Doença respiratória, Histopatologia.

ABSTRACT

The Bovine Respiratory Disease Complex (BRDC), a respiratory syndrome, so-called when uncertain definitive diagnosis. Cause of large losses in feedlot an injury to the animal welfare. The aim of this study was to identify the major injuries on respiratory tract within the animals that died and it losses to the feedlot. The experiment was conducted in a beef feedlot at Brazilian southeastern, with a carrying of 16.625 beef steers, predominantly zebu, housed in rubble pens. For a period of six months, was monitored the daily life of feedlot with inspection, clinical and necropsy examination of 134 bovines that died, and samples was collected in formalin 10% following by histological processing and analysis to determine the injuries. The macroscope and microscope changes were registered and compared to define the cause of death. From a total of 134 death animals, in 94,8% lesions were found in any system, and 44,1% had alterations in the respiratory tract, 6,7% in the nervous system, the urinary system 5,2% and 0,8% in the digestive system.

Keywords: Mortality; Respiratory disease; histopathology.

1. INTRODUÇÃO

O crescimento da população mundial demanda o aumento da produção de alimentos e desafia as variadas esferas da produção e o setor de carne não será diferente (FAO, 2009). No Brasil, a evolução do rebanho bovino tem sido expressiva ao longo dos anos, passando de 202.287.191 em 2008 para 205.292.370 cabeças em 2009, com crescimento total de 1,5%. Minas Gerais ocupa o segundo lugar, com 22.469.761 cabeças e está atrás apenas do estado do Mato Grosso, que possuía 27.357.089 em 2009 (IBGE, 2009). Tal aumento nos rebanhos proporciona um maior adensamento desses animais e confere um grande desafio sanitário nos rebanhos dentre os diversos tipos de sistemas produtivos.

Já a produção global de carne bovina, que teve um grande declínio entre 2005 e 2006 e estando estagnada até 2010, apresentou um crescimento considerável a partir de 2014, e espera-se uma taxa de crescimento de 1,8% ao ano até 2021 (OCDE/FAO, 2015). No Brasil, as projeções são ainda mais otimistas, prevendo um crescimento de mais de 2% ao ano. Esse crescimento permitirá ao país atender a demanda do mercado interno e ainda aumentar a balança de exportação, fornecendo mais carne ao mercado externo como mostra a Figura 1. Tal projeção representa um acréscimo em volume de 22,5%, ou seja, passando de 8.930 mil toneladas de carne produzidas em 2013 para 10.935 mil toneladas em 2023 (OCDE/FAO, 2015).

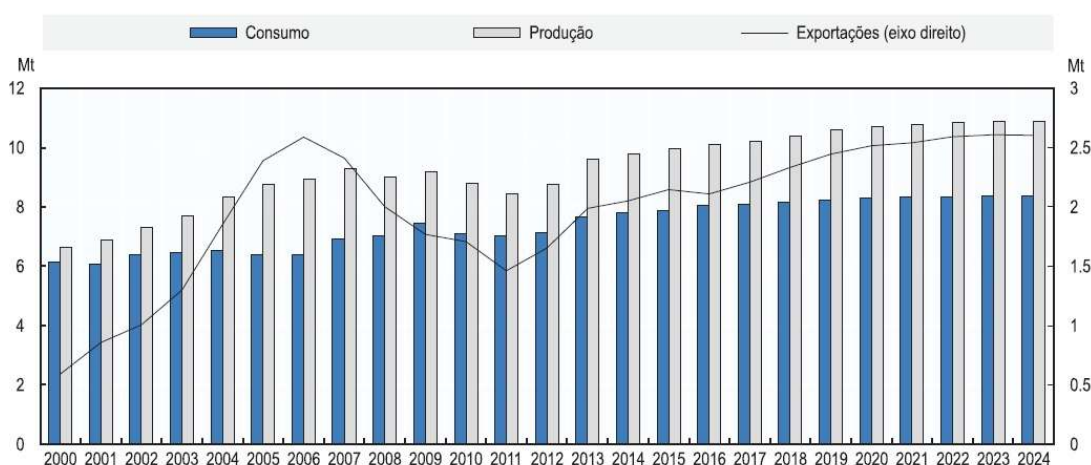


Figura 1: Produção, consumo e exportações de carne bovina no Brasil. (OECD/FAO, 2015).

Para atingir esses índices produtivos, as técnicas devem ser aprimoradas, o controle nutricional, de manejo e sanitário intensificados e a mão-de-obra envolvida capacitada.

Diversos fatores podem comprometer a eficácia desses sistemas de produção, inclusive dos confinamentos, e dentre esses estão os problemas sanitários. Smith (1998) relatou redução de 0,230 kg/dia para animais que apresentaram algum episódio de doença respiratória durante o período de confinamento, e Morck *et al.* (1993), reportaram perdas da ordem de 0,330 kg para animais com mais de um episódio clínico quando comparados a animais clinicamente sadios no

mesmo período. Logo, dentre os problemas, destaca-se o Complexo de Doença Respiratória dos Bovino (DRB).

Devido à grande importância da pecuária de corte no Brasil, mais estudos se fazem necessários para melhor entendimento das síndromes respiratórias nos confinamentos nacionais.

2. OBJETIVOS

Identificar as principais alterações clínicas em confinamento de terminação de bovinos, os fatores de risco e determinar as principais alterações anatomohistológicas do sistema respiratório de bovinos que morreram em confinamento de terminação e os agentes etiológicos bacterianos.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1. Perdas associadas ao DRB em sistema de confinamento

As perdas econômicas incluem, mas não estão restritos ao valor de compra dos animais, custos de alimento consumido, custos com medicamento e mão-de-obra, custos com descarte e com investimentos (Loneragan *et al.*, 2001).

Um estudo por Loneragan *et al.* (2001) mostra que as perdas por morte nos confinamentos americanos por doença respiratória aumentaram de 10,3 para 14,2 mortes por 1000 animais alojados de 1994 para 1999 respectivamente. Os confinamentos, neste estudo, variavam em capacidade de alojamento de 100 a até 130.000 animais.

Segundo Babcock *et al.*, (2010), o DRB é a causa mais comum de doença pós desmama em bovinos de corte e apesar dos esforços no desenvolvimento de medicações e terapias, esse complexo responde por cerca de 75% da morbidade e 50% da mortalidade nos confinamentos americanos, e estes índices não estão diminuindo (Edwards, 2010; Smith, 1998; Edwards, 1996; Jensen *et al.*, 1976).

Relatos de custos associados com tratamentos do DRB, mortalidade e queda na eficiência alimentar ultrapassam 750 milhões de dólares anuais nos Estados Unidos (Snowder *et al.*, 2006; Chirase *et al.*, 2001). Segundo Fulton *et al.* (2002), animais que receberam pelo menos um tratamento retornaram aproximadamente 40 dólares a menos, e animais com 3 tratamentos para as doenças respiratórias retornaram 290 dólares a menos em relação a animais que não precisaram ser tratados. Griffin *et al.* (2010) nos Estados Unidos afirmam que custos com perda de produção, mão de obra, tratamento e morte de animais estejam acima de 1 bilhão de dólares.

Apesar da mortalidade ser a primeira preocupação em confinamentos, os prejuízos com a morbidade são maiores, considerando não apenas os custos com mão de obra, tratamentos e abate precoce por doenças crônicas, mas também por baixo desempenho dos indivíduos durante a doença e mesmo após ela (Snowder *et al.*, 2006; Smith, 1998). A diferença no ganho de peso

médio diário (GMD) dos animais acometidos por doenças respiratórias são expressivos (Taylor *et al.*, 2010).

Em um confinamento de 90 dias no Canadá, Moreck *et al.* (1993) relataram que novilhos com um episódio de doença respiratória obtiveram um GMD de 0,180 kg a menos que os que permaneceram saudáveis, e com 2 ou mais episódios obtiveram um GMD 0,330 kg menor, assim mostrando um impacto negativo considerável.

Smith (1998) ainda sugere que os prejuízos no GMD de animais que apresentaram um ou mais episódios de doença respiratória podem persistir até o fim do período confinado, quando estes são comercializados, mesmo que exista algum ganho compensatório. Segundo o mesmo autor, somado a perda de desempenho há os custos com medicação, que podem variar de 20,76 a 37,90 dólares por animal tratado.

3.2. Anatomia, fisiologia e imunologia do sistema respiratório dos bovinos

Anatomicamente, o sistema respiratório dos bovinos possui peculiaridades que podem predispor à ocorrência de quadros respiratórios, dentre essas peculiaridades pode-se citar as vias aéreas anteriores (VAA's) mais estreitas, que produzem um maior efeito de turbilhonamento e suspensão de partículas; caixa torácica rígida que faz do diafragma o responsável pela ventilação somado a uma grande árvore traqueobrônquica que mantém um grande volume de ar residual no pulmão, e gradativamente tende a ficar mais contaminada; lóbulos bem delimitados por tecido conjuntivo e com ventilação colateral quase inexistente, dificultando o processo de resolução e agravando as sequelas e ainda um pequeno volume pulmonar frente ao peso corporal quando comparado a outras espécies, exigindo com que as trocas gasosas tenham que ser mais eficientes (Coutinho, 2005; Dice *et al.*, 2004; Ackermann *et al.*, 2010).

Mesmo a exposição constante a agentes infecciosos tanto do ambiente, como comensais das VAA's, não resulta em processos infecciosos (pneumônicos) quando diferentes mecanismos de defesa do sistema respiratório se mantêm íntegros e funcionais (Coutinho, 2004).

A superfície epitelial do sistema respiratório é a primeira linha de defesa (inata) contra patógenos e comensais, que dispõem de barreiras físicas, secretórias e celulares para evitar a infecção pelos agentes associados a doença respiratória bovina. Os processos físicos compreendem a filtração do ar inspirado e remoção de partículas contaminantes pelo aparelho mucociliar, que se estende da traqueia aos bronquíolos terminais e está associado ao reflexo de tosse para a eliminação de secreções. As barreiras secretórias são, como sugere, o muco, e produtos nele solubilizados (imunoglobulinas da classe A e G, proteínas, enzimas e outros constituintes) que atuam regulando o pH, impedindo adesão e captação de nutrientes pelas bactérias e induzindo a lise de células bacterianas. Já os processos celulares, realizados pelos Macrófagos Alveolares Pulmonares (MAP's), participam fagocitando debris celulares, destruindo

microrganismos, recrutando células imunes e auxiliando na reparação do epitélio lesado (Griffin *et al.*, 2010; Coutinho, 2005).

O epitélio dos pulmões é composto por pneumócitos tipos I, tipo II e células claras. Sendo os pneumócitos tipo I responsáveis pelas trocas gasosas, produção de surfactante e proliferação de novos pneumócitos tipo I; já os pneumócitos tipo II são globosos e ineficientes em realizar trocas, entretanto dividem rapidamente para ocupar o epitélio lesado e maturam em pneumócitos tipo I e também produzem surfactante para evitar o colapso alveolar; as células claras são capazes de produzir os 3 tipos de células (pneumócitos tipos I e II e células clara) e tem a função de detoxificação através da enzima citocromo p450, das toxinas inaladas ou produzidas por bactérias (Ackermann *et al.*, 2010).

As VAA's dos animais contêm patógenos naturalmente, como comensais, porém em animais estressados a densidade destes aumenta e tais bactérias são inaladas e podem aderir e colonizar a superfície do trato respiratório inferior, principalmente sobre lesões primárias causadas tanto por agentes virais, quanto por agentes irritantes como a amônia. Já nos pulmões, a superfície epitelial conta com as proteínas surfactantes A e D e peptídeos de defesa que aderem à superfície bacteriana e opsonizam a fagocitose pelos MAP's e neutrófilos recrutados. Em aproximadamente 4 horas, animais saudáveis são capazes de eliminar 90% das bactérias de uma dose administrada por via inalatória (Griffin *et al.*, 2010).

Coinfecções com vírus ou bactérias, como o *Mycoplasma bovis*, têm sido sugeridas como prejudiciais para a remoção de outras bactérias infectantes e resulta em lesões pulmonares, uma vez que lesam ou interferem no funcionamento normal do aparelho mucociliar (Griffing *et al.*, 2010).

3.3. Fatores de Risco

As intensificações dos sistemas de produção impõem certos desafios para manter um ambiente saudável, e frequentemente resultam em aumento no desafio para os animais.

A distância percorrida pelos animais interfere com a ocorrência de doença respiratória, sendo que quanto mais longa, maior a incidência. Sanderson *et al.* (2008) alegam que biologicamente é plausível que o *stress* elevado pelo tempo prolongado de transporte predisponha os quadros respiratórios.

No mesmo trabalho de Sanderson *et al.* (2008), currais com grupos mistos de novilhos e novilhas apresentam maior morbidade para a DRB quando comparados com currais de apenas novilhos ou novilhas. Outro estudo em confinamentos no período de 97 a 99 mostrou um aumento na mortalidade por DRB em novilhas quando comparados com novilhos (Loneragan *et al.*, 2001).

Currais com animais oriundos de diversas propriedades também constituem fator de risco estabelecido e contribuem para o aumento da morbidade para DRB devido ao elevado *stress* da mistura dos animais e a reorganização social até a nova hierarquia no grupo ser estabelecida. E

ainda, a mistura pode expor a contato de agentes imunologicamente desconhecidos, predispondo o início de um surto. É considerado agravante a mistura inclusive durante o transporte, com a coleta de animais de diferentes origens pelo mesmo caminhão (Ribble *et al.*, 1995). Sanderson *et al.* (2008) relata que bezerros misturados de origens diferentes são duas vezes mais propensos a DRB no confinamento.

Confinamentos maiores têm maior morbidade de DRB, Segundo USDA (2000), confinamentos americanos com capacidade estática maior de 8000 animais têm 15,5% de incidência contra 8,7% de confinamentos menores, possivelmente devido a melhores sistemas de identificação e melhores programas sanitários implantados conforme sugere a USDA (2000).

O peso inicial na entrada do confinamento está associado ao aumento da morbidade. É esperado um aumento de DRB em animais mais leves e jovens quando comparados a animais mais pesados (Johnson, 1985). Animais mais leves são usualmente mais jovens e imaturos frente a animais pesados e tiveram menos oportunidades de contato com os patógenos e resultando em menor imunidade (Sanderson *et al.* 2008).

O uso de vacinas é controverso e gera discussões sobre sua eficácia no confinamento. Sanderson *et al.* (2008) alegam que no estudo não foram encontradas diferenças entre vacinados e não vacinados com vacina viva atenuada. E apesar de ser comum o uso de programa vacinais preventivos na chegada ao confinamento, poucos estudos estão disponíveis para suportarem o uso dessas vacinas (Perino e Hunsaker, 1997).

Dados oriundos da maioria dos estudos apresentam um ponto de possível falha, já que os dados de múltiplas fazendas são auto relatadas e os diagnósticos podem ser mal interpretados ou não adequadamente atribuídos. Entretanto, é consenso comum que a identificação de DRB inclui depressão, aumento da frequência respiratória ou dificuldade respiratória e elevada temperatura corporal (Sanderson *et al.*, 2008; USDA, 2000; Perino e Hunsaker, 1997).

3.4. Complexo de doença respiratória dos bovinos

O Complexo de Doença Respiratória dos Bovinos (DRB) é um conjunto de doenças infecciosas que acomete o sistema respiratório e é assim denominado quando o diagnóstico exato ainda é incerto. Possui origem multifatorial e impacta negativamente a pecuária de corte e o bem-estar animal (BEA) (Regev-Shoshani, 2014; Taylor *et al.*, 2010; Urban-Chmiel *et al.*, 2012).

Os bovinos são expostos a diversos patógenos ao longo da vida e muitos dos envolvidos nas doenças respiratórias são comensais das VAA's (Callan *et al.*, 2002). Usualmente, as doenças respiratórias têm início por meio de irritação química ou infecção viral que dependem da virulência, da susceptibilidade do hospedeiro e a interação desses fatores com o ambiente permitem o desenvolvimento de infecção bacteriana. A interação entre o hospedeiro, patógenos e ambiente é complexa e dinâmica (Edwards, 2010; Taylor *et al.*, 2010).

Clinicamente o DRB pode ser de difícil identificação. Os animais podem apresentar desde alterações discretas até formas agudas e letais. Alguns sinais encontrados são dispnéia, frequência respiratória aumentada, tosse, descarga nasal e ocular, grau variado de depressão, inapetência e anorexia, febre acima de 41°C, evidência de pneumonia, ruídos pulmonares a auscultação. Os sinais tornam-se mais intensos com a progressão da doença, a qual responde de forma variável aos tratamentos antimicrobianos de amplo espectro (Griffin *et al.*, 2010; Radostits *et al.*, 2000).

A principal característica do DRB é a pneumonia. Entretanto, determinar a etiologia da pneumonia é um desafio clínico, e que muitas vezes só pode ser diagnosticado a partir de exames complementares ou, até mesmo, necropsia (Blodörn, 2015; Taylor *et al.*, 2010).

3.5. Patógenos do sistema respiratório dos bovinos

Segundo Ackermann *et al.* (2010), as VAA's são colonizadas por diversos microrganismos que foram inalados e lá replicaram durante a vida. Estes organismos possivelmente ocupam nutrientes e receptores de superfície e impedem adesão e colonização por patógenos. Os agentes comensais são *Bacillus sp*, *Streptomyces sp*, *Micrococcus sp* e *Pseudomonas sp*. Enquanto que as VAA's e as partes iniciais dos pulmões são colonizadas por estas bactérias, as áreas mais profundas dos pulmões de animais saudáveis permanecem relativamente estéreis.

O DRB ocorre por interações diversas de patógenos virais e bacterianos, e ainda associados as condições ambientais para seu desenvolvimento. Os patógenos virais mais comuns são o Herpes Vírus Bovino tipo-1 (BoHV-1), o Vírus da Diarreia Viral bovina (BVDV), o vírus da Parainfluenza tipo - 3 (PI-3) e o Vírus Respiratório Sincicial Bovino (BRSV), que estão presentes na infecção primária. Já os bacterianos mais comumente envolvidos são a *Mannheimia haemolytica*, *Pasteurella multocida*, *Histophilus somni* e *Mycoplasma bovis*, sendo a *M. haemolytica* o agente mais importante. Essas bactérias são ubíquas nas populações de bovinos como comensais na nasofaringe, e seguindo de fator de estresse ou infecção viral podem proliferar e ser inaladas para o pulmão, levando a destruição de tecidos e inflamação intensa. (Blodörn, 2015; Urban-Chmiel *et al.*, 2012; Edwards, 2010; Griffin *et al.*, 2010; Confer, 2009; Radostits *et al.*, 2000).

Os vírus reduzem a capacidade do sistema respiratório de eliminar patógenos através da destruição do epitélio mucociliar e por induzirem imunossupressão. Como exemplo, a replicação do Vírus da Diarreia Viral Bovina destrói o aparelho mucociliar e limita a atividade dos MAP's por induzir imunossupressão, predispondo a infecções bacterianas secundárias (Taylor *et al.*, 2010; McGavin *et al.*, 2007; Griffin, 1998). Toxinas como a 3-methyl-indolamine, produto da atividade da enzima citocromo p450 durante certos processos de detoxificação, e outras condições de imunossupressão também permitem o aumento da multiplicação de patógenos no epitélio do sistema respiratório (Ackermann *et al.*, 2010).

O BRSV é dependente do *status* imunológico do hospedeiro, sendo geralmente uma infecção assintomática, tendendo a ser mais grave em animais mais jovens. A infecção inicia pela cavidade nasal e progride pelo trato respiratório levando a destruição do epitélio ciliar da traqueia, brônquios e bronquíolos quando em episódios de estresse. O aumento do acúmulo de muco não removido pelo aparelho mucociliar e os debris de tecido necrótico cria-se um ambiente propício a colonização bacteriana (Blodörn, 2015; Griffin *et al.*, 2010).

O BoHV-1 é considerado o vírus respiratório mais importante nos confinamentos. Produz necrose do aparelho mucociliar e torna ineficiente o sistema de remoção do muco, que associado a lesões no epitélio das vias aéreas anteriores, predispõem a colonizações bacterianas secundárias e agravam a condição clínica (Griffin *et al.*, 2010; Taylor *et al.*, 2010; Griffin, 1998).

O PI-3 está associado a pouca ou nenhuma desordem clínica em bovinos adultos. A doença é grave em bezerras, enquanto que adultos permanecem assintomáticos. Entretanto, o PI-3 predispõe, em animais adultos, a infecções pulmonares secundárias e então ocorre a manifestação clínica do DRB (Griffin *et al.*, 2010).

Quando os animais são expostos a qualquer estresse ou injúria ao trato respiratório, várias bactérias, comensais ou do ambiente, podem se estabelecer e iniciar um processo infeccioso. Assim, pneumonias bacterianas são as causas mais frequentes de mortalidades e perdas econômicas associadas ao DRB (Taylor *et al.*, 2010; Cardoso, 2002).

A *M. haemolytica* (*Pasteurella haemolytica*) é uma bactéria Gram negativa, e é a causa mais comum de pneumonia. Juntamente com a *P. multocida* desenvolvem uma forma fatal de pneumonia, sendo que os mecanismos de colonização são variados e precisam ser melhor elucidados. Os vírus e micoplasmas podem atuar de forma sinérgica para que se tornem patogênicas. A manheimiose ocorre mais frequentemente após um episódio de estresse, tais como transporte (febre dos transportes), mistura de grupos animais diferentes, ventilação ou alojamento inadequados dos animais (Griffin *et al.*, 2010).

A manheimiose caracteriza-se clinicamente por uma broncopneumonia aguda e toxemia. Patologicamente há uma pneumonia lobar exsudativa, localizada crânio ventral, com presença de fibrina em abundância no exsudato, podendo apresentar pleurite fibrinosa (McGavin *et al.*, 2007; Catry, 2005).

Tal condição clínica é conhecida por “febre dos transportes”. Esse termo enfatiza situação de estresse que culmina na queda imunológica do indivíduo e predispões a ocorrência da doença, sendo a “febre dos transportes” uma síndrome multifatorial e complexa. *M. haemolytica* é um habitante normal da nasofaringe e tonsilas dos bovinos e é oportunista em relação a lesões primárias e *status* imune do hospedeiro para o desenvolvimento de doença (Singh *et al.*, 2011).

Na avaliação de um grupo de animais alojados, mortes rápidas e sem sinais clínicos, nas primeiras duas semanas de alojamento, podem ser indícios da presença da *M. haemolytica*. Os animais doentes, com mais dias de evolução, apresentam-se com o flanco deprimido devido a

anorexia e podem ter corrimento nasal purulento associado a um aumento na frequência respiratória. Tais fatores podem ser utilizados para determinar se uma avaliação individual rigorosa dos animais se faz ou não necessária (Taylor *et al.*, 2010; Radostits *et al.*, 2000).

No exame clínico do indivíduo, a forma clássica de aparecimento da manheimiose é a detecção de febre acima de 40°C na aferição da temperatura retal, corrimento nasal mucopurulento, abdome emaciado e atonia ruminal, tosse, dispneia e ruídos na auscultação pulmonar (Catry, 2005). No entanto, os achados podem ser variados e uma interpretação da situação geral é necessária.

Segundo Radostits *et al.*, (2000), a morbidade pode chegar a 35% do rebanho e a mortalidade destes pode ser de até 5%, mantendo-se geralmente próximo de 1% dos indivíduos acometidos. Alguns estudos apontam que esses valores podem ser maiores, chegando até 65% de morbidade e destes, uma mortalidade próxima de 15% (Kelly *et al.*, 1989).

A manheimiose é a principal causa de morte no sistema de engorda americano, e além dos custos por mortes, o custo com tratamento são consideráveis, e quando a ocorrência da doença apresenta altas taxas de incidência, o tratamento em massa de todos os animais deve ser considerado (Catry, 2005; Smith, 1998; Morck, 1993).

A *Pasteurella multocida* encontrada como comensal das VAA's dos bovinos, causa doença em animais jovens. Encontrar a bactéria em cultivos das VAA's de animais sadios é comum (a frequência varia de 20 a 60% dos indivíduos) (Dabo *et al.*, 2007), e quando encontrada em animais doentes não pode ser considerada como uma relação causal direta (Griffin *et al.*, 2010).

Juntamente com *M. haemolytica* faz parte do complexo febre dos transportes e da pneumonia enzoótica dos bezerras. E apesar do alto isolamento da *P. multocida* nas VAA's em animais clinicamente sadios, em animais doentes o isolamento é duas vezes mais frequente (Griffin *et al.*, 2010; Dabo *et al.*, 2007).

Para o desenvolvimento da pasteurelose é necessária a presença dos fatores causais do DRB. Uma relação pode ser evidenciada quando a principal (se não a única) bactéria isolada em pulmão de animal clinicamente doente é a *P. multocida*. O diagnóstico de *P. multocida* por microbiologistas tem sido mais frequente em casos de pneumonia fatal em confinamentos, indo contra anos de relatos da *M. haemolytica* como principal patógeno associado ao DRB fatal em confinamentos, é atribuído que essa mudança na frequência de cada patógeno se deve principalmente a alteração nos sistemas, com animais sendo confinados cada vez mais jovens e com maior lotação (Griffin *et al.*, 2010; Dabo *et al.*, 2007; Chirase *et al.*, 2004).

O *Histophilus somni* (antigamente *Haemophilus somnus*) é outro comensal das VAA's dos bovinos, e tem potencial patogênico. Pode causar septicemia, pleuropneumonia, miocardite, falhas reprodutivas e mastite (Griffin *et al.*, 2010; Mcgavin *et al.*, 2007).

A doença causada pelo *H. somni* foi primeiramente descrita como meningoencefalite, entretanto, na última década, o diagnóstico de miocardite, pleurite fibrinosa e broncopneumonia supurativa tem sido realizado com mais frequência. Já nos confinamentos, é difícil determinar o agente primário desencadeador do DRB, uma vez que as interações e o sinergismo entre os agentes acontecem e a coleta de material pode favorecer a recuperação de um ou outro agente, principalmente quando se é coletado apenas de uma única área afetada (Griffin, 1998).

Como nas demais, a pneumonia por *H. somni* ocorre nos confinamentos em animais jovens e submetidos a situações de estresse (transporte, interações sociais e outros). No Canadá o complexo pleurite, miocardite e pneumonia é a forma mais comum e causa uma expressiva mortalidade. O óbito por pneumonia ocorre nas primeiras 5 semanas de alojamento dos animais. Os achados clínicos são inconclusivos e para sua diferenciação das demais causas se faz necessário o isolamento bacteriano (Griffin *et al.*, 2010; Radostits *et al.*, 2000).

O papel do *Mycoplasma bovis* é melhor conhecido no DRB dos bezerros. Trabalhos definindo seu envolvimento não são tão claros quanto das demais bactérias (Griffin *et al.*, 2010; Griffin, 1998).

A manifestação clínica surge associada a fatores de estresse, sendo que este pode ser um agente predisponente para a ocorrência das demais bactérias. O *M. bovis* pode estar associado com otites médias, artrite e, inclusive, bacteremia, fazendo com que seja encontrado em vários tecidos diferentes, mesmo após o fim da bacteremia que dura aproximadamente 7 dias (Griffin *et al.*, 2010; Radostits *et al.*, 2000).

A maioria dos animais permanecem assintomáticos, porém quando associado com *M. haemolytica* a pneumonia tende a ser muito mais severa, e o quadro respiratório muito mais grave se comparada apenas a *M. haemolytica* isolada. Parece haver um sinergismo entre estes patógenos, e que mantém a dúvida se o *M. bovis* tem algum papel primário no DRB ou é apenas um agente predisponente (Griffin *et al.*, 2010; Taylor *et al.*, 2010; Griffin, 1998).

As lesões pulmonares podem variar de áreas com edema até broncopneumonia necrótica, e, posteriormente, áreas de necrose caseosa que podem estar mais líquidas se ali houverem colonizações secundárias (Griffin *et al.*, 2010; McGavin *et al.*, 2007).

3.6. Alterações pulmonares frequentes dos bovinos:

As lesões pulmonares são diversas, e variam conforme o tipo e severidade da doença. Doenças bacterianas tendem a possuir mais exsudato e acumular conteúdo, enquanto que lesões virais e tóxicas tendem a ser mais inflamatórias e com espessamento da parede de alvéolos e bronquíolos.

3.6.1. Edema pulmonar:

É uma alteração frequente, manifestada em diversas condições clínicas. No pulmão, prejudica a troca de gases e compromete severamente o funcionamento do órgão. Diversos tipos de pneumonia podem levar a formação do edema, principalmente as que causam lesão alveolar (pneumonia intersticial), sendo assim, não há uma situação única para sua formação (Panciera *et al.*, 2010).

Os mecanismos para formação de edema podem ser variados, como aumento da permeabilidade vascular comumente associados a doenças infecciosas, tóxicas e reações de hipersensibilidade. Outras causas como aumento da pressão hidrostática intravascular, redução da pressão osmótica intravascular (hipoalbuminemia principalmente) e drenagem linfática comprometida são menos comuns nas doenças respiratórias, mas podem ser expressadas secundariamente, como na síndrome pleurite-pericardite, comprometendo a drenagem sanguínea do pulmão e elevando a pressão hidrostática (Panciera *et al.*, 2010; McGavin *et al.*, 2007).

É caracterizado por um fluido amarelado claro, com pouca proteína e interstício espesso. Quando ocorre em tecidos adjacentes a cavidades, como nos alvéolos pulmonares, o fluido tende a extravasar para dentro da cavidade, apresentando aspecto espumoso. Histologicamente, o edema é amorfo e eosinofílico claro devido a presença de proteína (McGavin *et al.*, 2007).

3.6.2. Broncopneumonia:

Frequente em períodos quentes nos confinamentos, estudos mostram alta correlação entre broncopneumonia e pneumonia intersticial (Valles, 2010). É a forma mais comum de pneumonia em bezerros desmamados e bovinos jovens alojados em confinamentos (Panciera *et al.*, 2010).

Macroscopicamente a broncopneumonia se caracteriza por lesão exudativa, que se origina na junção bronquíolo-alveolar. Frequentemente afetam a região crânio-ventral do pulmão. Microscopicamente apresenta grande quantidade de neutrófilos nos sítios de lesão. Fisiologicamente, essa área é mais sujeita a acúmulos de partículas e possui reduzida atividade do aparelho muco-ciliar, predispondo a infecções bacterianas. As infecções podem ocorrer por bactérias comensais das VAA's, em situações de falsa via (aspiração). *M. haemolytica*, *H. somni* e *P. multocida* são agentes encontrados frequentemente associados a ocorrência de broncopneumonia em bovinos (Blodörn, 2015; Jubb *et al.*, 2007; Doster, 2010).

As lesões por *M. haemolytica* estão mais associados a animais estressados e após transporte, bem como após a desmama. Caracterizam-se principalmente por broncopneumonia com fibrina (fibrinosa) e pode ser atribuída, se menos extensa, a *H. somni*. As regiões afetadas são firmes e quando severa pode levar a pleurites fibrinosas através da destruição do parênquima e integridade vascular permitindo a dispersão do agente pela pleura (Panciera *et al.*, 2010).

Lesões por *P. multocida* são a causa mais comum de doença respiratória em bovinos leiteiros jovens. Caracteriza-se por broncopneumonia supurativa e quando crônica os pulmões ficam mais consolidados e ocorrem acúmulos pus e formação de abscessos (Pancieri *et al.*, 2010).

3.6.3. Pneumonia intersticial:

Pneumonia intersticial é frequente em animais confinados e caracteriza-se por alteração alveolar difusa, edema e formação de membranas hialinas, com lesão de células endoteliais e pneumócitos tipo I, além de proliferação de pneumócitos tipo II e fibrose alveolar. Pode ter origem infecciosa (bactérias e vírus) ou não infecciosa (agentes tóxicos inalados ou da corrente sanguínea) (Jubb *et al.*, 2007; Ackermann *et al.*, 2010).

Os quadros clínicos são frequentemente observados durante os períodos quentes e secos (Valles, 2010). Os sinais são observados alguns dias após o alojamento no confinamento, e alguns animais morrem com menos de 24h após início da manifestação clínica. Os sinais comuns são dispneia, salivação excessiva com espuma na boca, alongamento do pescoço e abdução dos membros torácicos. No entanto é difícil diferenciar de outras doenças do DRB, e a melhor forma de determinar o diagnóstico é através das alterações macroscópicas e microscópicas (Doster, 2010).

Apesar de comprometer a totalidade do órgão, as regiões caudo-dorsais do pulmão tendem a serem mais afetadas, ao contrário da broncopneumonia, onde regiões crânio-ventrais são as mais afetadas. Os principais agentes infecciosos envolvidos na pneumonia intersticial são os vírus, e entre eles, o BRSV, o PI-3 e o BoHV-1. E ainda para animais confinados, como causa não infecciosa podemos citar as lesões causadas pela amônia e o 3-Methylindol (Pancieri *et al.*, 2010; Ackermann *et al.*, 2010; Valles, 2010).

Apresenta-se nas formas aguda e exsudativa, subaguda e proliferativa e crônica e fibrosante. Na fase aguda, o septo alveolar apresenta-se congesto, com edema e acúmulo de material floculado nos alvéolos, podendo ser fatal. Já a fase subaguda caracteriza-se por proliferação de pneumócitos tipo II (células cuboides na superfície do alvéolo) em resposta à injúria, causada pelo edema e o processo inflamatório. Essas células possuem rápida capacidade de ocupar a superfície lesada, entretanto, são ineficientes do ponto de vista de trocas gasosas, diferenciando-se em pneumócitos tipo I após término do estímulo (ação agressora) ao epitélio. A fase crônica é o momento em que há substituição das áreas extensamente lesadas do epitélio por fibroblastos e formação de áreas cicatriciais com fibrose tecidual, ou invasão das áreas com fibrina por fibroblastos e recobertas posteriormente com uma camada de pneumócitos tipo II (Jubb *et al.*, 2007).

A intoxicação por 3-Methylindol (3-MI) ocorre através da metabolização do triptofano em 3-MI, que é processado nas células claras em 3-Methylindolemine (3-MEIN) que lesa as células do epitélio respiratório (Ackermann *et al.*, 2010). Um estudo conduzido por Ayroud *et al.*

(2000) encontrou pneumonia intersticial aguda em 31 de 38 animais que possuíam concentrações elevadas de 3-MEIN no plasma e 3-MI na urina.

Woolums *et al.* (2005) relatou que bovinos no final do período de confinamento e próximo ao abate são mais susceptíveis a pneumonia intersticial aguda que aos demais tipos de pneumonia, resultado semelhante ao já descrito em estudo prévio por Ayroud *et al.* (2000).

3.6.4. Pneumonia bronco intersticial:

É característico de infecções mistas, por vírus ou agentes tóxicos e bactérias, sendo frequente a infecção por BRSV e *M. haemolytica*.

Possui duas apresentações, sendo uma a ocorrência concomitante dos dois tipos descritos anteriormente, com lesão tanto no epitélio bronquiolar, quanto no epitélio alveolar. Já a segunda apresentação se dá quando células mononucleares circundam as vias aéreas dos pulmões, infiltrando-se no septo alveolar, devendo-se diferenciar de broncopneumonia, em que não há necrose, apenas infiltrados neutrofílicos, enquanto que na pneumonia broncointersticial há necrose dos epitélios alveolares e bronquiolares (Blodörn, 2015; Jubb *et al.*, 2007).

Hjerpe, (1983), encontrou uma frequência de 97% dos animais com pneumonia intersticial tendo também broncopneumonia, e sugere que broncopneumonia pode ser predisponente a pneumonia intersticial e vice-versa.

3.6.5. Pleurites:

Alguns patógenos podem atingir a pleura através da circulação, de lesões por broncopneumonia, aspiração e abscessos pulmonares. Diferente do parênquima pulmonar, a pleura possui pouca capacidade de debelar infecções e mesmo uma infecção leve, podem progredir em lesões graves. Broncopneumonias por *M. haemolytica* ou *H. somni* são causas comuns de pleurite, juntamente com reticuloperitonites traumáticas e septicemias por *P. multocida* (Catry, 2005; Chirase *et al.*, 2004).

A pleurite geralmente se apresenta com exsudado de aspecto fibrinoso, com traços de fibrina e material elástico, fracamente aderidos às superfícies pleurais. Entretanto a apresentação da pleurite pode variar largamente dependendo da severidade, do patógeno envolvido e da resposta individual (Panciera *et al.*, 2010; Chirase *et al.*, 2004).

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Local e período

O experimento foi realizado em confinamento de terminação comercial, localizado na mesorregião norte do estado de Minas Gerais, no período de 14 de julho de 2014 a 15 de janeiro de 2015 (Figura 2A).

O confinamento possuía capacidade estática para 13.050 animais e totalizando 16.625 animais confinados no ciclo de 2014, iniciado em 10 de abril de 2014 e terminando em 15 de janeiro de 2015. Era composto por 75 currais distribuídos em 4 linhas, sendo 3 linhas com 20 currais e uma linha com 15 currais.

Os currais eram a céu aberto, planos, construídos sobre terra batida com uma larga camada de cascalho compactado, sem áreas sombreadas ou cobertas e os dejetos eram raspados a cada ciclo, na saída dos animais (Figura 2B).

Os animais foram alojados em currais de 1650 m² ou de 1375 m², com área de 9,17 m² por animal alojado. Assim sendo, nos currais de 1650 m² permaneciam 180 bois e nos de 1375 m², 150 bois. Os currais possuíam 55 m lineares de cocho para arraçoamento e 8 m lineares de bebedouro.

O curral de manejo possuía construções modernas, com caminhos em curva e bretes fechados com parede lisa, de acordo com os padrões de Bem-Estar Animal. O tronco de contenção era utilizado em todos os procedimentos com animais a fim de evitar traumas (Figura 2C).

A dieta dos animais variava grandemente, conforme a disponibilidade, sendo constituída em sua maioria de produtos e subprodutos agrícolas. Os ingredientes mais utilizados foram o bagaço de cana-de-açúcar como fonte de fibra, grão de sorgo moído, resíduo de milho (floap) e melação de soja, núcleo mineral e uréia (protegida e não protegida). A ração era fornecida misturada por vagão do tipo Total Mixed Ration (TMR), fornecido em média quatro vezes ao dia, sendo 30% do volume no início da manhã, 20 % antes do meio dia, 20% a partir de 14h e os últimos 30% as 18h (Figura 2D).



Figura 2: A- Vista geral do confinamento. B- Vista dos currais de alojamento. C- Curral de manejo. D- Mistura “TMR” fornecida aos animais.

4.2. Animais experimentais

Os animais utilizados no experimento foram adquiridos pelo confinamento, oriundos de diferentes estados (Minas Gerais, Bahia e Espírito Santo) e viajavam distâncias entre 20 e 700 km, sujeitos a intempéries como alta temperatura, insolação, ausência de repouso, sombra e água, além do baixo escore de condição corporal dos animais. Predominantemente de raças zebuínas ou mestiços, sendo as mais presentes o Nelore, o Guzará, o Gir e o Girolando (Figura 3A).

Na chegada os animais eram alojados em uma área do curral de manejo com acesso a água e posteriormente em currais comunitários até a divisão em lotes, momento este que variava de 2 a 15 dias após a chegada.

O preenchimento dos lotes foi realizado pela fazenda, sendo os animais pesados e separados em lotes de 180 ou 150 animais nas primeiras duas semanas do confinamento, tendo como critério o peso médio dos animais a chegada. Nesse momento, os animais eram identificados segundo o Sistema Brasileiro de Identificação e Certificação de Bovinos e Bubalinos (SISBOV) e recebiam vacina para clostridioses (Poli-Star®, comercial) e para *P. multocida* e *M. haemolytica* autógenas com cepas provenientes de outros confinamentos da empresa, vermifugados com albendazol 15% e abamectina 1% (Figura 3B).



Figura 3: A- Perfil racial dos animais do confinamento. B- Curral de manejo.

4.3. Inspeção dos animais

Os currais eram inspecionados diariamente pela manhã, por dois médicos veterinários da equipe de pesquisa e pelos três sanitaristas da fazenda, e a tarde apenas pelos sanitaristas. Os animais eram levantados e colocados em movimento e as alterações comportamentais e físicas (condição física, condição corporal, alterações comportamentais, alterações anatômicas e alterações posturais) eram anotados e animais debilitados eram eventualmente movidos ao curral de manejo para exame clínico detalhado (Dirksen *et al.*, 1993) e alojados em um curral hospital, enquanto que animais menos debilitados eram contidos nos currais, medicados e liberados pelos sanitaristas (Figura 4A).

Não haviam protocolos de tratamento estabelecidos e nem orientação veterinária para medicação dos animais e a conduta terapêutica era realizada de forma empírica pelos sanitaristas.

A temperatura ambiente era aferida diariamente com termômetro de mercúrio com marcador de máxima e mínima, localizado no centro do confinamento, para traçar uma curva da temperatura do período experimental (Figura 4B).



Figura 4: A- Inspeção dos currais. B- Termômetro instalado no centro dos currais para aferição de temperatura máxima e mínima.

4.4. Avaliação *Post mortem* e coleta de material

Os animais que vieram a óbito foram prontamente necropsiados. Entretanto, alguns animais com sinais neurológicos ou fraturas recentes foram abatidos em caráter emergencial devido a incapacidade destes em permanecerem no confinamento. Destes animais, só foi possível a retirada do encéfalo para exame histopatológico.

Não havia interferência da equipe de pesquisa na indicação de animais para tratamento ou para eutanásia, mantendo-se a conduta adotada pela fazenda e a identificação pelos sanitaristas, onde era observado o comportamento do animal, animais prostrados e com flanco deprimido eram medicados e animais debilitados eram removidos para curral hospital.

As necropsias foram registradas em ficha com a suspeita clínica e os achados macroscópicos fotografados minuciosamente as alterações e todos os órgãos. Estas eram realizadas com o cadáver em decúbito lateral esquerdo (Figura 5A), iniciando-se pelo rebatimento de membros e pele, avaliação das articulações dos membros rebatidos (Figuras 5B e 5C), abertura do abdome e retirada dos órgãos, iniciando por intestinos, abomaso, omaso, retículo, rúmen, baço, rins e fígado. Eram coletados fragmentos em formol tamponado a 10% para histologia de pâncreas, rim, fígado, rúmen e baço e demais fragmentos conforme achados macroscópicos (Figura 5D). Logo após, era aberta a cavidade torácica pela cúpula diafragmática e coletado fragmento caudal de pulmão de forma asséptica (luvas novas e bisturi estéril), armazenado em frasco estéril e acondicionada em caixa isotérmica com gelo reciclável. Em seguida era realizada a introdução de *swab* estéril em bronquíolo pela área exposta pela coleta de fragmento e acondicionado em tubo de ensaio com meio stuart, acondicionado em caixa isotérmica com gelo

reciclável. Após a necropsia, amostras de *swab* refrigeradas eram acondicionadas em geladeira de 2 a 8°C por até 48 horas, e fragmentos refrigerados de tecido eram congelados e encaminhados para laboratório de cultivo bacteriano (Figura 5E). Logo após as costelas eram rebatidas e pulmão, coração, traqueia, esôfago e língua eram removidos. Fragmentos de pulmão (crânio dorsal do lobo cranial, ventro caudal do lobo caudal e da borda do lobo médio de ambos os pulmões, assim coletados para possível identificação da região após a fixação, além de fragmentos cúbicos de áreas com e sem lesão e transição) (Figura 5F), coração, fígado, rim, baço e encéfalo eram coletados e acondicionados em formol tamponado 10% e demais fragmentos conforme achados macroscópicos.

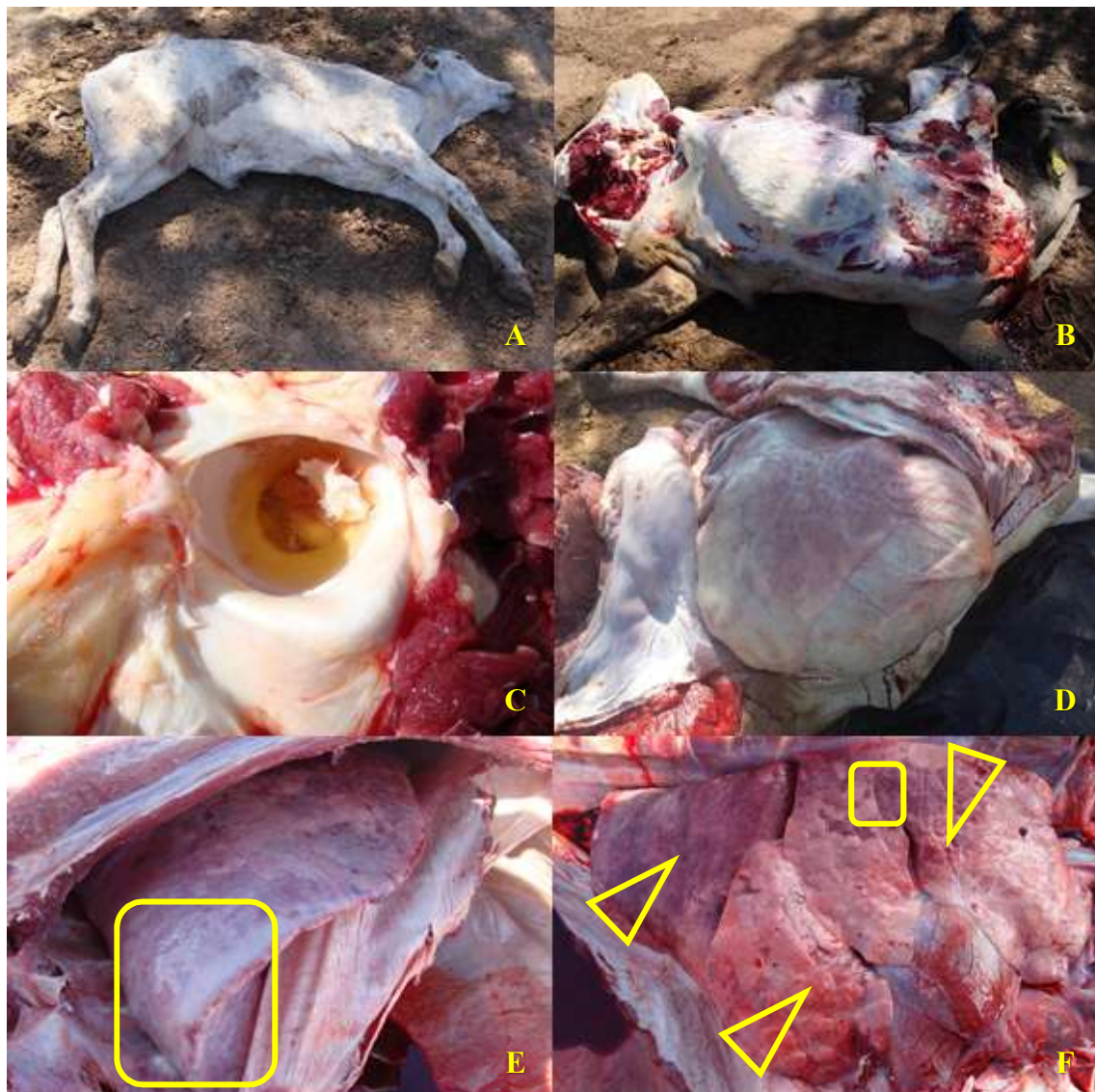


Figura 5: Sequência de necropsia e coleta de amostras de pulmão para bacteriologia e histopatologia. A- Carcaça em decúbito lateral. B- Carcaça com pele e membros removidos. C- Avaliação de articulação. D- Cavidade abdominal aberta. E- Área de coleta de amostra para bacteriologia. F- Área de coleta de amostras de pulmão para histopatologia, triângulos são as áreas coletadas independente de lesão e o quadrado exemplifica área com e sem lesão, coletada quando necessário.

Todo material conservado em formol foi encaminhado e processado no Laboratório de Histopatologia da EV-UFMG.

4.5. Processamento, cultivo e isolamento bacteriano:

Foram coletadas amostras pulmonares para isolamento bacteriano de 53 necropsias, sendo coletados fragmento de pulmão e swab em todas estas necropsias.

As amostras foram processadas no Laboratório de Bacteriologia da UFMG do Departamento de Medicina Veterinária da Escola de Veterinária da UFMG.

As amostras eram semeadas em placas de cultivo estéreis, descartáveis, com meios Ágar Sangue, Chocolate e Macconkey.

A confecção dos meios de cultura era realizada conforme indicação do fabricante¹. Após preparados, os meios eram autoclavados e distribuídos em placas de Petri descartáveis em capela de fluxo e colocados em estufa bacteriológica a 37 °C para eliminar possíveis placas contaminadas.

Após a semeadura do material na placa essas eram colocadas na estufa bacteriológica a 37 °C. O isolamento das colônias era realizado de acordo com as características morfológicas, sendo essas novamente semeadas em placa e colocadas em estufa bacteriológica a 37 °C. Para a identificação era realizada a coloração de Gram, provas bioquímicas, meios seletivos, aminoácidos e testes de motilidade conforme descrito por Quinn *et al.*, (2005).

4.6. Processamento e leitura histopatológica:

O material acondicionado em formol tamponado a 10% foi recortado e colocado em cassetes histológicos para posteriormente ser desidratado, diafanizado, incluídos em parafina, recortado a uma espessura de 3 µm, corados pela técnica da hematoxilina-eosina conforme descrito por Luna, (1968) e examinados ao microscópio ótico.

4.7. Análise dos dados:

Os dados foram analisados através de análise descritiva, levando em consideração os achados macroscópicos nas necropsias, microscópicos na histopatologia e a relação das condições climatológicas com a mortalidade

Os resultados foram divididos de forma a permitir uma comparação descritiva entre os achados macroscópicos e os microscópicos, bem como comparar os sistemas mais afetados. Dentre as lesões do sistema respiratório foram comparadas a frequência de cada alteração.

Foram confeccionados gráficos separando as ocorrências em macroscópicas e microscópicas e ainda um gráfico entre as afecções respiratórias.

¹ HIMEDIA®

Os diagnósticos foram determinados por três critérios: os achados macroscópicos; os achados microscópicos e os diagnósticos clínicos, e assim, atribuindo a cada caso, uma causa de morte.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Chegada dos animais e inspeções:

A demora na formação dos lotes expôs animais mais leves, que tiveram que disputar espaço e acesso ao alimento e água com animais maiores. A nova formação de lotes, após o período de adaptação possivelmente contribuiu para maior desafio dos animais predispondo a doenças presentes no confinamento. Catry, (2005) contraindica essa prática, e a considera como fator predisponente a ocorrência de doenças.

Após o alojamento, a inspeção diária dos animais, tanto pela equipe de pesquisa, quanto pelos sanitaristas, se mostrou de baixa eficácia em detectar animais doentes, uma vez que, a maioria dos animais que morreram não apresentavam sinais clínicos nas inspeções. Eventualmente, um exame clínico teria sido capaz de identificar animais doentes com maior acurácia, entretanto no manejo diário do confinamento é inviável a realização de tal prática, e medidas de detecção, mesmo que não tão eficientes, devem ser orquestradas de forma sistemática e rigorosa, como treinamento continuado e estímulo aos sanitaristas e adequação ao número e método de realização das inspeções.

O tratamento de animais doentes mostrou alguma efetividade, e bons índices de sucesso quando aplicados precocemente e de forma adequada. Entretanto, a ausência de protocolos e o tratamento empírico das enfermidades clínicas impossibilita a avaliação de eficiência e evidencia a necessidade de se adotar protocolos que sejam objetivos e dinâmicos, além de constantemente atualizados, para garantirem sucesso e custos acessíveis, e permitirem a avaliação de desempenho do programa sanitário.

5.2. Fatores de risco:

Como os animais eram oriundos de diversas regiões do país, alguns desses percorriam grandes distâncias e chegavam ao confinamento após 24h de transporte. Parte desses animais chegavam desnutridos, evidenciando restrição alimentar na fazenda de origem, além de estresse, desidratação e alguns animais debilitados (Figura 6A). Tal condição, conforme descrito por Paes (2005), reduz a capacidade imune, e predispões ao surgimento de doenças. Estas podem ser trazidas pelos animais e difundidas ao confinamento ou pela condição de estresse, serem contraídas por esses animais na entrada no confinamento, em que há uma mistura de animais de origens distintas, com *status* imunológico comprometido e um programa sanitário desconhecido, e assim comprometendo a condição de todo o rebanho. Em trabalho conduzido por Griffin *et al.*

(2010), são relatados esses mesmos fatores como agravantes ao surgimento de doenças respiratórias, e é sugerido que grandes lotes não sejam misturados durante o aparte.

Já no confinamento, foi observada a contínua presença de poeira durante todo o período seco, principalmente no final do dia, quando a temperatura mais amena, inferior aos 27 °C permitia uma maior movimentação e interação dos animais, o que resultava numa nuvem de poeira em suspensão, que constituía um desafio ao sistema de defesa do trato respiratório (Figura 6B), com possível espessamento do muco e aumento da dificuldade de remoção desse pelo aparelho mucociliar, junto com acúmulo de debris e lesões provocada por gases como amônia e 3-MI produzindo ambiente favorável a adesão e colonização bacteriana tanto por bactérias inaladas, quanto por bactérias oportunistas (Griffin *et al.*, 2010; Corbin e Griffin, 2006). Mesmo no ambiente seco em que se permaneceu o maior período de acompanhamento experimental do confinamento, era perceptível o odor forte de amônia nas instalações. A amônia compromete a integridade epitelial do trato respiratório, permitindo assim a adesão e colonização de patógenos. Essa condição é um agravante para a ocorrência do DRB, como descreve Griffin, (1998), que também cita temperaturas elevadas como prejudiciais ao funcionamento dos mecanismos de defesa, já que aumentam a frequência respiratória.

A temperatura no confinamento permaneceu elevada durante todo o período. Sendo a temperatura máxima média durante o dia de 39,8°C, bem acima da temperatura de conforto térmico dos animais, associado a grande amplitude térmica média (16,7 °C) como mostra a Figura 7. Estes animais permaneciam expostos ao sol intenso, apresentavam atividade reduzida devido à ausência de sombras naturais e artificiais nas instalações, com movimentos respiratórios acelerados, salivação intensa, respiração pela boca com exposição da língua e procura constante por água e sombra. Por essa via, o ar chega as áreas mais profundas do pulmão menos umidificado e mais contaminado por partículas grandes, prejudicando o funcionamento do sistema respiratório, uma vez que para dissipar calor o animal precisa aumentar a frequência respiratória e ocorre perda de umidade para o ar seco, desidratando o muco do sistema mucociliar e dificultando sua remoção. Essa condição possivelmente teve grande participação, junto com os demais fatores, nas doenças ocorridas no confinamento, principalmente os quadros respiratórios. Os animais conviveram praticamente todos os dias com temperaturas acima da temperatura máxima de



Figura 6: A- Animais desembarcados no confinamento. B- Poeira presente no Confinamento.

conforto térmico, já que Baêta *et al.* (1997) sugere que a zona de conforto térmico para animais zebuínos estaria entre 10 e 27 °C.

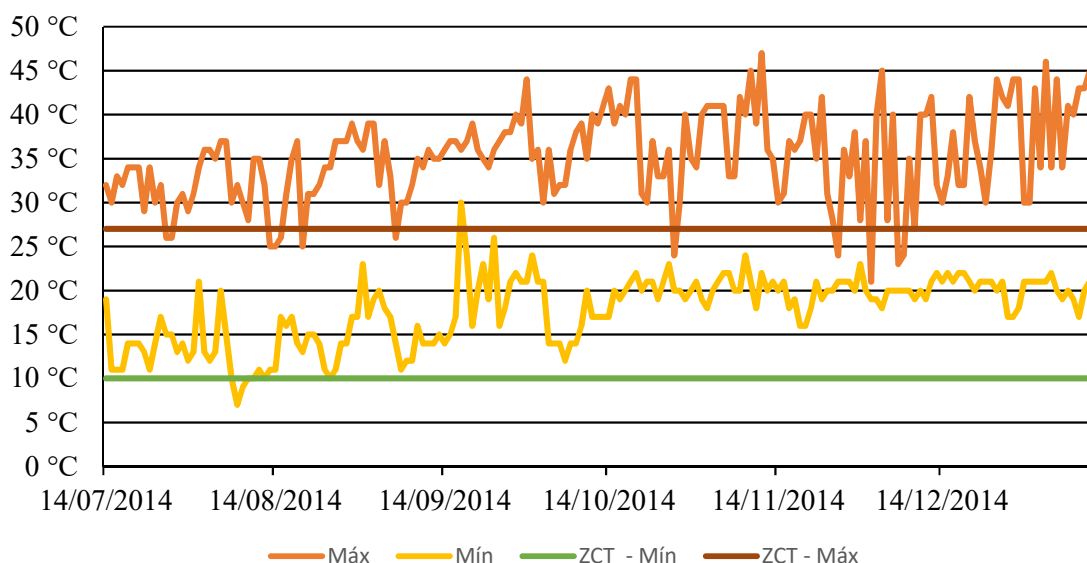


Figura 7: Temperaturas máximas (Máx) e mínimas (Min) diárias e intervalo de conforto térmico para zebuínos (ZCT) durante o período de julho/ 2014 a janeiro/ 2015, em um confinamento de terminação, na região norte do estado de Minas Gerais.

No período das chuvas a umidade ambiente elevada e o esterco acumulado propiciaram um ambiente para criatório de moscas (*Stomoxys calcitrans* e *Haematobia irritans*) que infestaram o confinamento, alterando o comportamento dos animais, fazendo-os se aglomerarem e diminuírem acesso ao alimento e água. Além disso, um ambiente relativamente frio à noite para os animais deitarem e aumento da concentração de amônia (Figuras 8A e 8B).

Devido ao grande número de animais por curral, alta densidade destes e sendo todos machos inteiros, as disputas eram frequentes e um ou dois animais eram sodomizados por todos os demais animais, resultando em perda de peso, escoriações e fraturas. Esse tipo de comportamento contribuiu para aumentar o nível de estresse dos animais vitimados (Figuras 8C e 8D).

O manejo nutricional foi adequado, e trouxe bons resultados, tanto no ganho de peso, quando na condição sanitária dos animais. Mesmo com a troca frequente dos ingredientes da dieta, a adaptação parece ter sido adequada, tanto em animais confinados a pouco tempo, quando animais confinados por um período maior. Além da composição, talvez a metodologia de fornecimento, com curtos intervalos entre um e outro e quantidades menores, além do estímulo que o alimento novo induz aos animais a irem consumi-lo, provavelmente, contribuiu com os resultados positivos. A dieta usava altos teores de energia (em média 70%) não parece ter influenciado a ocorrência do DRB e Duff *et al.* (2006) sugere em um trabalho que aumentos na densidade energética podem melhorar o ganho de peso sem influenciar na incidência do DRB. A

inclusão de Proteína Bruta (PB) neste experimento foi de 14,5% e há divergências quanto a concentração de PB adequadas na literatura, Fluharty e Loerch (1996) não conseguiram correlacionar PB e DRB, enquanto que Galyean *et al.* (1999) sugere que o aumento de PB pode elevar a ocorrência de DRB, e também recomenda que a inclusão preferida seja de aproximadamente 14% de PB.

Após vários fatores inerentes ao sistema serem considerados, há a necessidade de observar que esses mesmos fatores podem mudar e variar largamente entre os confinamentos, podendo agravar em alguns pontos e melhorar em outros, como aponta Babcock *et al.* (2010) em um trabalho. Além disso, as diferentes distâncias de transporte, o peso de chegada, o sexo, o fenótipo e genótipo foram observados como relevantes, onde animais em melhor estado nutricional na chegada (magros, mas não desnutridos) tiveram índices de desempenho superiores e incidência de doenças menores quando comparados a animais subnutridos, e os fatores relacionados ao ambiente (clima e instalações) também interferiram, principalmente no período das chuvas, onde mesmo próximos, currais mais secos e elevados, com drenagem adequada, possuíram nesse período desempenhos melhores frente a animais de currais em situações mais precárias. Esses fatores, amplamente conhecidos por interferirem na ocorrência do complexo respiratório dos bovinos, também foram citados por Corbin e Griffin, (2006) e Snowden *et al.* (2006).

No presente trabalho, as condições de recria não puderam ser avaliadas, entretanto, a condição de saúde dos animais na chegada foi observada e diferenças no desempenho foram registradas. Brooks *et al.* (2011) afirmam que as condições de recria também são importantes para a ocorrência de doença, sendo que animais que já tiveram alguma doença respiratória antes do confinamento estão mais propensos a desenvolverem recidivas ou novas infecções,



Figura 8: A- Ambiente lamacento durante as chuvas. B- Larvas de mosca na lama do curral de alojamento (setas). C- Animal sodomizado. D- Escoriação em animal sodomizado (seta).

5.3. Avaliação *post mortem*:

Em 16.625 animais acompanhados durante o experimento, 237 animais vieram a óbito ou foram abatidos emergencialmente por incapacidade de permanecerem no confinamento. A taxa de mortalidade foi de 1,43%, e comparando-se ao trabalho de Loneragan et al. (2001) que sugere uma taxa aceitável inferior 1,5%, o confinamento se apresenta dentro daquilo que é desejável.

Foram realizadas 134 necropsias elegíveis, ou seja, necropsias ou abates que foram acompanhados e que tiveram algum material coletado e processados pela histopatologia, correspondendo a 56,5% de todas as mortes.

Foram identificadas alterações em 94,8%% (127/134) dos animais necropsiados em pelo menos um sistema, e por vezes, os animais apresentavam mais de um sistema acometido.

As lesões predominaram no sistema respiratório, com 53,7% (72/134) dos animais apresentando alguma alteração, seguido pelo sistema locomotor com 26,1% (35/134) e sistemas urinário e circulatório com 9,7% (13/134) cada, como mostra a Figura 9.

O sistema nervoso, com uma incidência de 23,9% (32/134) na observação clínica *ante mortem* desses animais, não manifestou nenhuma alteração macroscópica nas necropsias. Esses animais apresentavam dismetria, andar cambaleante, andar em círculos, tremores musculares, convulsões, salivação intensa, prostração, cegueira, corrimento ocular e perda de peso progressiva (Figura 10A). Esses sinais se manifestavam em sua maioria de forma intermitente. Usualmente esses animais estavam mais sujos e podiam apresentar desde um a até a totalidade destes sinais. Na microscopia, 25% (8/32) dos animais clinicamente identificados com sinais neurológicos continham lesões compatíveis com polioencefalomalácia e 3,1% (1/32) com encefalite não supurativa, e 71,9% (23/32) não apresentaram alterações dignas de nota. Mostrando assim, a importância do diagnóstico histopatológico em animais com sinais neurológicos (Figura 10B), e a dificuldade de diagnóstico dessas alterações, evidenciando a necessidade de mais estudos para esclarecimento da patogenia dessas alterações.

O sistema digestório com 4,5% (6/134) de ocorrência aparece com pouca significância. O manejo nutricional adequado e dieta balanceada, além de fornecimentos constantes, possivelmente contribuiu para esse resultado. Os principais achados foram úlceras de abomaso e uma intussuscepção. Esse índice se distancia daquilo que é esperado segundo Edwards (1996) e Smith (1998), que apontam o sistema digestivo como a segunda maior causa de morte em confinamentos.

Alguns casos apresentaram lesões relevantes em mais de um sistema, ocorrendo em 32,8% (44/134) dos casos dois sistemas e em 9% (12/134) três sistemas acometidos (Figura 9).

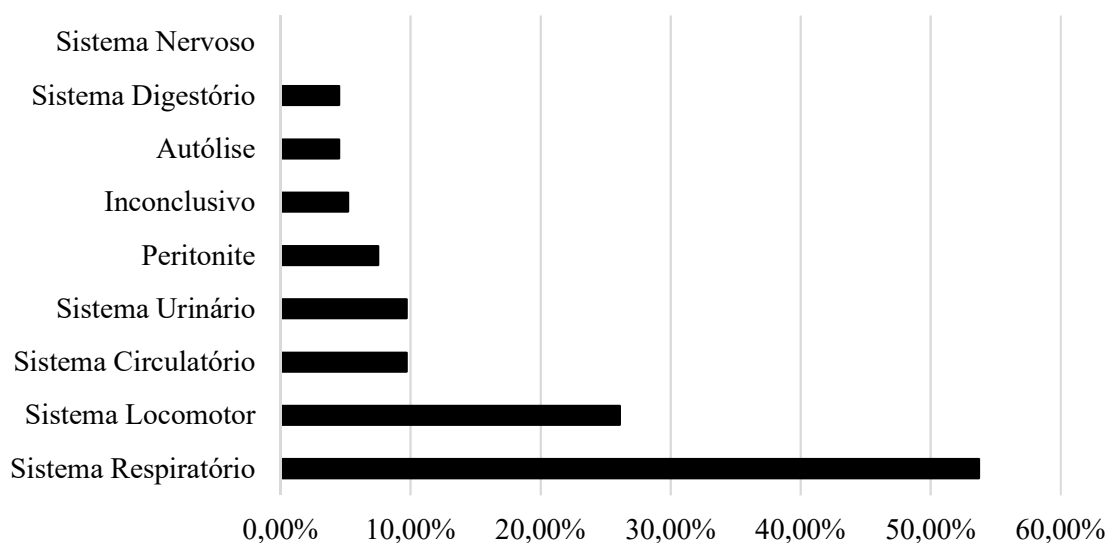


Figura 9: Frequência de lesões macroscópicas encontradas nas necropsias de bovinos confinados em sistema de terminação, conforme localização.

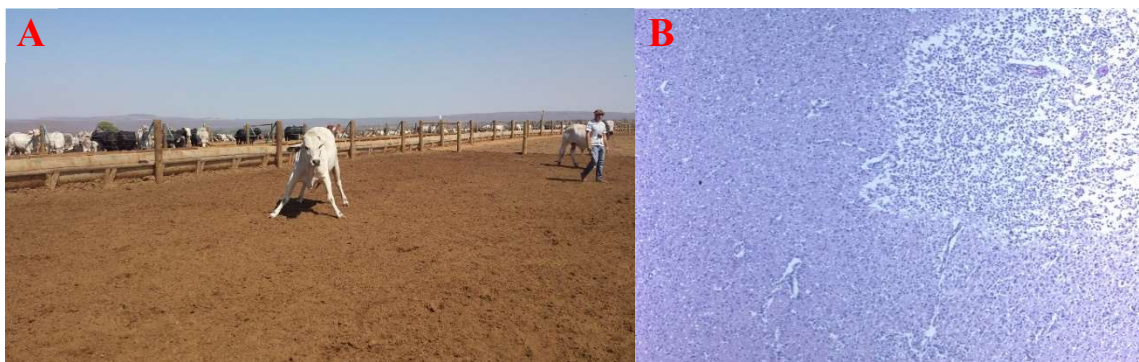


Figura 10: A- Bovino com abdução dos membros para sustentação e dismetria. B- Corte histológico em aumento de 40x com área de perda de neurônios (seta) caracterizando Polioencefalomalácia (400x).

5.4. Diagnósticos definitivos:

Baseados nas alterações clínicas e associados aos achados da macroscopia e microscopia, foram atribuídos os diagnósticos primários para cada morte (aquela alteração que efetivamente matou o animal naquele momento), sendo estes separados por categorias (autólise, inconclusivo, peritonite, sistema circulatório, sistema digestório, sistema locomotor, sistema nervoso, sistema respiratório e sistema urinário) para fim de comparar a frequência com que cada sistema foi afetado primariamente, conforme foi sugerido por Loneragan *et al.* (2001). A Figura 11 mostra esses resultados.

O sistema mais comprometido foi o sistema respiratório, com 47% dos casos. Dados semelhantes aqueles descritos por Smith (1998), onde encontrou que doenças respiratórias são responsáveis por 44,1% das mortes em confinamentos. Entretanto a maior parte desses animais morreram no terço final do período de confinamento, e não nos primeiros 15 a 20 dias como

observado por Dabo *et al.* (2007) e Chirase *et al.* (2004) em seus trabalhos. Tal motivo não fica claro, e estudos adicionais precisam ser realizados.

Percebe-se também um grande número de animais com diagnóstico inconclusivo, ou seja, tanto a clínica, quanto a macroscopia e a microscopia foram incapazes de chegarem a um diagnóstico, mesmo que impreciso desses animais.

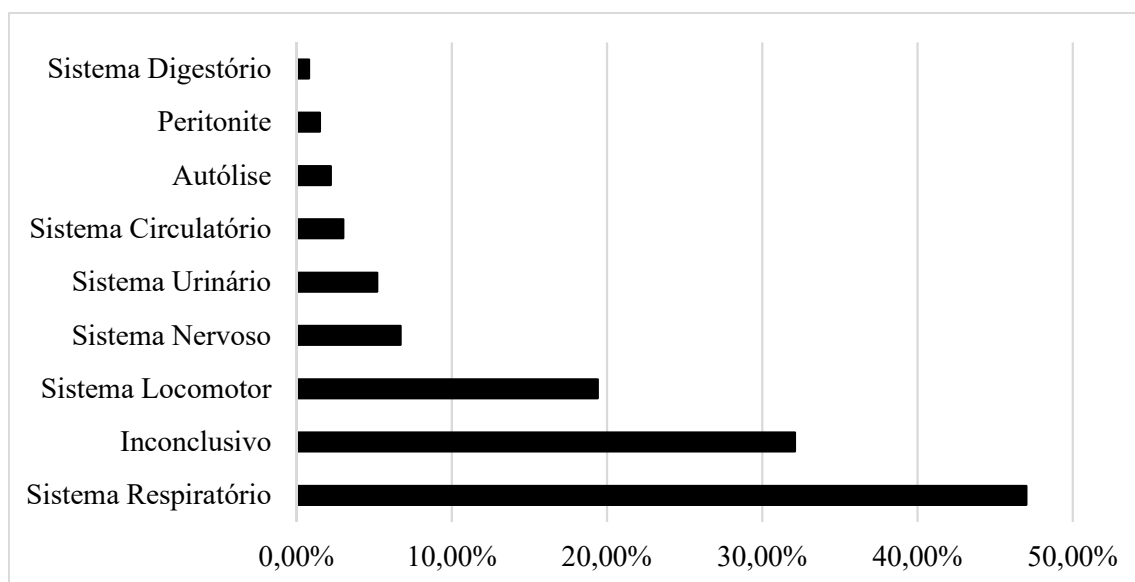


Figura 11: Diagnósticos definitivos primários (associados a morte do animal), definidos após a comparação entre macroscopia e microscopia.

O sistema locomotor aqui representa em sua totalidade fraturas, sendo que todas impossibilitaram a permanência do animal no confinamento. Outras doenças do sistema foram observadas, entretanto, não conduziram o animal ao óbito, retardando apenas o seu desenvolvimento. O valor de 19% de acometimento do sistema locomotor está distante daquilo observado por Church e Radostits (1981), onde as taxas variavam de 0,02 a 0,12% na taxa de mortalidade. Por vezes, a densidade elevada e o comportamento de sodomia, levando a traumas nas sobre unhas e quedas sobre outros animais contribuíram para a elevação dos acidentes com fraturas de membros e um protocolo de esterilização química poderia diminuir essas taxas.

O sistema urinário apresentou maior incidência à medida que estes animais ficavam mais tempo confinados (acima de 60 dias em média). As lesões que predominaram foram infartos renais, nefrites e principalmente cálculos, tanto renais quanto na bexiga, sendo eles a principal causa das nefrites e de cistites com ruptura de bexiga e edema na região do prepúcio. Edwards (1996) também observou maior incidência de cálculos e lesões na bexiga em animais acima dos 60 dias de confinamento.

O balanceamento da dieta, o manejo alimentar e o período de adaptação nutricional utilizados se mostraram eficientes, uma vez que a morbidade e mortalidade por alterações digestivas foram baixas. Estes resultados diferem dos encontrados por Smith (1998), que

classificou as doenças digestivas como a segunda causa de mortalidade e como a mais importante no terço final do período de confinamento. Este fato pode ter ocorrido devido a um período mais curto adotado aqui, em que os animais são recriados a pasto e vêm aos confinamentos apenas para terminação, enquanto que nos confinamentos americanos os animais são encaminhados ao confinamento na desmama.

5.5. Doenças respiratórias:

Dentre os sistemas, o respiratório foi o mais afetado, com uma incidência de 48,5% (64/132).

As lesões no sistema respiratório foram variadas, sendo elas a broncopneumonia, congestão pulmonar, pleurite fibrinopurulenta, pleurite fibrinosa, pleuropneumonia, pneumonia bronco intersticial, pneumonia intersticial e pneumonia necropurulenta.

A broncopneumonia caracterizou-se por espessamento difuso dos septos alveolares em decorrência da proliferação acentuada de pneumócitos tipo II, com presença de infiltrados leucocitários variados no interstício dos septos e junção bronquíolo-alveolar e células degeneradas (supuração) e eventual presença de colônias bacterianas (cocos basofílicos). Já a congestão pulmonar foi caracterizada por presença difusa por todo o parênquima pulmonar de hemácias, podendo ou não conter na luz alveolar material eosinofílico homogêneo. Não apresentava hemácias na luz alveolar. A pleurite fibrinosa foi caracterizada por presença de material eosinofílico fibrilar aderido a superfície da pleura visceral, podendo ou não conter infiltrados inflamatórios associados. A pneumonia intersticial caracterizou-se por grande quantidade de material homogêneo eosinofílico (edema) na luz alveolar, intenso enfisema no septo alveolar e presença de células sinciciais (células gigantes multinucleadas) sendo que congestão estava frequentemente associado (hemácias difundidas pelo parênquima pulmonar). A pneumonia broncointersticial foi caracterizada por alterações mistas de pneumonia intersticial (infiltrados inflamatórios e espessamento dos septos) com pneumonia broncointersticial (bacteriana e supurativa) e áreas de necrose. A pneumonia necropurulenta caracterizou-se por formações de abscessos e destruição a estrutura pulmonar, presença intensa de bactérias e infiltrados leucocitários degenerados nos sítios de lesão.

Dentre estas, a broncopneumonia foi a mais prevalente, com 30 (45,15%) ocorrências, divergindo de Ayroud *et al.* (2000) que encontrou pneumonia intersticial como a principal lesão respiratória de confinamentos. Para simples comparação, a broncopneumonia isolada ocorreu mais vezes que todas as outras causas de mortes juntas. Em segundo a pneumonia intersticial com 14 (21,54%) ocorrências e em terceiro a pneumonia broncointersticial com 9 (13,85%) ocorrências, conforme mostra a Figura 12.

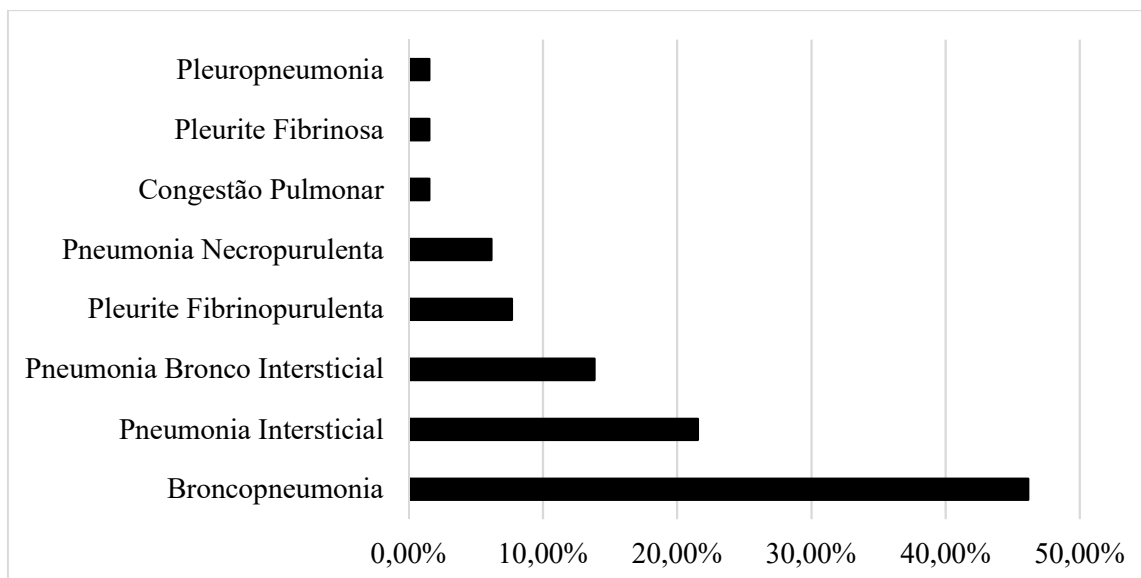


Figura 12: Frequência de lesões pulmonares.

Broncopneumonia é sugestivo de infecção bacteriana, dentre elas a *M. haemolytica*, *H. somni* e *P. multocida*. Devido à dificuldade de isolar o agente entre bactérias contaminantes, ficou restrita a possibilidade de associar a lesão ao agente causal. Entretanto, pode-se associar patologias concomitantes ou de grande ocorrência causadas pelos mesmo agentes.

Ocorrências frequentes durante o experimento foi a associação entre broncopneumonia e pleurites fibrinosas. Foram 15/30 o número de vezes em que broncopneumonia esteve associada a algum tipo de pleurite e 11/64 o número de vezes que pericardite esteve associado a doença respiratória. E também ocorreu 1 associação de pleurite com pneumonia broncointersticial. A *M. haemolytica*, causa importante de broncopneumonia, também está associada a ocorrência de pleurites com grandes acúmulos de fibrina e com pericardites fibrinosas (Griffin *et al.*, 2010),

Entretanto, não é possível afirmar que a *M. haemolytica* seja o principal agente causador, uma vez que o *H. somni* também está associado a lesões menos graves de broncopneumonia com pleurite fibrinosa (Dabo *et al.*, 2007) porém, com menos exsudato e mais acúmulos de fibrina elástica amarelada na superfície da pleura visceral (McGavin *et al.*, 2007). A *P. multocida* também desenvolve broncopneumonia supurativa, com acúmulos de fibrina na luz alveolar e por vezes nos septos interlobulares. A Figura 13 exibe uma broncopneumonia purulenta com trombos de fibrina no septo interlobular. O *Mycoplasma sp.* está associado a pleurites exsudativas unilaterais e com aumento de linfonodos locais (Gull *et al.*, 2013), que também foram observados em diversos casos.

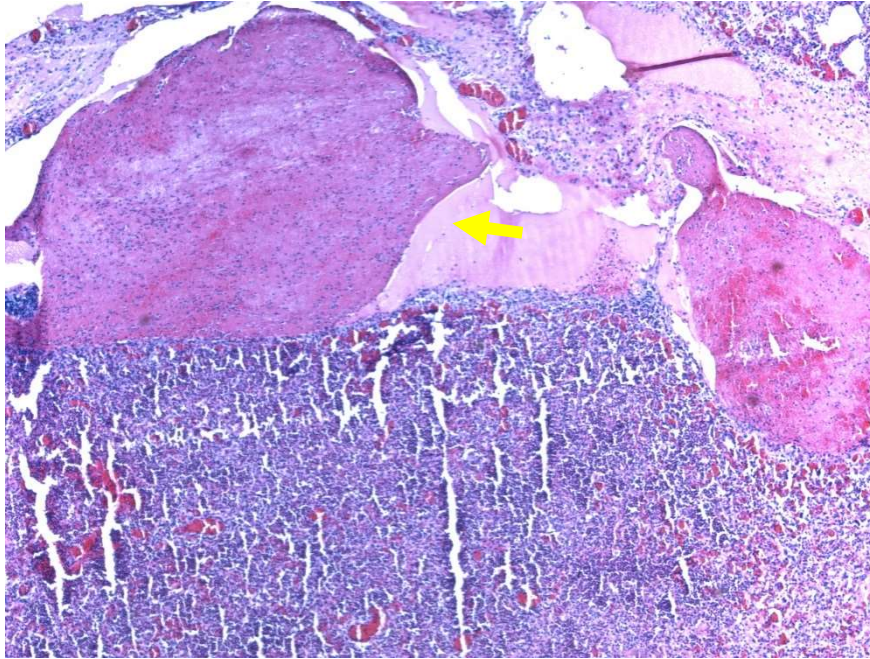


Figura 13: Broncopneumonia supurativa com trombos de fibrina (seta) (400x).

A pneumonia intersticial foi o segundo tipo mais frequente, com 10,6% (14/132) e responsável por 7,8% das 64 mortes por doença respiratória. Ayroud *et al.* (2000) cita a pneumonia intersticial como uma das mais frequentes e responsáveis por grandes perdas em confinamentos do Canadá.

Os valores aumentam, se considerarmos também as interações entre broncopneumonia e pneumonia intersticial (que é a segunda causa de morte por doença respiratória com 14% (9/64) das causas respiratórias). Onde broncopneumonia tem etiologia comumente as bactérias e as pneumonias intersticiais têm como causa vírus e agentes irritantes como a amônia e poeira.

A forma infecciosa da pneumonia intersticial é causada principalmente por agentes virais (BRSV, PI-3 e BoHV-5) e é mais comum em animais recém-chegados, até a terceira semana no confinamento, já uma forma inflamatória e não infecciosa da pneumonia intersticial pode se desenvolver através de toxinas e gases tóxicos (Valles, 2010; Panciera *et al.*, 2010).

A forma aguda da doença foi mais comumente observada, associada com mortes rápidas. Nestes casos, não foram observados animais manifestando claramente os sinais clínicos. Devido a morte rápida, com curso agudo, pode justificar a presença de grandes quantidades de edema e enfisema encontrados nesses animais. Esses animais já se encontravam próximo do peso de abate e os achados histológicos se restringiam ao edema pulmonar difuso e alguma congestão. Eventualmente, células sinciciais eram encontradas, mas talvez poderiam ser resultados de outras lesões, principalmente a vírus como BRSV ou toxinas como amônia.

Os pulmões desses animais não colapsavam após abertura da cavidade torácica. Eles eram esponjosos, com enfisema localizados nos lóbulos caudais, próximos ao diafragma e com áreas de coloração tendendo ao vermelho. Ayroud *et al.* (2000) cita em um trabalho com novilhas lesões

similares, incluindo proliferação de pneumócitos tipo II e conteúdo homogêneo intra-alveolar, encontrados também nesses animais.

Jubb *et al.* (2007) descreve essa lesão como sendo doença pulmonar intersticial aguda em confinamentos, e sugere elementos como 3-methylindole (3MI) como um possível agente. A doença se caracteriza por ocorrer em animais próximos do abate, diferenciando-se aqui das demais doenças respiratórias, que ocorrem no início do período de confinamento.

O 3MI pode ser um subproduto de fermentação ruminal, conversão direta do triptofano em 3MI que ocorre pelos *Lactobacillus sp.*, e é mais frequente nas mudanças abruptas de dietas de alta fermentação. Sua metabolização reduz progressivamente à medida que há adaptação a dieta. Church (1988) sugere esse episódio quando há mudança de pastagens secas para pastagens verdes e irrigadas. Entretanto há boa quantidade de triptofano em oleaginosas como a soja e seus subprodutos além da presença de 3MI no bagaço Ackermann *et al.* (2010). Como no confinamento foi muito utilizado o melaço de soja, este poderia ser uma fonte suspeita.

Presença de células sinciciais em 17,2% (11/64) dos animais que morreram de doença respiratória pode sugerir um processo infeccioso como causa dessas pneumonias intersticiais, entretanto sem identificação do agente não é possível afirmar (Figura 14). A grande presença de amônia no confinamento durante quase todo o período experimental também pode ser responsável pelas alterações, levando a uma pneumonia intersticial não infecciosa. A ocorrência simultânea das duas formas (infecciosa e não infecciosa) acontecendo em sinergismo é extremamente provável, podendo inclusive, predispor a ocorrência da broncopneumonia, de caráter bacteriano, lesando o epitélio e permitindo a adesão bacteriana e dificultando a remoção de debris celulares.

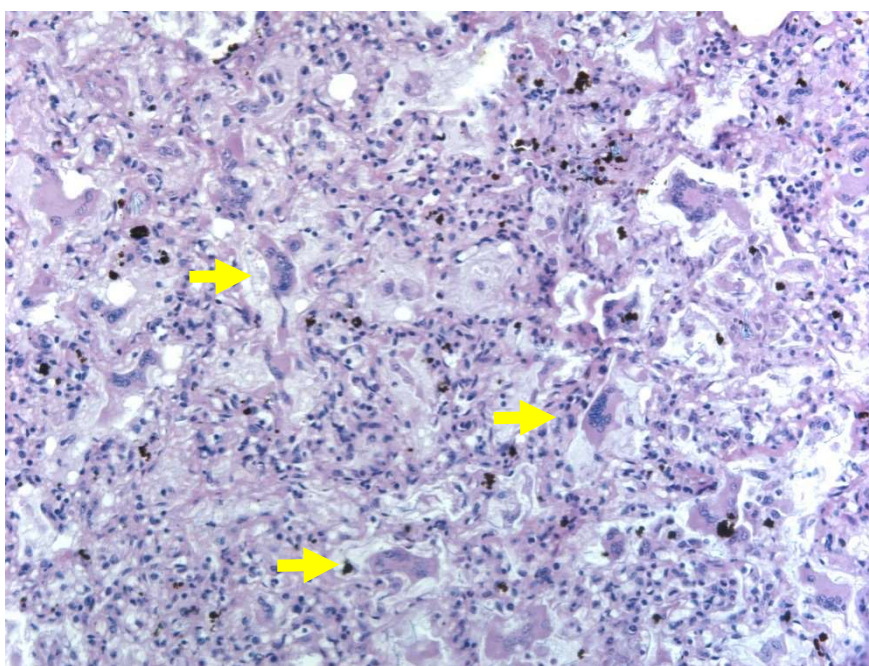


Figura 14: Pneumonia intersticial com células sinciciais (setas) (400x).

5.6. Isolados bacterianos

Foram encaminhados 53 fragmentos de pulmão congelados e 53 *swab*'s de bronquíolo para cultivo bacteriológico, com 20 fragmentos contendo crescimentos compatíveis com doença respiratória, 10 fragmentos em que não foi possível isolar agente de contaminantes e outros 22 fragmentos em que não houve crescimento bacteriano. Os *swab*'s apresentaram crescimento de bactérias compatíveis em 21 (os mesmos animais com adição de 1), 5 *swab*'s com crescimento de agentes contaminantes e outros 27 *swab*'s que não apresentaram crescimento algum. Houve semelhança no crescimento entre amostra de fragmento e de *swab*, entretanto a pequena diferença pode ter ocorrido pelo método de conservação. Congelamento é menos eficiente para cultivo dos agentes respiratórios (Cooper e Brodersen, 2010).

Foram isoladas cepas de *P. multocida*, *Arcanobacterium pyogenes*, *Klebsiella spp.* e *Staphylococcus spp* (Figura 12) em um total de 21 amostras das 53 coletadas.

A *P. multocida* foi a bactéria isolada com mais frequência (17%). Ela é comensal das vias aéreas anteriores dos bovinos, e apesar de estar presente em até 60% dos animais sadios como afirma Dabo *et al.*, (2007), pode estar associada as broncopneumonias, com necrose e pouco exsudato, e a algumas pneumonias intersticiais, em animais no início do confinamento. Se associada a *M. haemolytica* poderia ser a causa de algumas pneumonias agudas e fatais (Griffin *et al.*, 2010; Taylor *et al.*, 2010; Radostits *et al.*, 2000).

Apesar de serem encontradas lesões macroscópicas compatíveis com *M. haemolytica* (48/134), não foram isoladas colônias dessa bactéria. Griffin *et al.* (2010) também cita que nos últimos anos, isolados de *P. multocida* em confinamentos têm sido mais frequentes que de *M. haemolytica* em desencontro com anos de relatos da *M. haemolytica* como principal patógeno. Esse autor não descreve os motivos dessa mudança, e podem ser desde um aperfeiçoamento das técnicas ou mudança nos desafios do sistema e na adaptação dos animais. Possivelmente neste trabalho, a conservação congelada dos fragmentos foi inadequada (Cooper e Brodersen, 2010), e outras bactérias podem ter superado essas possíveis colônias de *M. haemolytica* e impedido o seu isolamento no laboratório.

Arcanobacterium pyogenes foi encontrado em abscessos pulmonares nos lobos craniais com frequência de 11,3%. Estes eram duros e com amplas áreas de necrose. Se estabelece como um agente secundário e oportunista, associada a alguma outra bactéria, como a *P. multocida* (Maas, 2008). Em todos abscessos (6/134) foram isolados *A. pyogenes*. A incidência de abscessos pulmonares secundários a acidose rumenal subclínica é comum, entretanto o pH rumenal de 20 animais aleatórios do confinamento coletados por sonda nasogástrica se mostrou elevado, variando de 6,5 a 7,5 através de aparelho digital. Talvez as variações durante os períodos de alimentação podem predispor a momentos de pH mais baixo, mesmo a incidência de desordens do sistema digestivo terem permanecido tão baixas.

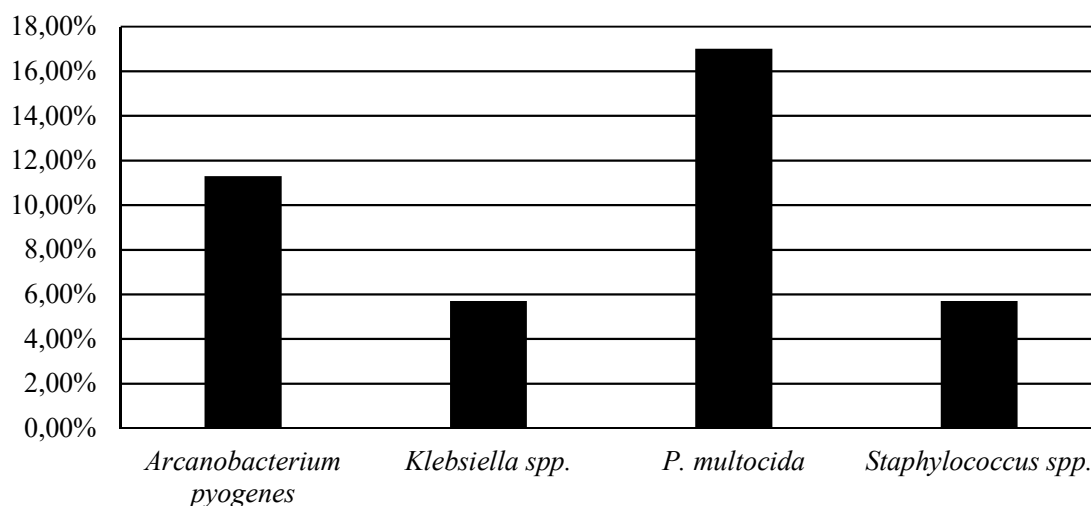


Figura 15: Frequência de bactérias isoladas de pulmões e swab de brônquio.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A redução da incidência do DRB é um foco constante, e o aumento da produção junto com pressões econômicas e ambientais elevam o desafio, concentrando mais animais e exigido uma maior tecnificação do sistema, com capacitação constante dos envolvidos e capacidade de identificação da doença. Griffin *et al.* (2010) e Radostits *et al.* (2000) afirmam que redução nos danos do DRB nas últimas décadas advém do reconhecimento cada vez mais precoce da doença e implementação de tratamentos. As melhoras com relação ao treinamento da mão de obra, da ambiência dos animais e dos protocolos sanitários têm sido importantes na tentativa de reduzir a incidência do DRB.

A compra de animais doentes, com retardo no desenvolvimento ou em subnutrição possivelmente contribuiu para a alta incidência da doença, e talvez evitar essa prática, aderindo a aquisição de grupos homogêneos e que não precisarão ser redistribuídos no confinamento (mesma procedência e que lotem sozinhos os currais) seriam as aquisições ideais para reduzir a contaminação do rebanho e diminuir as taxas de morbidade e mortalidade pelo DRB. Segundo Griffin *et al.* (2010), A não mistura de grupos reduz a morbidade do DRB de 69% para menos de 5% quando os grupos são fechados. Esse tipo de aquisição também aproxima as unidades de recria e de engorda, podendo assim trabalharem em conjunto para um melhor esquema sanitário dos animais, da mesma forma que Bacoock *et al.* (2010) sugere.

O tempo de transporte deve ser reduzido, e, quando longo, deve conter pontos de parada com sombra, cama e água fresca. Smith, (1998) defende que os lotes devem ser divididos na chegada e, então, não mais serem introduzidos novos animais. E Griffin *et al.* (2010) sugere a administração de antimicrobianos aos animais de alto risco na chegada ao confinamento ajuda a

reduzir a morbidade, entretanto, seu uso deve ser consciente para reduzir a indução de resistência a estes medicamentos.

É improvável que apenas um controle vacinal na chegada dos animais seja efetivo no controle das doenças respiratórias nos confinamentos, e segundo Edwards (2010), um programa estratégico iniciando nas unidades de recria seria essencial para assegurar a chegada de animais ao confinamento com imunidade suficiente para suportar os desafios é necessário.

É também imprescindível a realização de exames *post mortem* dos animais e exames complementares, devido ao número considerável de animais sem alterações clínicas e que vieram a óbito e ainda, grande prevalência de pulmões saudáveis, ou com lesões mínimas a macroscopia, e que foram encontrados achados relevantes na microscopia. Amostras fáceis de colher e de armazenar por um longo período e que podem servir de uma ferramenta eficiente na elaboração de protocolos de prevenção e terapêuticos.

Já com a importância da pecuária nacional no cenário mundial, se faz indispensável um aumento dos estudos para identificação, controle e prevenção do DRB e seus agentes nos confinamentos do país, uma vez que esse método de produção permite uma maior produção de carne sem aumentar efetivamente a área utilizada, favorecendo um aumento de produção sustentável.

7. CONCLUSÃO

As Doenças Respiratórias dos Bovinos foram as principais causas de mortalidade de bovinos no confinamento estudado, com destaque para as broncopneumonias.

A DRB foi mais frequente no final do período de confinamento e se agravaram com o início do verão e das chuvas, onde a umidade do ar e a temperatura se elevaram.

A histopatologia pulmonar foi capaz de revelar lesões do DRB em animais que não foram identificados como clinicamente doentes nas inspeções sanitárias do rebanho.

Lesões inflamatórias não infecciosas permaneceram sem serem completamente elucidadas e estudos adicionais são necessários.

A falta de priorização de diagnóstico para atualizar tratamentos e medidas de prevenção dificultou o controle das Doenças Respiratórias dos Bovinos no confinamento estudado.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACKERMANN, M. R.; DERSCHEID, R.; ROTH, J. A. **Innate Immunology of Bovine Respiratory Disease**. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*. v. 26, p. 215-228, 2010.

AYROUD, M.; POPP, J. D.; VANDERKOP, M. A.; YOST, G. S.; HAINES, D. M.; MAJAK, W.; KARREN, D.; YANKE, L. J.; MCALLISTER, T. A. **Characterization of Acute Interstitial**

Pneumonia in Cattle in Southern Alberta Feedyards. *Canadian Veterinary Journal.* v. 41, p. 547-554, jul 2000.

BABCOCK, A. H.; RENTER, D. G.; WHITE, B. J.; DUBNICKA, S. R.; SCOTT, H. M. **Temporal Distributions of Respiratory Disease Events Within Cohorts of Feedlot Cattle and Associations with Cattle Health and Performance Indices.** *Preventive Veterinary Medicine.* v. 97, p. 198-219, 2010.

BLODÖRN, K. **Development and Evaluation of New Generation Vaccines Against Bovine Respiratory Syncytial Virus.** 2015. 120 f. Thesis (Doctor in Veterinary Medicine) – Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala.

BROOKS, K. R.; RAPER, K. C.; WARD, C. E.; HOLLAND, B. P.; PAS; KREHBIEL, C. R.; STEP, D. L. **Economic Effects of Bovine Respiratory Disease on Feedlot Cattle During Backgrounding and Finishing Phases.** *The Professional Animal Scientist Journal.* v. 27, p. 195-203, 2011.

CALLAN, R. J.; GARRY, F. B. **Biosecurity and Bovine Respiratory Disease.** *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice.* v. 18, p. 57-77, 2002.

CARDOSO, M. V.; SFORSIN, A. J.; SCARCELLI, E.; TEIXEIRA, S. R.; MIYASHIRO, S.; CAMPOS, F. R.; GENOVEZ, M. E. **Importância do Diagnóstico Diferencial em um Surto de Pneumonia Enzoótica Bovina.** *Arquivo do Instituto Biológico,* v. 69, n. 3, p. 111-113, 2002.

CATRY, B. **Pasteurella and Mannheimia Species From Calves: Differentiation and Antimicrobial Resistance.** 2005. 184f. PhD Thesis, Ghent University, Merelbeke, Belgium.

CHIRASE, N. K.; GREENE, L. W.; PURDY, C.W.; LOAN, R. W.; AUVERMANN, B. W., PARKER, D. B.; WALBORG, E. F. J.; STEVENSON, D. E.; XU, Y.; KLAUNIG, J. E. **Effect of Transport Stress on Respiratory Disease, Serum Antioxidant Status, and Serum Concentrations of Lipid Peroxidation Biomarkers in Beef Cattle.** *American Journal of Veterinary Research.* v. 65, n. 6, p. 860-864, 2004.

CHIRASE, N. K.; GREENE, L. W. **Dietary Zinc and Manganese Sources Administered from the Fetal Stage Onwards Affect Immune Response of Transit Stressed and Virus Infected Offspring Steer Calves.** *Animal Feed Science and Technology.* v. 93, p. 217-228, 2001.

CHURCH, D. C. **The Ruminant Animal.** ed. 1, New Jersey, *Prentice Hall,* p. 564, 1988.

CHURCH, T.L.; RADOSTITS, A.M. **A retrospective survey of diseases of feedlot cattle in Alberta.** *Canadian Veterinary Journal,* v.22, p.27-30, 1981.

CONFER, A. W. **Update on Bacterial Pathogenesis in BRD.** *Animal Health Research Reviews,* v.10, n.2, p.145-148, 2009.

COOPER, V. L.; BRODERSEN, B. W., **Respiratory Disease Diagnostics of Cattle.** *Veterinary Clinics of North America: food animal practice,* v. 26, p. 409-416, 2010.

CORBIN, M. J.; GRIFFIN, D. **Assessing Performance of Feedlot Operation Using Epidemiology.** *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice.* v. 22, p. 35-51, 2006.

COUTINHO, A. S., **Complexo das Doenças Respiratórias de Bezerros.** In: SIMPÓSIO MINEIRO DE BUIATRIA, n.2, Belo Horizonte, 2005.

COUTINHO, A. S., **Manheimiose pneumônica experimentalmente induzida em bezerros pela *Mannheimia (Pasteurella) haemolytica* A1- cepa D153: achados do exame físico, hemograma e swabs nasal e nasofaríngeo.** 2004. 186p. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) – Universidade Estadual Paulista, Botucatu.

DABO, S. M.; TAYLOR, J. D.; CONFER, A. W. ***Pasteurella multocida* and Bovine Respiratory Disease.** *Animal Health Research Reviews.* v. 8, n. 2, p. 129-150, 2007.

DICE, K. M.; WENSING, C. J. G.; SACK, W.O. **Tratado de Anatomia Veterinária.** ed. 3, Elsevier, p. 872, 2004, ISBN 8535213929.

DIRKSEN, G.; GRÜNDER, H. D.; STÖBER, M. **Rosenberger: Exame clínico dos bovinos.** ed. 3, Rio de Janeiro: *Guanabara Koogan S.A.*, p. 419, 1993.

DOSTER, A. **Bovine Atypical Interstitial Pneumonia.** *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice.* v. 26, p. 395-410, 2010.

DROKE, E. A.; LOERCH, S. C. **Effects of Parenteral Selenium and Vitamin E on Performance, Health and Humoral Immune Response of Steers new to the Feedlot Environment.** *Journal of Animal Science.* v. 67, p. 1350-1359, 1989.

DUFF, G. C.; GALYEAN, M. L. **Board-invited review: Recent advances in management of highly stressed, newly received feedlot cattle.** *Journal Animal Science,* Champaign, n. 85, p. 823-840, 2006.

EDWARDS, A. J. **Respiratory Diseases of Feedlot Cattle in the Central USA.** *Bovine Practice.* v. 30, p. 5-7, 1996.

EDWARDS, T. A. **Control Methods for Bovine Respiratory Disease for Feedlot Cattle.** *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice,* v. 26, p. 273-284, 2010.

FAO, **The State of Food and Agriculture.** *Livestock in the Balance,* Roma: FAO, p.166, 2009.

PHILLIPS, W. A.; MCLAREN, J. B.; COLE, N. A. **The effect of a preassembly zeranol implant and post-transit diet on the health performance and metabolic profile of feeder calves.** *Journal animal science.* Champaign, n. 62, p. 27-36, 1986.

FLUHARTY, F. L.; LOERCH, S. C. **Effects of Dietary Energy Source and Level on Performance of Newly Arrived Feedlot Calves.** *Journal of Animal Science.* v. 74, p. 504-513, 1996.

FULTON, R. W.; COOK, B. J.; STEP, D. L.; CONFER, A. W.; SALIKI, J. T.; PAYTON, M. E.; BURGE, L. J.; WELSH, R. D.; BLOOD, K. S. **Evaluation of Health Status of Calves and the Impact on Feedlot Performance: Assessment of a Retained Ownership Program for Postweaning Calves.** *Canadian Journal of Veterinary Research.* v. 66, n. 3, p. 173-180, jul. 2002.

GALYEAN, M. L.; PERINO, L. J.; DUFF, G. C. **Interaction of cattle health/ immunity and nutrition.** *Journal Animal Science.* Champaign, n. 77, p. 1120-1134, 1999.

GRIFFIN, D.; CHENGAPPA, M. M.; KUSZAK, J.; MCVEY, D. S. **Bacterial pathogens of the bovine respiratory disease complex.** *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice,* v.26, p. 381-394, 2010.

GRIFFIN, D. **Feedlot Diseases.** *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice,* v. 14, n. 2, p. 199-231, 1998.

GULL, T.; FRENCH, R. A.; GORTON, T. S.; BURRAGE, T. G.; PROZESKY, L.; GEARY, S. J.; ADAMS, L. G. **Models of contagious bovine pleuropneumonia:** Evaluation of two novel strains. *The Open Veterinary Science Journal*. n. 7, p. 23-33, 2013.

HJERPE, C. A. **Clinical Management of Respiratory Disease in Feedlot Cattle.** *The Veterinary Clinics of North America: Large animal practice*. v. 5, p. 119-142, 1983.

IBGE, **Produção da Pecuária Municipal.** ed.1, Rio de Janeiro, c.37, p.52, 2009, ISBN. 0101-4234.

JENSEN, R.; PIERSON, R. E.; BRADY, P. M.; SAARI, D. A., LAUERMAN, L. H.; ENGLAND, J. J.; HORTON, D. P.; MCCHESENEY, A. E. **Shipping Fever Pneumonia in Yearling Feedlot Cattle.** *Journal of the American Veterinary Medical Association*. v. 169, p. 500-506, 1976.

JUBB, K. V. F.; KENNEDY, P. C.; PALMER, N. C. **Pathology of Domestic Animals.** ed. 5, v. 2, *Elsevier*, p. 1219, 2007.

KELLY, A. P.; JANZEN, E. D. **Morbidity and Mortality Rates:** Handle With Care. *Canadian Veterinary Journal*. V. 30, p. 170-172, feb. 1989.

LONERAGAN, G. H.; DARGATZ, D. A.; MORLEY, P. S.; SMITH, M. A. **Trends in Mortality Ratios Among Cattle in US Feedlot.** *Journal of the American Veterinary Medical Association*. v. 218, n. 8, p. 1122-1127, 2001.

LUNA, L. G. **Manual of Histologic Staining of the Armed Forces Institute of Pathology.** ed. 3, New York, *McGraw-Hill Book*, p. 258, 1968.

MAAS, J. **Treating Pneumonia in Beef Cattle.** *California Cattleman Magazine*. n. 9, 2008.

MCGAVIN, M. D.; ZACHARY, J. F. **Pathologic Basis of Veterinary Disease.** ed. 4, *Mosby*, p. 1476, 2007.

MORCK, D. W.; MERRILL, J. K.; THORLAKSON, B. E.; OLSON, M. E.; TONKLINSON, L. V.; COSTERTON, J. W., **Prophylactic efficacy of tilmicosin for bovine respiratory tract disease.** *Journal of the American Veterinary Medical Association*, v.202, p.273-277, 1993.

OECD-FAO, **Agricultural Outlook 2012-2021** Disponível em: <stats.oecd.org/index.asp?lang=em&SubSessionId=58106a6c-0c7d-49d3-aec9-9fb3c6e6ae54&themetreeid=1>. Acesso em: 17 set. 2015.

OCDE-FAO, **Perspectivas Agrícolas 2015-2024.** 21. Ed. Paris: OECD, 2015. 145 p. ISBN 9789264232037.

PAES, P. R. O., **A influência do desmame, da contenção em tronco e do transporte rodoviário na etologia, hematologia e bioquímica clínica de bovinos da raça Nelore (*Bos indicus*).** 2005. 123f. Tese (Doutorado em Clínica Veterinária) – Universidade Estadual Paulista, Botucatu, SP.

PANCIERA, R. J.; CONFER, A. W. **Pathogenesis and Pathology of Bovine Pneumonia.** *Veterinary Clinics of North America: Food animal practice*. v. 26, p. 191-214, 2010.

PERINO, L. J.; HUNSAKER, B. D. **A review of bovine respiratory disease vaccine field efficacy.** *Bovine practice*, v. 31, p. 59-66, 1997.

QUINN, P. J.; MARKEY, B. K.; CARTER, M. E.; DONNELLY, W. J.; LEONARD, F. C. **Microbiologia Veterinária e Doenças Infeciosas**. ed. 1, *Artmed Editora*, p. 512, 2005.

RADOSTITS, O.M.; GAY, C. C.; BLOOD, D. C.; HINCHCLIFF, K. W. **Veterinary Medicine: A Text Book of the Disease of Cattle, Sheep, Pigs, Goats, and Horses**. ed. 9, *W.B. Saunders Company*, p. 1877, 2000.

REGEV-SHOSHANI, G.; VIMALANATHAN, S.; PREMA, D.; CHURCH, J. S.; REUDINK, M. W.; NATION, N.; MILLER, C. C., **Safety, Bioavailability and Mechanism of Action of Nitric Oxide to Control Bovine Respiratory Disease Complex in Calves Entering a Feedlot**. *Research in Veterinary Science*, v. 96, n. 2, p. 328-337, 2014.

RIBBLE, C. S.; MEEK, A. H.; SHEWEN, P. E.; GUICHON P. T.; JIM, G. K. **Effect of pretransit mixing on fatal fibrinous pneumonia in calves**. *Canadian Veterinary Journal*, v. 207, p. 616-619.

SANDERSON, M. A.; DARGATZ, A. D.; WAGNER, A. B. **Risk factors for initial respiratory disease in United States' feedlots based on producer-collected daily morbidity counts**. *Canadian Veterinary Journal*, v. 49, p. 373-378, 2008.

SINGH, K.; RITCHEY, J. W.; CONFER, A. W.. **Mannheimia haemolytica: Bacterial-Host Interactions in Bovine Pneumonia**. *Veterinary Pathology*. v. 48, n. 2, p. 338-348, 2011.

SMITH, R. A., **Impact of disease on feedlot performance: a review**. *Journal Animal Science*, v.76, p. 272-274, 1998.

SNOWDER, G. D.; VAN VLECK, L. D.; CUNDIFF, L. V.; BENNETT, G. L. **Bovine Respiratory Disease in Feedlot Cattle: Environmental, genetic, and economic factors**. *Journal of Animal Science*. v. 84, p. 1999-2008, 2006.

TAYLOR, J. D.; FULTON, R. W.; LEHENBAUER, T. W.; STEP, D. L.; CONFER, A. W. **The Epidemiology of Bovine Respiratory Disease: What is the evidence for predisposing factors?**. *The Canadian Veterinary Journal*. v. 51, n. 10, p. 1095-1102, 2010.


URBAN-CHMIEL, R.; GROOMS, D. L. **Prevention and Control of Bovine Respiratory Disease**. *Journal of Livestock Science*. v. 3, p. 27-36, 2012.

USDA, **Part III: Health Management and Biosecurity in US Feedlot**. *National Animal Health Monitoring System*. Fort Collins, Colorado, 1999.

VALLES, J. A. **Acute Interstitial Pneumonia in Feedlot Cattle**. 2010. 42 f. Thesis (Masters of Science) – Kansas State University, Manhattan.

9. ANEXOS

9.1. Certificado do projeto na comissão de ética no uso de animais/ufmg

 UFMG	UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS CEUA COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS
CERTIFICADO Certificamos que o Protocolo nº. 380 / 2015, relativo ao projeto intitulado "Estudo de causas de morbidade e mortalidade em bovinos de corte e seus impactos econômicos em sistema de confinamento", que tem como responsável Antonio Ultimo de Carvalho, está de acordo com os Princípios Éticos da Experimentação Animal, adotados pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA/UFMG), tendo sido aprovado na reunião de 24/11/2015. Este certificado expira-se em 24/11/2020.	
CERTIFICATE We hereby certify that the Protocol nº. 380 / 2015, related to the Project entitled " Study of causes of morbidity and mortality in beef cattle and their economic impact in feedlot", under the supervision of Antonio Ultimo de Carvalho, is in agreement with the Ethical Principles in Animal Experimentation, adopted by the Ethics Committee in Animal Experimentation (CEUA/UFMG), and was approved in 24/11/2015. This certificates expires in 24/11/2020.	
Cleuza Maria de Faria Rezende Coordenador(a) da CEUA/UFMG Belo Horizonte, 24/11/2015.	
Atenciosamente.	
Sistema CEUA-UFMG https://www.ufmg.br/bioetica/cetea/ceua/	
Universidade Federal de Minas Gerais Avenida Antônio Carlos, 6627 – Campus Pampulha Unidade Administrativa II – 2º Andar, Sala 2005 31270-901 – Belo Horizonte, MG – Brasil Telefone: (31) 3499-4516 – Fax: (31) 3499-4592 www.ufmg.br/bioetica/cetea - cetea@prpq.ufmg.br	