

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
Escola de veterinária
Programa de pós-graduação em ciência animal

João Paulo Andrade

**DIAGNÓSTICO E MONITORAMENTO DA DOENÇA RESPIRATÓRIA EM
BEZERRAS DA RAÇA HOLANDÊS, ATRAVÉS DE ESCORES CLÍNICOS E
EXAME ULTRASSONOGRÁFICO, E SUA RELAÇÃO COM OS FATORES DE
RISCO E ÍNDICES DE DESEMPENHO**

Belo Horizonte
2021

João Paulo Andrade

**DIAGNÓSTICO E MONITORAMENTO DA DOENÇA RESPIRATÓRIA EM
BEZERRAS DA RAÇA HOLANDÊS ATRAVÉS DE ESCORES CLÍNICOS E EXAME
ULTRASSONOGRÁFICO E SUA RELAÇÃO COM OS FATORES DE RISCO E
ÍNDICES DE DESEMPENHO**

Tese apresentada ao Colegiado de Pós-Graduação em Ciência Animal da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para obtenção do grau de Doutor em Ciência Animal.

Área de concentração: Medicina e Cirurgia Veterinárias

Orientador: Antônio Último de Carvalho

Co-orientadores: Elias Jorge Facury Filho
Rodrigo Melo Meneses

Belo Horizonte

2021

Ficha catalográfica

A554d Andrade, João Paulo, 1990 -
Diagnóstico e monitoramento da doença respiratória em bezerras da raça Holandês, através de
escores clínicos e exame ultrassonográfico, e sua relação com os fatores de risco e índices de
desempenho / João Paulo Andrade. - 2021.
119 f.:il

Orientador: Antônio Último de Carvalho

Coorientadores: Elias Jorge Facury Filho

Rodrigo Melo Menezes

Tese (Doutorado) apresentada à Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais
para obtenção do título de Doutor

Área de concentração: Ciência Animal

Bibliografias: f. 104 - 118

Anexos: f. 118 – 119.

1. Bezerra - Doenças - Teses - 2. Pulmões - Teses - 3. Ciência Animal - Teses – I. Carvalho,
Antônio Último de - II. Filho, Elias Jorge Facury – III. Menezes, Rodrigo Melo – VI. Universidade
Federal de Minas Gerais, Escola de Veterinária – V. Título.

CDD 636.089

Bibliotecária responsável Cristiane Patrícia Gomes – CRB2569

Biblioteca da Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais

Folha de aprovação

SEI/UFMG - 0780820 - Folha de Aprovação



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
ESCOLA DE VETERINÁRIA
COLEGIADO DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

FOLHA DE APROVAÇÃO

JOÃO PAULO ANDRADE

Tese submetida à banca examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em CIÊNCIA ANIMAL, como requisito para obtenção do grau de DOUTOR em CIÊNCIA ANIMAL, área de concentração em Medicina e Cirurgia Veterinárias.

Aprovada em 22 de junho de 2021, pela banca constituída pelos membros:

Dr.(a). Antônio Último de Carvalho
Presidente – Orientador(a)

Dr.(a). Sandra Gesteira Coelho

Dr.(a). Andressa Batista da Silveira Xavier

Dr.(a). Rogério de Carvalho Souza

Dr.(a). Hélio Martins de Aquino Neto



Documento assinado eletronicamente por **Antonio Ultimo de Carvalho, Professor do Magistério Superior**, em 22/06/2021, às 13:50, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Sandra Gesteira Coelho, Servidor(a)**, em 22/06/2021, às 15:22, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Rogério Carvalho Souza, Usuário Externo**, em 25/06/2021, às 10:45, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Andressa Batista da Silveira Xavier, Membro**, em 25/06/2021, às 13:19, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Helio Martins de Aquino Neto, Usuário Externo**, em 28/06/2021, às 09:01, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufmg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **0780820** e o código CRC **46DF7671**.

Agradecimentos

A Deus por me guiar e iluminar bons caminhos na minha vida. Aos meus pais João e Cleonice, minha irmã Maria Cecília que sempre me apoiam e sem eles nada seria possível.

A toda minha família, tios e primos, que sempre me ajudam.

Aos meus orientadores, Professor Antônio Último, Professor Elias e Professor Rodrigo por todo conhecimento compartilhado, disponibilidade e contribuição para realização deste trabalho.

Aos professores da PUC-Betim e da pós-graduação da UFMG. O professor Rogério que me ajudou a dar início nesse caminho. A professora Sandra, Valentin, Paulo, Lívio e Tiago pelos ensinamentos.

A todos que me ajudaram nas coletas de campo. A Professora Andressa e Rafael pela disponibilidade do ultrassom, o Matheus pela ajuda durante a realização do trabalho, o proprietário da fazenda e funcionários pela disponibilidade e apoio.

A toda família da Clínica de Ruminantes: doutorandos, mestrandos e residentes.

A CAPES agradeço a concessão da bolsa de estudos.

RESUMO

Objetivou-se avaliar o Escore de Wisconsin (Escore de WI), Escore da Califórnia (Escore da CA) e a Ultrassonografia Pulmonar no diagnóstico da doença respiratória em bezerras e estabelecer o efeito dessa enfermidade no desempenho zootécnico destes animais e os fatores de risco envolvidos. O estudo foi realizado em uma fazenda leiteira comercial intensiva, onde 193 bezerras foram avaliadas nos métodos de diagnóstico, a partir da entrada no estudo. Assim, foram realizadas 328 avaliações entre a 1ª a 6ª semana de vida (BI), 539 entre a 8ª a 12ª semana de vida (BF), 887 da 1ª a 12ª semana de vida (BG), 291 da 16ª a 24ª semana de vida (RC) e 1158 da 1ª a 24ª semana de vida (TA). No geral 79,3% (153/193) das bezerras apresentaram pelo menos um exame positivo na ultrassonografia pulmonar, 65,2% (126/193) no escore de WI, 60,1% (116/193) no escore da CA e 74% (142/193) receberam pelo um tratamento para doença respiratória até a 12ª semana de vida, quando foram desmamadas. Na primeira semana de vida apenas uma bezerra foi positiva na ultrassonografia pulmonar e posteriormente o número de animais positivos não alterou ao longo das semanas ($p > 0,05$, média de 41%). Da quarta a 6ª semana de vida houve uma maior proporção de casos positivos no escore ultrassonográfico > 3 , de positivos no escore de WI e no número de tratamentos para pneumonia. Ao longo do estudo a principal apresentação da doença respiratória foi a pneumonia subclínica, casos positivos na ultrassonografia e negativos no escore de WI, que se intensificaram partir da 8ª semana de vida e essa foi responsável pela baixa concordância do escore de WI com a ultrassonografia pulmonar (índice *kappa*, 9,1 a 21,9%) e da sua baixa sensibilidade diagnóstica ao longo do estudo (20,2 a 39,2%). O escore ultrassonográfico 1, presença de caudas de cometa difusas, foi observado apenas em quatro animais e esses vieram a óbito, poucos dias após o diagnóstico (1 a 5 dias) por septicemia causada pela *Salmonella* Dublin. Sobre os fatores de risco, houve associação significativa da transferência de imunidade passiva com o número de consolidações pulmonares > 1 cm na ultrassonografia (BG $y = 0,81 - 0,047x$, $R^2 = 0,004$, $P = 0,021$; TA $y = 0,82 - 0,055x$, $R^2 = 0,0061$, $P = 0,003$) e com o número de casos de tratamento para pneumonia ($y = 2 - 0,13x$, $R^2 = 0,021$, $P = 0,044$). O total de dias em diarreia teve associação significativa sobre o número de casos de tratamento para pneumonia ($y = 0,79 + 0,04x$, $R^2 = 0,022$, $P = 0,04$). Nos exames positivos na ultrassonografia, em 72,7% (339/466) as consolidações estavam presentes apenas no pulmão direito, 87,6% (410/466) presentes na parte cranial do lobo cranial e em 42,9% (201/466) restritas a essa porção pulmonar. Na avaliação de desempenho, foi observado uma associação do menor ganho de peso para o aumento do número de espaços intercostais com lesões > 1 cm (BI ($y = 0,63 - 0,044x$, $R^2 = 0,05$, $P = 0,002$; BG $y = 0,85 - 0,038x$, $R^2 = 0,027$, $P = 0,011$; RC $y = 0,86 - 0,055x$, $R^2 = 0,02$, $P = 0,02$; TA $y = 0,86 - 0,04x$, $R^2 = 0,025$, $P = 0,001$) e para número de casos positivos no escore de WI (BG $y = 0,84 - 0,15x$, $R^2 = 0,02$, $P = 0,015$; TA $y = 0,84 - 0,14x$, $R^2 = 0,016$, $P = 0,004$). O aumento de um ponto no valor médio de espaços intercostais com consolidações > 1 cm elevou a taxa de morte em 51% (*Hazard ratio* = 1,51; IC 95% (1,16-1,97; $P = 0,002$) e para aumento nos valores do escore WI, em 35% (*Hazard ratio* = 1,35; IC 95% (1,12-1,63; $P = 0,002$), até os 19 meses de vida. No estudo, foi observado uma alta prevalência de doença respiratória e principalmente por pneumonia subclínica, diagnosticada pelo uso da ultrassonografia pulmonar. No exame ultrassonográfico, a parte cranial do lobo cranial direito foi a mais afetada e para evitar casos falso negativos, essa sempre deve ser avaliada. A presença da doença respiratória foi associada a pior transferência de imunidade passiva, dias em diarreia, menor ganho de peso e maior chance de morte. Apesar de significativa, a força dessas associações foram baixas, o que mostra o caráter multifatorial da doença respiratória e que outros fatores devem ser estudados.

Palavras-chave: Escore De Wisconsin, Ultrassonografia Pulmonar, Pneumonia Subclínica, Ganho De Peso, Colostragem.

ABSTRACT

The objective was to evaluate the Wisconsin Score (WI Score), California Score (CA Score) and Pulmonary Ultrasonography in the diagnosis of respiratory disease in heifers and to establish the effect of this disease on the zootechnical performance of these animals and the risk factors involved. The study was carried out on an intensive commercial dairy farm, where 193 heifers were evaluated on diagnostic methods from study entry. Thus, 328 assessments were carried out between the 1st to 6th week of life (BI), 539 between the 8th to 12th week of life (BF), 887 from the 1st to 12th week of life (BG), 291 from the 16th to 24th week of life (RC) and 1158 from the 1st to 24th week of life (TA). Overall, 79.3% (153/193) of the calves had at least one positive exam on lung ultrasound, 65.2% (126/193) on the WI score, 60.1% (116/193) on the AC score and 74% (142/193) received at least one treatment for respiratory disease until the 12th week of life, when they were weaned. In the first week of life, only one heifer was positive on lung ultrasound and later the number of positive animals did not change over the weeks ($p>0.05$, mean of 41%). From the 4th to the 6th week of life, there was a greater proportion of positive cases in the ultrasound score >3 , positive in the WI score and in the number of treatments for pneumonia. Throughout the study, the main presentation of the respiratory disease was subclinical pneumonia, positive cases on ultrasound and negative cases on the WI score, which intensified from the 8th week of life and this was responsible for the low agreement between the WI score and pulmonary ultrasound (kappa index, 9.1 to 21.9%) and its low diagnostic sensitivity throughout the study (20.2 to 39.2%). Ultrasonographic score 1, presence of diffuse comet tails, was observed in only four animals and these died a few days after diagnosis (1 to 5 days) due to septicemia caused by *Salmonella* Dublin. Regarding risk factors, there was a significant association between passive immunity transfer and the number of pulmonary consolidations >1 cm on ultrasound (BG $y=0.81-0.047x$, $R^2=0.004$, $P=0.021$; TA $y=0.82-0.055x$, $R^2=0.0061$, $P=0.003$) and with the number of cases of treatment for pneumonia ($y=2-0.13x$, $R^2=0.021$, $P=0.044$). The total number of days in diarrhea had a significant association with the number of cases treated for pneumonia ($y=0.79+0.04x$, $R^2=0.022$, $P=0.04$). In positive ultrasound exams, in 72.7% (339/466) consolidations were present only in the right lung, 87.6% (410/466) were present in the cranial part of the cranial lobe and in 42.9% (201/466) restricted to this pulmonary portion. In the performance evaluation, an association between lower weight gain and an increase in the number of intercostal spaces with lesions >1 cm was observed (BI ($y=0.63-0.044x$, $R^2=0.05$, $P=0.002$); BG $y=0.85-0.038x$, $R^2=0.027$, $P=0.011$; RC $y=0.86-0.055x$, $R^2=0.02$, $P=0.02$; TA $y=0.86-0.04x$, $R^2=0.025$, $P=0.001$) and for the number of positive cases in the WI score (BG $y=0.84-0.15x$, $R^2=0.02$, $P=0.015$; TA $y=0.84-0.14x$, $R^2=0.016$, $P=0.004$) A one-point increase in the mean value of intercostal spaces with consolidations >1 cm increased the death rate by 51% (Hazard ratio=1.51; 95% CI (1.16-1.97; $P=0.002$) and for an increase in WI score values, by 35% (Hazard ratio =1.35; 95% CI (1.12-1.63; $P=0.002$), up to 19 months of life. , a high prevalence of respiratory disease was observed, mainly due to subclinical pneumonia, diagnosed by the use of pulmonary ultrasound. must be evaluated. The presence of respiratory disease was associated with worse transfer of passive immunity, days in diarrhea, less weight gain, and a greater chance of death. Despite being significant, the strength of these associations was low, which shows the multifactorial character of respiratory disease and that other factors should be studied.

Keywords: Wisconsin Score, Pulmonary Ultrasound, Subclinical Pneumonia, Weight Gain, Colostrum.

Lista de Tabelas

Tabela 1	Sensibilidade e Especificidade dos Escores de Wisconsin e da Califórnia, de acordo com o “Padrão Ouro” para diagnóstico de pneumonia, em diferentes estudos realizados em bezerros no período de aleitamento.	32
Tabela 2	Sensibilidade e Especificidade da Auscultação Pulmonar, de acordo com o “Padrão Ouro” para diagnóstico de pneumonia, em diferentes estudos realizados em bezerros no período de aleitamento	35
Tabela 3	Sensibilidade e Especificidade da Ultrassonografia pulmonar, de acordo com o “Padrão Ouro” para diagnóstico de pneumonia e área pulmonar avaliada no exame ultrassonográfico, em diferentes estudos realizados em bezerros no período de aleitamento	49
Tabela 4	Efeito da doença respiratória sobre o desempenho de bovinos leiteiros observados em diferentes estudos, distribuídos de acordo com o método empregado para definir um caso de pneumonia e o período de avaliação.	53
Tabela 5	Distribuição das avaliações de Ultrassonografia Pulmonar, Escore de WI e da CA, de acordo com o início e término das avaliações em um grupo de 193 bezerras Holandesas até a 24ª semana de vida, em uma fazenda de exploração leiteira intensiva localizada no Centro-Oeste do Brasil.	57
Tabela 6	Relação da concentração de proteína plasmática, avaliada na primeira semana de vida, com a saúde respiratória, determinada através do número de espaços intercostais com consolidações >1cm na avaliação ultrassonográfica e valor do escore respiratório de WI em avaliações realizadas da primeira a 24ª semana de vida, e do número de casos tratados para pneumonia, até o desaleitamento, de um grupo de 193 bezerras Holandesas em uma fazenda de produção leiteira intensiva localizada no Centro-Oeste do Brasil.	69
Tabela 7	Causa da morte de 51 animais de um grupo de 193 bezerras Holandesas, avaliadas até os 19 meses de vida, em uma fazenda leiteira de exploração leiteira intensiva no Centro Oeste do Brasil.	74
Tabela 8	Análises de Acurácia, Sensibilidade, Especificidade e Concordância (índice Kappa) do escore de WI em relação à ultrassonografia pulmonar, de acordo com o período de avaliação, em um estudo com 193 bezerras Holandesas, avaliadas da primeira a 24ª semana de vida, em fazenda de exploração leiteira intensiva localizada no Centro-Oeste do Brasil.	97

Lista de Figuras

Figura 1	Exame ultrassonográfico do pulmão de bezerras Holandesas na fase de aleitamento e recria. A: Exame ultrassonográfico de uma bezerra na fase de aleitamento. B: Exame ultrassonográfico de uma bezerra na fase de recria C: Posicionamento da probe linear transretal abaixo do membro torácico direito de uma bezerra para acessar o primeiro e segundo espaço intercostal.	59
Figura 2	Descrição anatômica do pulmão bovino e identificação dos lobos pulmonares para realização do exame ultrassonográfico, segundo Olivett e Buczinski (2016) A- Pulmão esquerdo: 1-Lobo cranial; 1a- Porção cranial do lobo cranial esquerdo, 2º ao 3º espaço intercostal (EI); 1b- Porção caudal do lobo cranial esquerdo, 4º ao 5º EI; 2-Lobo caudal, 6º ao 10º EI; B- Pulmão direito; 3 -Lobo cranial; 3a- Porção cranial do lobo cranial direito, 1º ao 2º EI; 3b- Porção caudal do lobo cranial direito, 3º ao 4º EI; 4- Lobo médio, 5º EI; 5-Lobo caudal, 6º ao 10º EI.	60

-
- Figura 3 Classificação das alterações ultrassonográficas no Escore Ultrassonográfico, segundo Cramer e Olivett (2019). Escore ultrassonográfico 0 (zero), apenas artefatos de reverberação (A), poucas caudas de cometa (B) e consolidações <1cm; Escore 1, caudas de cometa difusas, ocupando um ou mais lobos pulmonares (C e D); Escore 2, consolidações pulmonares >1 cm, mas que não ocupavam todo o lobo pulmonar (E e F); Escore 3, consolidação completa de um lobo pulmonar (G); Escore 4, consolidação de 2 lobos pulmonares (G e H) e Escore 5, quando 3 ou mais lobos estavam consolidados (G, H e I). 61
- Figura 4 Classificação da doença respiratória de acordo com os resultados da avaliação do Escore de Wisconsin (escore de WI) e da Ultrassonografia Pulmonar (Escore de US), segundo Olivett e Buczinsk (2016). Escore de WI= negativo <5, positivo ≥5; Escore de US = negativo poucas caudas de cometa e consolidações <1cm, positivo caudas de cometa difusas ou com consolidações >1cm. 62
- Figura 5 Relação da proteína plasmática, mensurada na primeira semana de vida, com o número de espaços intercostais com consolidações pulmonares >1cm, no exame ultrassonográfico, avaliados nos períodos BG e TA, de um grupo de 193 bezerras holandesas em uma fazenda leiteira intensiva localizada no Centro-Oeste do Brasil. BG: avaliações da primeira a 12^a semana de vida; TA: avaliações da primeira a 24^a semana de vida. 70
- Figura 6 Relação da concentração de proteína plasmática, avaliada na primeira semana de vida, com a sobrevivência até os 19 meses de vida, de um grupo de 193 bezerras Holandesas em uma fazenda leiteira intensiva localizada no Centro-Oeste do Brasil. Concentração de proteína plasmática, acima (>7,6 g/dL) e menor ou igual (≤7,6 g/dL) o valor mediano. 71
- Figura 7 Relação do período total de dias em diarreia, mensurado nos primeiros 20 dias de vida, com o número de casos tratados para pneumonia até o desaleitamento, de um grupo 193 bezerras Holandesas em uma fazenda de produção leiteira intensiva localizada no Centro-Oeste do Brasil. BG: avaliações da primeira a 12^a semana de vida; TA: avaliações da primeira a 24^a semana de vida. 72
- Figura 8 Figura 8: Imagens da ultrassonografia pulmonar com edema intersticial e avaliação macroscópica do pulmão na necrópsia, de bezerras Holandesas que vieram a óbito no período de aleitamento devido a sepse por Salmonella Dublin; A: Presença de caudas de cometa difusa no lobo pulmonar (→); B: Presença de caudas de cometa difusas no lobo pulmonar (→) sobre o coração (*); C: Efusão pleural (Σ) e lobo pulmonar com cauda de cometa difusa (→); D: Pulmão direito com características macroscópicas de edema intersticial, congesto, pesado, úmido e com septos interalveolares bem demarcados; E: Interstício pulmonar com característica gelatinosa (→) devido ao edema intenso. 77
- Figura 9 Distribuição da frequência de Escores Ultrassonográficos, de acordo com as avaliações ultrassonográficas, realizadas da primeira a 24^a semana de vida, de um grupo de 193 bezerras Holandesas em uma fazenda de produção leiteira intensiva localizada no Centro-Oeste do Brasil. Escore US 0=Escore Ultrassonográfico 0, presença de reverberação, poucas caudas de cometa ou consolidações ≤ 1cm; Escore US 2, consolidações >1cm, mas que não ocupam todo o lobo pulmonar; Escore US 3. consolidação pulmonar em um lobo pulmonar; Escore US >3, somatório do escore ultrassonográfico 4, dois lobos afetados, e escore ultrassonográfico 5, três ou mais lobos afetados. Letras maiúsculas mostram diferenças entre escores para um mesmo tempo e letras minúsculas mostram diferenças entre tempos para um mesmo escore. Grupos que compartilham pelo menos uma letra não são significativamente diferentes entre si (P<0,05). 79
-

-
- Figura 10 Distribuição do número de espaços intercostais com consolidações >1cm de acordo com a semana de avaliação ultrassonográfica, de um grupo de 193 bezerras Holandesas em uma fazenda de produção leiteira intensiva localizada no Centro-Oeste do Brasil. Letras minúsculas mostram diferenças entre os momentos de avaliação. Momentos que compartilham pelo menos uma letra não são significativamente diferentes entre si (P<0,05). 80
- Figura 11 Distribuição do número de espaços intercostais com consolidações >1cm de acordo com a semana de avaliação e se o grupo de animais foi ou não tratado para pneumonia, de um grupo de 193 bezerras Holandesas em uma fazenda de produção leiteira intensiva localizada no Centro-Oeste do Brasil. Letras maiúsculas mostram diferenças entre os grupos tratado e não tratado para um mesmo tempo e letras minúsculas mostram diferenças entre tempos para um mesmo grupo. Grupos que compartilham pelo menos uma letra não são significativamente diferentes entre si (P<0,05). 81
- Figura 12 Proporção de casos positivos na Ultrassonografia pulmonar (US+(>1cm)), escore de Wisconsin (WI+) e da Califórnia (CA+) de acordo com semana de avaliação, realizada em um grupo de 193 bezerras Holandesas em uma fazenda leiteira intensiva localizada no Centro-Oeste do Brasil. Letras maiúsculas mostram diferenças entre escores para um mesmo tempo e letras minúsculas mostram diferenças entre tempos para um mesmo escore. Grupos que compartilham pelo menos uma letra não são significativamente diferentes entre si (P<0,05). 83
- Figura 13 Classificação da doença respiratória de acordo com o resultado das avaliações em conjunto dos resultados da ultrassonografia pulmonar e da avaliação do escore de WI, segundo Ollivett e Buczinsck (2016), realizada em um grupo de 193 bezerras, da primeira a 24ª semana de vida, em uma fazenda leiteira intensiva localizada no Centro-Oeste do Brasil. EWI +/ULS +, Escore de WI ≥ 5 e Escore de Ultrassom positivo (≥ 1) = pneumonia clínica; EWI -/ULS-, Escore de WI ≤ 4 e Escore de Ultrassom negativo = saudável; EWI +/ULS-, Escore de WI ≥ 5 e Escore de Ultrassom negativo = doença do trato respiratório superior; EWI-/ULS+, Escore de WI ≤ 4 e Escore de Ultrassom positivo (≥ 1) = pneumonia subclínica. Letras maiúsculas mostram diferenças entre escores para um mesmo tempo e letras minúsculas mostram diferenças entre tempos para um mesmo escore. Grupos que compartilham pelo menos uma letra não são significativamente diferentes entre si (P<0,05). 84
- Figura 14 Frequência de casos tratados para pneumonia, diagnosticados pelo funcionário da fazenda, em um grupo de 193 bezerras Holandesas, avaliadas do nascimento ao desaleitamento, em uma fazenda de produção leiteira intensiva localizada no Centro-Oeste do Brasil. Letras minúsculas mostram diferenças entre os tempos para frequência de pneumonia. Grupos que compartilham pelo menos uma letra não são significativamente diferentes entre si (P<0,05). 91
- Figura 15 Comparação dos casos de animais não tratados e tratados para pneumonia, com o resultado dos exames de ultrassonografia pulmonar, realizados entre a 4ª e 12ª semana de vida, de 109 bezerras Holandesas em uma fazenda de produção leiteira intensiva localizada no Centro-Oeste do Brasil. US+ Exame de ultrassonografia pulmonar positivo, US- Exame ultrassonografia pulmonar negativo, ESC>3 somatórios de exames ultrassonográficos com escore ultrassonográfico 4 e 5. Recuperaram US- voltou apresentar um exame ultrassonográfico negativo na 12ª semana de vida e US+ manteve o exame ultrassonográfico positivo. 94
- Figura 16 Relação do número médio de espaços intercostais com consolidações pulmonares >1cm, avaliadas através da ultrassonografia pulmonar, e de ser positivo ou negativo no escore de Wisconsin, com o ganho de peso (Kg/dia) durante o período de avaliações TA (primeira a 24ª semana de vida), de um grupo 100
-

de 193 bezerras Holandesas em uma fazenda de exploração leiteira intensiva localizada no Centro-Oeste do Brasil.

Figura 17 Relação do número médio de espaços intercostais com consolidações pulmonares >1cm, avaliadas através da ultrassonografia pulmonar da primeira a 24^a semana de vida, e o tempo até atingir 370 Kg, de um grupo 193 bezerras Holandesas em uma fazenda de exploração leiteira intensiva localizada no Centro-Oeste do Brasil.

101

Lista de abreviaturas

BF	Bezerreiro Final
BG	Bezerreiro Geral
BI	Bezerreiro Inicial
BRSV	Vírus Sincicial Respiratório Bovino
BVD	Vírus da Diarreia Viral Bovina
CDRB	Complexo da Doença Respiratória Bovina
CNF	Carboidratos não fibrosos
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
DP	Desvio Padrão
Escore de US	Escore de Ultrassonográfico
Escores da CA	Escores Respiratórios de Wisconsin
Escores de WI	Escores Respiratórios da Califórnia
EWI-	Escores Respiratórios de Wisconsin negativo
EWI +	Escores Respiratórios de Wisconsin positivo
FDN	Fibra em Detergente Neutro
FTIP	Falhas na transferência de imunidade passiva
g/L	gramas por litro
HR	Hazard ratio
IC	Intervalo de confiança
IgA	Imunoglobulina A
IgG	Imunoglobulina G
IgM	Imunoglobulina M
mg/dL	Miligramas por decilitro
MHz	Mega-hertz
NDT	Nutrientes Digestíveis Totais
NHAMS	Sistema Nacional de Monitoramento de Saúde Animal
OR	odds ratio
PB	Proteína Bruta
PCR	Reação em Cadeia da Polimerase
PI-3	Vírus Parainfluenza-3
RC	Recria
TA	Total de Avaliações
TNF	Factor de necrose tumoral
ULS-	Escore de Ultrassonográfico negativo
ULS +	Escore de Ultrassonográfico positivo
µm	Micrômetro

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
2 HIPÓTESES.....	14
3 OBJETIVOS	14
3.1 Objetivo geral.....	14
3.2 Objetivos específicos.....	14
4 REVISÃO DE LITERATURA	15
4.1.1 Imunidade do sistema respiratório bovino e fatores de risco relacionados a doença respiratória	15
4.1.2 Fatores de risco relacionados ao período gestacional e ao parto.....	17
4.1.3 Falha na transferência de imunidade passiva (FTIP)	18
4.1.4 Doenças concomitantes	19
4.1.5 Fatores de risco relacionados ao alojamento	21
4.1.6 Ventilação	23
4.1.7 Sazonalidade	25
4.1.8 Transporte e desmama.....	26
4.1.9 Fatores de risco relacionado a dieta	27
4.2.1 Diagnóstico da doença respiratória	29
4.2.2 Escores Clínicos no diagnóstico das doenças respiratórias.....	29
4.2.3 Auscultação Pulmonar.....	32
4.2.4 Ultrassonografia Pulmonar.....	35
4.2.5 Radiografia Torácica	39
4.2.6 Métodos automáticos para diagnóstico e monitoramento da doença respiratória.....	41
4.2.7 Método de <i>Swab</i> nasal, swab nasofaríngeo, lavado intratraqueal e lavado broncoalveolar.....	44
4.2.8 Necropsia e Histopatologia	47
4.3 Perdas de desempenho relacionada a doença respiratória em bovinos	49
5 MATERIAL E MÉTODOS	54
5.1 Local e Período	54
5.2 Utilização dos animais e Coleta de Dados	56
5.3 Descrição da coleta de dados:	58
5.3.1- Escores respiratórios e Ultrassonografia pulmonar	58
5.3.2- Avaliação da transferência de imunidade passiva, das enfermidades das bezerras e dados zootécnicos.....	62
6 ANÁLISE ESTATÍSTICA	65
7 RESULTADOS E DISCUSSÃO	66
7.1 Relação da transferência de imunidade passiva com a doença respiratória e sobrevivência	66
7.2 Relação da diarreia com a doença respiratória.....	71

7.3 Associação da doença respiratória com a mortalidade até 19 meses.	73
7.4 Utilização da ultrassonografia e do escore de WI e da CA no diagnóstico da doença respiratória.	75
7.5 Número de casos tratados para pneumonia no período de bezerreiro e sua relação com a ultrassonografia e o escore respiratório de WI.....	89
7.6 Relação do escore de WI com a ultrassonografia pulmonar	94
7.7 Distribuição das consolidações pulmonares de acordo com o lobo pulmonar	97
7.8 Relação da doença respiratória até 24ª semanas de idade com o ganho de peso e índices reprodutivos até os 19 meses de vida.	99
8 CONSIDERAÇÕES FINAIS	102
9 CONCLUSÕES.....	103
10 REFERÊNCIAS	104
11 ANEXOS.....	118

1 INTRODUÇÃO

O Complexo da Doença Respiratória Bovina (CDRB) é um conjunto de doenças infecciosas que acomete o sistema respiratório, sendo assim denominada devido sua casuística multifatorial e na maioria das vezes, de diagnóstico e etiologia definitiva incertos (Radostits *et al.*, 2007; McGavin *et al.*, 2007; Regev-Shoshani, 2014). Neste contexto, as pneumonias são consideradas as de maior importância (Radostits *et al.*, 2007) e são responsáveis por 21,3% a 45,6% das causas de mortes de bezerros em aleitamento (McGuirk, 2008).

O maior desafio para o controle dessa doença no rebanho está no seu diagnóstico. O caráter multifatorial e a sintomatologia clínica variável, muitas vezes a faz passar despercebida e quando não diagnosticada de forma precoce, o tratamento se torna pouco eficiente. As lesões pulmonares, quando não levam o animal ao óbito, podem se tornar irreversíveis e comprometer de forma definitiva a vida produtiva do animal. Animais afetados podem apresentar menor ganho de peso (Virtala *et al.*, 1996; Stanton *et al.*, 2012), maior risco de não sobreviver até um ano de vida (Adams e Buczinski, 2016), aumento da idade ao primeiro parto e menor produção de leite (Stanton *et al.*, 2012.)

Pesquisas são realizadas na busca de métodos eficientes para diagnóstico e monitoramento da pneumonia em rebanhos. O estudo de métodos de Escore Clínicos, tem como objetivo determinar se um animal apresenta uma doença respiratória, através do somatório de uma pontuação atribuída a um conjunto de sinais clínicos, como hipertermia, dispneia, corrimento nasal e ocular, posicionamento das orelhas e letargia. Seu uso é de interesse por ser uma ferramenta de fácil aplicabilidade (McGuirk, 2008; Love *et al.*, 2014). Contudo, são métodos que não conseguem diferenciar uma doença respiratória do trato respiratório superior de uma pneumonia e dependem da manifestação de sinais clínicos (Ollivett e Buczinski, 2016; Andrade, 2017). As pesquisas mostram que a pneumonia subclínica, pode representar de 10 a 80% casos (Ollivett e Buczinski, 2016; Buczinski *et al.*, 2018; Binversie *et al.* 2020; Cramer e Ollivett, 2019).

Nos últimos anos, na busca por métodos de diagnóstico mais eficientes, a técnica de ultrassonografia pulmonar tem mostrado resultados promissores tanto para o diagnóstico, quanto para prognóstico e monitoramento das pneumonias nos sistemas de criação de bovinos (Rabeling *et al.* 1998; Reinhold *et al.* 2002; Buczinski *et al.* 2014, Ollivett 2014; Adams e Buczinski 2016; Ollivett. e Buczinski 2016; Andrade, 2017). A técnica, é baseada no fato que uma lesão pulmonar, no caso uma consolidação pulmonar, gerar uma área de tecido não aerada

no pulmão, que quando em contato com a pleura pode ser visualizada e mensurada. A partir disso, a extensão da lesão prediz um caso de pneumonia, independente do animal apresentar sinais clínicos (Rabeling *et al.* 1998; Reinhold *et al.* 2002; Ollivett e Buczinski, 2016; Andrade, 2017).

Assim, o entendimento dos fatores de risco e de ferramentas para diagnóstico das pneumonias, podem ajudar no monitoramento e redução da prevalência dessa enfermidade nos rebanhos bovinos.

2 HIPÓTESES

- A Ultrassonografia Pulmonar, associada aos Escores Respiratórios de Wisconsin (Escore de WI) e da Califórnia (Escore da CA) permitem identificar e caracterizar a doença respiratória com maior eficácia em bezerras leiteiras.
- A doença respiratória possui caráter multifatorial e sua ocorrência está associada a falha de transferência de imunidade passiva e a diarreia.
- Bezerras com lesões pulmonares, identificadas na ultrassonografia, apresentam menor desempenho zootécnico.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

- Utilizar os Escores Respiratórios e a Ultrassonografia Pulmonar para o diagnóstico de doença respiratória em bezerras, estabelecer a relação dessa enfermidade com o desempenho zootécnico desses animais e com os fatores de risco envolvidos.

3.2 Objetivos específicos

- Avaliar de forma integrada a Ultrassonografia Pulmonar e os Escores de WI e da CA no diagnóstico da doença respiratória em bezerras.
- Classificar a doença respiratória de acordo com a ultrassonografia e Escore de WI.
- Associar a transferência de imunidade passiva e a duração da diarreia com a ocorrência da doença respiratória em bezerras.
- Associar presença da consolidação pulmonar, identificada através da ultrassonografia, em bezerras Holandesas, sobre o ganho de peso, mortalidade e desempenho reprodutivo.
- Associar a doença respiratória diagnosticada pelos Escore de WI, sobre o ganho de peso, mortalidade e desempenho reprodutivo em fêmeas bovinas da raça Holandesa.

4 REVISÃO DE LITERATURA

4.1.1 Imunidade do sistema respiratório bovino e fatores de risco relacionados a doença respiratória

O sistema respiratório dos bovinos, possui diferentes mecanismos de defesa distribuídos nos tratos respiratório superior e inferior, que desempenham as funções de: aquecer e umidificar o ar inspirado, manter a funcionalidade e integridade das vias aéreas, manter em equilíbrio a microbiota comensal no trato respiratório superior, impedir a entrada de agentes patológicos no pulmão ou inativá-los e eliminá-los rapidamente (Dirksen et al., 1993).

O trato respiratório superior possui microbiota comensal, composta por bactérias patogênicas e não patogênicas ao sistema respiratório. Porém, esse ambiente está em equilíbrio, de forma que os micro-organismos não patogênicos se sobressaiam, competindo por micronutrientes e receptores de ligação (Ackermann et al., 2010). Toda a superfície aérea, das narinas aos brônquios, é revestida por epitélio mucociliar importante para aquecer, umidificar, filtrar o ar inspirado, proteger as células contra aerossóis, gases nocivos e patógenos (Breeze, 1985; Ackermann et al., 2010). Nestas vias aéreas, o ar inspirado sofre turbilhamento e partículas maiores que 20 μ m são retidas nas narinas, faringe e traqueia. Já as partículas entre cinco e 20 μ m se estabelecem nos brônquios e bronquíolos e as menores que 5 μ m podem chegar aos alvéolos, onde são inativadas e retiradas por macrófagos alveolares (Baskerville, 1981).

Nessa camada periciliar, os patógenos sofrem ação de fatores antimicrobianos, por exemplo: imunoglobulinas, mucinas, lisosimas, lactoferrina, surfactantes, polipeptídeo traqueal e lingual, com as funções de ligar, inativar e promover a morte de bactérias ou vírus (Ackermann et al., 2010). Além disso, os cílios estão em constante movimento levando o muco e as partículas aderidas em direção à faringe para serem deglutidas (Breeze, 1985).

Ainda que apresentem todas essas barreiras contra infecções, os bovinos, quando comparados às outras espécies domésticas, possuem alguns fatores de riscos naturais que os tornam mais susceptíveis às doenças respiratórias. Suas vias aéreas são mais estreitas, tornando o fluxo de ar e a fluidez do muco do aparelho mucociliar mais lentos. Possuem a caixa torácica mais rígida, o que implica em ventilação mais dependente da atividade do diafragma e uma atividade ventilatória basal, predispondo a ocorrência de baixos níveis de oxigênio nos brônquios e alvéolos. Essa baixa tensão de oxigênio, ou hipóxia, pode retardar a atividade do aparelho mucociliar e dos macrófagos alveolares (Flock, 2004; Radostits et al., 2007). O efeito da

atividade respiratória basal ainda permite a maior permanência do ar inspirado nos pulmões, favorecendo a deposição de contaminantes e a lesão por gases nocivos. As vias aéreas inferiores possuem maior compartimentação, menor capacidade de trocas gasosas, e a presença de septos interalveolares impedem a ventilação colateral, dificultando a resolução dos processos de pneumonia, predispondo a hipóxia das vias aéreas periféricas, oclusão e retenção ou multiplicação de agentes infecciosos. Além disso, devido ao baixo número de macrófagos e uma menor bioatividade das lisozimas no muco respiratório, a capacidade de depuração do aparelho mucociliar é menor, comparada às outras espécies domésticas (Flock, 2004; Radostits et al., 2007).

Os agentes causadores de doença no sistema respiratório são bactérias, vírus, fungos, parasitas, agentes físicos e químicos, que agem de forma isolada ou conjunta (Panciera e Confer, 2010). Por exemplo, é relatado que os vírus podem atuar como agentes primários da doença pulmonar, pois ao infectarem as células do trato respiratório, promovem erosão do epitélio mucociliar, diminuindo a atividade de inativação e depuração, facilitando a adesão e a colonização bacteriana. Além disso, afetam a capacidade fagocitária de macrófagos, neutrófilos e diminuem a proliferação de linfócitos (Earley et al., 2017; Srikumaran et al. 2007 ; Griffin et al., 2010; Taylor et al., 2010). Entre os vírus mais comumente envolvidos estão o Vírus Sincicial Respiratório Bovino (BRSV), Parainfluenza bovina, Vírus da Diarreia Viral Bovina (BVD), Herpesvirus Bovino-1 e o Adenovirus bovino A-D. Dentre as bactérias mais importantes, que podem atuar como agentes primários nas infecções estão a *Mannheimia haemolytica*, *Pasteurella multocida*, *Histophilus somni* e o *Mycoplasma bovis* (McGavin et al., 2007; McGuirck, 2008; Griffin et al., 2010).

Assim, a doença respiratória ocorre quando os patógenos conseguem superar as defesas do sistema respiratório. Neste processo estão envolvidos vários fatores de risco como o estresse térmico, falha de transferência de imunidade passiva, má nutrição, gases tóxicos, superlotação, entre outros (Coutinho, 2005; Gorden e Plummer, 2010). Nesse contexto, a doença respiratória possui um caráter multifatorial e sua prevalência é variável, podendo acometer de 6 a 23% dos bezerros leiteiros (Dubrovsky et al., 2019; Karle et al., 2019; Sivula et al., 1996; Virtala et al., 1996).

4.1.2 Fatores de risco relacionados ao período gestacional e ao parto

No período gestacional, há vários fatores que comprometem a saúde do bezerro e alguns foram associados diretamente, com a predisposição da doença respiratória nos seus primeiros meses de vida. Em um estudo conduzido na Suécia, Lundborg, et al. (2005) relataram que bezerros de vacas que tiveram pelo menos uma doença, dos 280 aos 50 dias antes do parto, tiveram maior risco relativo de desenvolver doenças respiratórias durante o período pré-desmame. Isso sugere que o desenvolvimento do sistema imune do feto pode ser comprometido pelo status de saúde da mãe. Em outro trabalho, Lundborg et al. (2003) observaram associação entre o período seco de curta duração (< 45 dias), com doença respiratória e ocorrência de mastite clínica em vacas durante os últimos 49 dias de gestação e o nascimento de bezerros menores. O que demonstra, a importância de práticas de manejo para prevenção de doenças durante o período de gestação.

Outro fator de risco importante, que influencia diretamente na saúde da vaca e do bezerro no período gestacional, é o estresse térmico nos últimos meses de gestação. Neste período foi observado que vacas sobre estresse térmico, ou seja, que não eram resfriadas, tinham uma redução no consumo de alimento, alteração no metabolismo de nutrientes (Tao, et al., 2012), efeitos deletérios no desenvolvimento da glândula mamária (Tao et al., 2011) e da placenta, anteciparam o dia do parto e estavam imunossuprimidas (Amaral, do et al., 2011). O conjunto desses fatores resultou em menor produção de leite, maior morbidade e comprometeu a saúde dos seus bezerros no período de aleitamento (Ouellet, Laporta e Dahl, 2020; Tao e Dahl, 2013). Os bezerros dessas vacas, nasceram mais leves, devido ao parto precoce e o menor aporte de nutrientes via placenta, apresentaram menor capacidade de absorção de imunoglobulinas, com isso maior risco de terem falha de transferência de imunidade passiva, e eram animais imunossuprimidos, com maior morbidade no período de aleitamento (Ouellet, Laporta e Dahl, 2020; Tao, et al. 2012; Tao e Dahl, 2013).

No dia do parto, um fator de risco para saúde do bezerro são as distocias, definida como parto atrasado ou difícil. Os seus efeitos deletérios, são a exacerbação da hipóxia, da acidose metabólica e respiratória, nas primeiras horas de vida. A gravidade dessas alterações, são proporcionais a severidade do caso, podendo ser imediatamente fatais (natimorto) ou reduzir a sobrevivência a longo prazo (Ferreira, 2012; Stokka, 2010). Bezerros que experimentam hipóxia prolongada e sobrevivem, são frequentemente fracos, lentos para ficar em pé e mamar. Isso afeta negativamente a absorção de imunoglobulinas colostrais e prejudica a regulação da temperatura corporal (Murray e Leslie, 2013). Lombard et al. (2007) avaliaram 7.380 partos,

em 3 fazendas leiteiras no Colorado, e observaram prevalência de 37,6 % de distocias. Destas, 10,8% foram classificadas como severas (necessidade de duas ou mais pessoas para auxiliar no parto) e foram associadas a maior chance de casos de natimortos [O.R. = 20,7], de tratamento para doenças respiratórias (OR = 1,7), doenças digestivas (O.R. = 1,3) e mortalidade (O.R.= 6,7) no período de aleitamento, quando comparados ao grupo de bezerros eutócicos. Por isso, é importante minimizar os riscos da ocorrência da distocia, adotando medidas, como: garantir o desenvolvimento corporal adequado da novilha após a confirmação da prenhez, fazer acasalamentos orientados para facilidade de parto, monitorar o parto na fazenda, treinar os funcionários para identificar as fases do parto, intervir na hora correta e prestar os primeiros cuidados ao bezerro (Murray e Leslie, 2013).

Ainda na maternidade, outro fator importante é a higiene. Algumas práticas, associadas a redução da exposição do bezerro a patógenos, logo após o nascimento, foram associadas a menor ocorrência de doença respiratória. Em sistemas que utilizam baia maternidade, a maior frequência de trocas da cama da maternidade foi associada há redução no risco (Dubrovsky et al., 2019) e na prevalência da doença respiratória em bezerros no período de aleitamento (Karle et al., 2019). Karle et al. (2019) observaram que bezerros nascidos em baias maternidade com acesso a pastagem ou baias que não possuíam nenhum tipo de telhado, apresentaram maior prevalência de doença respiratória antes da desmama. Em outro estudo, Svensson et al. (2003) relataram que bezerros nascidos em baias individuais tinham menor chance de doença respiratória do que os nascidos em baias de grupo.

4.1.3 Falha na transferência de imunidade passiva (FTIP)

O bezerro ao nascimento possui sistema imunológico imaturo e devido ao tipo de placenta da espécie, são agamaglobulinêmicos. Por isso, sua proteção imunológica inicial é altamente depende da transferência passiva via colostro, nas primeiras horas de vida, de imunoglobulinas maternas (IgA, IgM e IgG). Estas contribuem com a imunidade sistêmica e de mucosas, onde a IgA e a IgG1, impedem adesão de patógenos (Ackermann et al., 2010). Além disso, o colostro fornece fatores hormonais (fator de crescimento), citocinas (TNF, Interleucinas), fatores antigênicos (lactoferrina e lisozimas), leucócitos maternos e aporte nutricional (gordura, proteína e vitamina), que auxiliam no desenvolvimento do sistema imune, enfrentamento dos desafios imunológicos e adaptativos após o nascimento, evitando o adoecimento (Shivley et al., 2018).

Com isso, em uma fazenda este processo de colostragem deve ser sempre monitorado, para evitar falhas na transferência de imunidade passiva (FTIP). Nos Estados Unidos, um levantamento realizado pelo Sistema Nacional de Monitoramento de Saúde Animal (NHAMS), a FTIP, conceituada como concentrações séricas de IgG <10 g/L na primeira semana de vida do bezerro, foi observada em 19,2% dos bezerros no ano de 2007 e esse número reduziu para 12,1% em 2014 (Shivley *et al.*, 2018). No Brasil os estudos epidemiológicos são restritos, Machado Neto *et al.* (2004) ao avaliar 211 rebanhos na região centro sul de Minas Gerais, observou que 40% das fazendas não controlavam a ingestão de colostro pelo bezerro e isso foi correlacionado a maior taxa de mortalidade.

A FTIP em bezerros, por falta de monitoramento do tempo de fornecimento do colostro, da quantidade fornecida, da sua concentração de IgG, da falta de tratamento térmico e da qualidade microbiológica, foram associadas a maior morbidade, mortalidade e agravamento das doenças nos primeiros meses de vida, e em muitos casos foram diretamente relacionados a doença respiratória (Donovan *et al.*, 1998; Karle *et al.*, 2019; Lorenz *et al.*, 2011; Stokka, 2010; Virtala *et al.*, 1996). Donovan *et al.* (1998) ao avaliar 3300 bezerras Holandês nascidas em duas grandes fazendas leiteiras da Flórida, observou que uma boa transferência de imunidade passiva, verificada indiretamente pela dosagem de proteína sérica na primeira semana de vida, reduziu o adoecimento por doença respiratória até os 180 dias de vida. De forma semelhante, Virtala *et al.* (1999) encontraram que FTIP, identificada como menores concentrações sanguíneas de IgG nas duas primeiras semanas de vida, aumentou duas vezes a chance de um bezerro desenvolver pneumonia nos primeiros três meses de vida. Windeyer *et al.* (2014) acompanharam 2.874 bezerros de 19 fazendas leiteiras comerciais até os 3 meses de vida. Usando pontos de corte de proteína total sérica de 5,7 g/dL na primeira semana de vida, a incidência FTIP foi de 32% e essa representou aumento de 2x no risco para doença respiratória até semanas de idade. Pardon *et al.* (2015) observaram a importância das imunoglobulinas e da sua especificidade. Em um rebanho de criação de vitelos, bezerros com maior risco de doença respiratória apresentaram níveis de imunoglobulinas abaixo de 7,5 g/L (razão de risco (HR) = 1,9 (Intervalo de confiança de 95% (IC) = 1,2–3,0) e foram negativos na sorologia para Coronavírus (HR = 1,7 (IC 95% = 1,0–2,8)) ou BRSV (HR = 2,0 (IC 95% = 1,0–3,9)).

4.1.4 Doenças concomitantes

Em bezerros, é relatada a ocorrência de pneumonias bacterianas concomitantes ao período de diarreia (Curtis *et al.*, 1988; Panciera e Confer, 2010). No processo da diarreia, agentes

infecciosos promovem inflamação, lesão e hipersecreção intestinal que levam a perdas de eletrólitos, água e nutrientes pelas fezes (Naylor, 1999; Freitas, 2013). O processo inflamatório exige gasto energético para a produção de mediadores inflamatórios e ao mesmo tempo, a condição inflamatória pode promover depressão e redução de consumo de alimento (Borderas et al., 2008; Gorden e Plummer, 2010). No geral, o animal apresenta desequilíbrio eletrolítico, alterações no equilíbrio ácido-base e balanço energético negativo (Naylor, 1999; Freitas, 2013). A desidratação provoca aumento da viscosidade das secreções respiratórias e redução da camada líquida periciliar, o que dificulta o batimento ciliar e afeta o sistema de limpeza do trato respiratório (Alckermann et al., 2010). O funcionamento celular depende de energia e uma série de reações bioquímicas e enzimáticas que ocorrem dentro de uma faixa de pH ótima. Assim, todos fatores citados podem afetar negativamente inúmeras funções orgânicas (Carlson e Bruss, 2008) como o funcionamento de reações imunes e o próprio batimento ciliar do aparelho mucociliar do trato respiratório, predispondo a infecção respiratória.

A infecção umbilical, ou onfalite, é uma doença observada no primeiro mês de vida dos bezerros. Esta pode atingir os vasos umbilicais internos, os quais são colonizados por bactérias que podem passar para circulação, causar sepse, poliartrite e pneumonia (Virtala et al., 1996; Radostits et al., 2007; Mee, 2008). Andrade (2017) observou 10 bezerros com onfalite, em um grupo de 39 bezerros. Desses, dois foram a óbito com sintomatologia de sepse na primeira semana de vida e ambos foram positivos para doença pulmonar na ultrassonografia pulmonar, quatro foram tratados para pneumonia até a desmama, quatro tiveram poliartrite, dos quais dois foram a óbito por volta dos 30 dias de vida por pneumonia.

Outra doença importante em bovinos é a Anaplasmosose e a Babesiosose. Geralmente ocorrem em animais jovens, mas em áreas de instabilidade enzoótica, são observados surtos em animais adultos (Carvalho et al., 2012; Gonçalves, 2000; Kessler e Schenk, 1998). Ambas, provocam quadro de hemólise acentuado e como consequência os animais podem apresentar anemia, acidose metabólica, desidratação, intolerância ao exercício, icterícia, aumento da frequência cardíaca e respiratória (Coelho 2007; Melo, 2018). Com isso os animais ficam imunossuprimidos e ao mesmo tempo apresentam taquipneia, que aumenta a chance de exposição do sistema respiratório a agentes patogênicos.

4.1.5 Fatores de risco relacionados ao alojamento

Sobre criar bezerros dentro de galpões ou ao ar livre, geralmente é afirmado que o ambiente fechado do galpão impõe maior desafio para o sistema respiratório, devido a piora da qualidade do ar. Em uma revisão recente, elaborada por Ollivett (2020), foi encontrado apenas um trabalho, produzido nos últimos 40 anos, que comparou os dois sistemas de forma consistente. O resultado desse estudo indicou que bezerras alojadas dentro do galpão foram tratadas mais vezes para pneumonia. Contudo, nos dois sistemas a maioria dos bezerros receberam pelo menos um tratamento para pneumonia, mostrando que o real benefício de estar fora do ambiente do galpão foi pouco expressivo e precisa ser mais estudado.

Em relação ao alojamento individual ou coletivo, geralmente é relatado menos problemas respiratórios em sistemas de aleitamento individual ou com a formação de grupos menores. Buczinski et al. (2018a), em uma investigação realizada em 39 propriedades, verificaram maior prevalência de consolidações pulmonares ≥ 8 cm no exame ultrassonográfico de bezerros criados em grupo (vs. alojados individualmente). Em outro trabalho semelhante, utilizando como método de diagnóstico o Escore Respiratório da Califórnia (positivos com escores ≥ 5), em 100 propriedades leiteiras, Karle et al. (2019) verificaram menor prevalência de casos positivos ($6,79 \pm 0,69\%$) nos sistemas com criação individual em comparação de grupo ($15,17 \pm 1,97\%$, $P < 0,001$), principalmente quando esses foram maiores que 8 animais. Pardon et al. (2020) ao avaliar surtos de doença respiratória em um grupo de propriedades, observaram que o alojamento de bezerros com grupos maiores (> 5 animais/baia) significou maior prevalência de *M. haemolytica*. Estes trabalhos, associam essa maior ocorrência devido a facilidade de transmissão de patógenos entre os animais no alojamento em grupo.

Contudo, nem sempre essas diferenças são encontradas. Em um trabalho experimental, Jensen e Larsen (2014) distribuíram 110 bezerros, logo após o nascimento, em quatro formas de alojamento: individual sem e com contato, alojamento em pares e coletivo após duas semanas de vida. Não foi observado diferença na pontuação clínica para doença respiratória, determinada por um sistema de escore, ou na presença de anticorpos séricos contra Corona Vírus Bovino, Vírus Parainfluenza-3 (PI-3) e Vírus Sincicial Respiratório Bovino (BRSV). No oposto de muitos trabalhos, Babu et al. (2009) encontraram menor prevalência de doenças no alojamento em grupo, em comparação com aqueles criados individualmente. Esses trabalhos vêm de encontro com o interesse recente na criação de bezerros em grupo. Essas pesquisas, tem observado que o contato social das bezerras durante o período de aleitamento pode melhorar o

bem-estar, diminuir a reatividade a mudanças ambientais, acelerar o aprendizado, aumentar o consumo de concentrado e melhorar o ganho de peso. Esses benefícios se mantem na desmama, onde os bezerros sentem menos estresse durante o agrupamento, quando comparados a bezerros criados individualmente e isso pode significar melhor saúde (Costa et al., 2016; Liu et al., 2020).

De maneira geral, os locais onde as bezerras são alojadas no período de aleitamento devem ser limpos, secos, bem ventilados e garantir conforto térmico. Na literatura, alguns trabalhos avaliaram alguns fatores que alteraram essa condição. A construção de gaiolas ou “casinhas” paralelas sem uma divisão sólida entre os bezerros é associado ao aumento da doença respiratória (Karle et al., 2019; Lago et al., 2006). Os divisores sólidos reduzem a troca de patógenos transportados pelo ar e evitam o contato nariz a nariz entre bezerros, reduzindo potencialmente o risco de transmissão da doença respiratória. Isso, está relacionado ao fato de que durante uma infecção respiratória, a população de patógenos primários da doença respiratória aumentam nas secreções respiratórias. Por exemplo, em casos de pneumonia por *Mannheimia haemolytica* sorotipo A1, ocorre predomínio da eliminação dessa bactéria nas secreções nasais e essa pode ser facilmente transmitida para outro animal (Frank et al., 1994; Gaeta et al., 2017). Outra utilização dos painéis sólidos está na proteção do bezerro contra correntes de ar e o frio, contudo, quando maior for o número de painéis em torno da bezerra (paredes sólidas na parte de trás, na frente da gaiola ou tampas superiores), menor a ventilação e isso favorece o aumento de microrganismos e gases nocivos suspensos no ar, que favorecem o adoecimento (Lago et al., 2006; Lorenz et al., 2011).

Outra característica importante na criação individual é o espaço por animal. Foi observado, que espaços restritos (<1,8 m²/bezerro) aumentaram a chance do bezerro ser tratado para pneumonia (Calderón-amor e Gallo, 2020), enquanto que em espaços maiores (3,71 m²/bezerro), os bezerros mostraram melhora na imunidade pulmonar, com menor infiltração de eosinófilos e menor concentração de imunoglobulinas no lavado broncoalveolar (Calvo-Lorenzo et al., 2016). Esses efeitos benéficos, podem estar associados ao maior conforto, melhor possibilidade do animal exibir comportamento natural, maior atividade, redução nos comportamentos orais não nutritivos e maior circulação de ar (Calderón-amor e Gallo, 2020; Calvo-Lorenzo et al., 2016).

Sobre as características das estruturas onde são alojados os bezerros, Dubrovsky et al. (2019) verificaram que “casinhas” feitas de uma combinação de metal e madeira (um telhado de metal corrugado preso a paredes de madeira) foram associadas a risco 24% maior de doença

respiratória, quando comparada as feitas apenas de madeira ou plástico. A justificativa, foi que o telhado de metal é um melhor condutor de calor e isso favoreceu o estresse térmico durante os períodos de temperaturas mais elevadas. Em outro trabalho, realizado no verão de uma região subtropical, Peña et al. (2016) observaram que os bezerros criados em “casinhas” feitas de polietileno ao ar livre, apresentaram sinais de menor conforto térmico, com momentos de maiores frequências respiratórias e temperaturas retais. Quando comparados com os alojados em “casinhas” de telhado de madeira cercadas com arame, localizadas embaixo de árvores. Porém, nas “casinhas” de polietileno a presença de secreção nasal e tosse foram menos frequentes e o risco de ser tratado para doença respiratória foi 5x menor. Isso mostra, que outros fatores de risco e não estresse térmico, podem ser mais importantes para ocorrência da doença respiratória.

Em relação ao material da cama, utilizada em sistemas criação individual, Pardon et al. (2020) encontraram que o uso de serragem aumentou o risco *M. haemolytica* e *H. somni*, quando comparada a cama de palha. Possivelmente, o uso de serragem significou maior desafio com poeira, pelo frio quando molhada e facilitou o crescimento de bactérias gram-negativas. Em outro trabalho Lago et al. (2006), observaram, em um bezerreiro com ventilação natural e temperatura ambiente variando de -4,2 a 11,8⁰C, que escores de aninhamento (determinado através do quanto as patas do bezerro, quando deitado, eram encobertas pela cama) maiores eram associados a menor incidência de doença respiratória. A maior pontuação desse escore foi observada em camas de palha profundas e com partículas longas e os menores nas camas com serragem ou serragem e areia. Uma desvantagem observada dentro das baias com cama de palha, foi a maior contagem de bactérias no ar. Contudo, a capacidade de aninhamento da palha garantiu melhor conforto térmico do bezerro e isso foi mais importante para saúde respiratória. Assim, a cama para bezerros, na ocorrência de baixas temperaturas, devem ser secas, limpas, composta por um material de baixa densidade e profundas.

4.1.6 Ventilação

O fator ventilação, é sempre considerado no controle da doença respiratória. Quando realizada de forma eficaz, controla a temperatura ambiente, promove a renovação do ar, evita acúmulo excessivo de antígenos suspensos, excesso de umidade e gases nocivos (Callan e Garry, 2002; Kaufman et al., 2015; Lago et al., 2006; Pardon e Buczinski, 2020).

A presença de partículas sólidas suspensas no ar, provem aumento no tempo de sobrevivência e ajudam a transportar vírus e bactérias (Matkovic et al., 2006; Sobsey e Meschke, 2003). Em muitos casos, esses micro-organismos presentes no ar, não são agentes primários da doença respiratória e podem até estarem mortos. Contudo, possuem em sua estrutura uma série de antígenos (como endotoxinas, enzimas, glucanos) que podem causar lesões no epitélio respiratório (Wathes et al., 1984) e as próprias partículas, por exemplo, a poeira em suspensão, são agentes estressores para o trato respiratório, provocando alergias e hipersecreção, que afetam o funcionamento do aparelho mucociliar (Carpenter, 1989; MacVean et al., 1986; Pancieira et al., 2010). Lago et al. (2006) observaram que corredores de galpões ou baias com altas contagens bacterianas no ar, foram relacionadas a maior ocorrência de doença respiratória em bezerras leiteiras no período de aleitamento.

Dentre os gases nocivos para o sistema respiratório, o gás amônia é geralmente relatado. Por ser irritante para a mucosa respiratória, causar hipersecreção, comprometer a integridade do epitélio do trato respiratório e reduzir a depuração mucociliar (Griffin et al., 2010; Lorenz et al., 2011). Na literatura as recomendações sobre os parâmetros ideais para este gás são variadas. No Canadá, o Código Canadense de Prática para o Cuidado e Manuseio de Gado Leiteiro (National Farm Animal Council, 2009) recomenda que as concentrações de amônia devem ser menores que 17,5 mg/m³. Já as diretrizes do código de bem estar animal da Suécia determina concentrações inferiores a 10 mg/m³ em qualquer sistema de criação animal (Kaufman et al., 2015; Lundborg et al., 2005). Phillips et al. (2010), em um trabalho experimental, avaliaram os efeitos da permanência de novilhos de corte por 12 dias em um ambiente controlado com quatro concentrações de amônia (baixo <6, médio 11, moderado 23 e alto 34 mg/m³). Houve efeito proporcional da concentração de amônia na atividade de macrófagos no lavado broncoalveolar, principalmente em altas concentrações, indicando irritação e inflamação no tecido pulmonar. Outro efeito da amônia foi a irritação das vias aéreas, percebida pelo aumento do lacrimejamento, secreções nasais e tosse, particularmente nas concentrações de 34 mg/m³. Assim, esse trabalho mostra que as concentrações de amônia de 23 e 34 mg/m³ provocaram reação inflamatória pulmonar e são extremamente deletérias a saúde do sistema respiratório. Contudo, a partir de concentrações de 11 mg/m³ alguns animais já demonstravam sinais de irritação de mucosas.

Os valores específicos para bezerras leiteiras ainda não foram pesquisados. Ao usar como referência as concentrações discutidas anteriormente, deve ser considerado que bezerras em fase de aleitamento, geralmente ficam 24 horas no mesmo local, em área restrita e permanecem

a maior parte do tempo deitadas. Portanto, os valores de tolerância podem ser ainda mais baixos (Kaufman et al., 2015; Lundborg et al., 2005). Kaufman et al. (2015) verificaram em bezerreiros, valores variando de não detectável ao no máximo de 8,5 mg/m³ de gás amônia. As maiores concentrações foram associadas a piores escores de sujeira da cama, a temperatura e umidade ambiente elevadas. Em outro estudo Lundborg et al. (2005), verificaram maiores concentrações de amônia em baias de piso ripado, onde eram alojados os bezerros com idade próxima dos 90 dias. Assim, o produtor deve adotar medidas para evitar aumento nas concentrações de amônia, que estão relacionadas com má higiene e ventilação.

4.1.7 Sazonalidade

Sobre a estação do ano, geralmente os trabalhos apontam o inverno como o mais desafiador para doença respiratória. Buczinski et al. (2018a) observaram que bezerros de pequenas fazendas leiteiras da região de Quebec, no Canadá, apresentaram em média 8% de consolidações pulmonares, na avaliação ultrassonográfica, no verão e 15% no inverno, com uma razão de probabilidade de 2,6 vezes maiores no inverno. Em Minnesota, Estados Unidos, Godden et al. (2005) observaram maior chance de mortalidade por qualquer evento e morbidade para doença respiratória no período de inverno, tanto para bezerros alimentados com leite pasteurizado ou sucedâneo. Em outro trabalho com a identificação de patógenos, através do PCR do lavado bronquiolar, em 128 surtos de doença respiratória em fazendas de leite e corte na Bélgica, Pardon et al. (2020) observaram que a doença atingiu pico no inverno e foram causadas principalmente por agentes virais, com efeito sazonal para o BRSV {mais no inverno em comparação com o outono [OR = 10,3 (2,8–37,5)]. Essa maior ocorrência de doença respiratória no inverno pode estar relacionada a maior exposição a patógenos, pelo fechamento dos galpões e a piora da qualidade do ar, decorrente da redução da ventilação. Outro fato é o estresse pelo frio, momento que o organismo desvia a energia dietética para termorregulação e diminui sua disponibilidade para o sistema imunológico (Godden et al., 2005).

Contudo, nem sempre é no inverno que ocorre o maior número de casos de doença respiratória. No estudo de Maier et al. (2019a), envolvendo a análise de 4.000 bezerros em 100 fazendas da Califórnia, foi observado maiores chances de ocorrência durante o outono, quando comparado ao período de menor incidência que foi na primavera. Em outro estudo na Califórnia, realizado por Dubrovsky et al. (2019) em seis fazendas de tamanho variado, envolvendo 11.945 bezerros, foi verificado menor risco de doença respiratória durante o inverno e o outono, com maior risco significativo na primavera e no verão. Os autores argumentaram que essa contradição, com a

maioria dos trabalhos já publicados, pode estar relacionada ao maior empenho dos produtores da Califórnia, na adoção do controle da doença nos períodos de maior desafio. Outra possibilidade é que mudanças repentinas de temperatura e umidade, podem ser mais impactantes para o sistema imunológico do animal, do que níveis extremos constantes no qual o animal pode se adaptar.

Em fazendas leiteiras, na mesma região da Califórnia pesquisada no trabalho anterior, Louie et al. (2018) investigaram a associação da doença respiratória com a temperatura observada no macroambiente (um ponto de análise dentro do galpão de alojamento) e no microambiente (dentro de cada gaiola de alojamento dos bezerros), nos meses de verão. Os resultados mostraram associação positiva entre o registro de doença respiratória e a temperatura máxima diária (37,2°C), tanto no macroambiente e no microambiente. Contudo, a magnitude da associação no microambiente foi maior do que no macroambiente, sendo que para cada aumento de 1°C na temperatura, a chance de doença respiratória aumentou 20,3% e 12,1%, respectivamente. O estudo mostrou que o estresse calórico foi maior dentro da gaiola, com isso a avaliação dos microambientes deve ser considerada nos programas de controle da doença respiratória.

No estresse térmico pelo calor, o aumento da susceptibilidade a doença respiratória, está associado a elevação da concentração sérica de cortisol, a redução no consumo de alimento e o desvio de energia corpórea para debelar calor. Essas mudanças fisiológicas comprometem o funcionamento do sistema imunológico e o animal perde desempenho (Stull et al., 2008; Drackley, 2008; Holt, 2014). Então, durante todo o período do ano, os produtores devem adotar estratégias que proporcionem conforto térmico para os bezerros, que fica entre 15 e 25 °C no primeiro mês de vida (Davis e Drackley 1998) em uma humidade do ar entre 50 e 80% (Callan e Garry, 2002).

4.1.8 Transporte e desmama

O estresse é um distúrbio da homeostase do organismo. Muitos fatores de risco o provocam, com menos ou mais intensidade, e nesse período o organismo do animal ativa vários mecanismos fisiológicos para restabelecer sua homeostase e ao mesmo tempo está sujeito a imunossupressão (Hulbert e Moisés, 2016). O transporte é um fator de estresse, geralmente relatado em gado de corte e relacionado a doença respiratória (Earley et al., 2017). Os trabalhos na literatura avaliam a presença do estresse durante essa prática por dosagem de alguns

marcadores e geralmente são observadas concentrações aumentadas de catecolaminas, cortisol, neutrofilia, linfopenia e eosinofilia. A magnitude dessas alterações foi associada com o manejo pré-transporte, do carregamento, duração da viagem, descarregamento e condições de espera pós-transporte (Engen et al., 2018; Odore et al., 2004; Warriss et al., 1995). A intensidade da variação desses marcadores reflete a gravidade do estresse sofrido pelo animal, que é provocado pela privação de alimento, desidratação, lesão tecidual, inalação de fumaça, aglomeração de animais, exaustão física, estresse térmico e psicológico. Esse conjunto de alterações, é associado a imunossupressão e conseqüentemente a maior morbidade e mortalidade, que em muitos casos são decorrentes da doença respiratória. Em relação a idade, os efeitos do transporte podem ser ainda mais severos em bezerros, que possuem menor capacidade de termorregulação e desidratam mais facilmente, quando comparados aos animais adultos (Hulbert e Moisés, 2016).

Outro momento relacionado ao estresse é o desmame. Em rebanhos de corte, os bezerros geralmente permanecem com as vacas nas pastagens por cinco a nove meses de idade (Lorenz et al., 2011) e os bezerros leiteiros criados em aleitamento artificial, são desaleitados por volta de três meses de vida (Machado Neto et al., 2004). Nesse momento o estresse é relacionado ao não recebimento de leite, na retirada do bezerro da vaca e no alojamento em grupos ou em reagrupamentos. Além disso, os bezerros estão sujeitos a outros procedimentos estressantes, como: mudança de dieta (grama e leite para alimentos conservados, com ou sem concentrados; leite e concentrado para concentrado e volumoso conservado), mudança de ambiente, transporte, marcação e descorna (Coelho, 2005, 2016; Hulbert e Moisés, 2016). Todos são fatores que provocam liberação de mediadores hormonais do estresse, provocam imunossupressão e favorecem a ocorrência de doença respiratória (Callan e Garry, 2002; Coutinho, 2005). Com isso, práticas de desmame gradual, adaptar o animal a comer concentrado e volumoso no período de aleitamento, evitar realizar outro manejo estressante concomitante e não formar lotes muito grandes no pós-desmame, são relacionados com a redução na morbidade e mortalidade (Callan e Garry, 2002; Bach et al., 2011b; Lynch et al., 2011; Hulbert e Moisés, 2016).

4.1.9 Fatores de risco relacionado a dieta

Sobre a dieta líquida de bezerros, fatores como a utilização de leite de descarte, a não pasteurização do leite, o fornecimento de quantidades limitadas de energia e proteína, foram associadas a um maior risco de morbidade e mortalidade (Windeyer et al., 2014; Armengol e Fraile, 2016; Maier et al., 2019a). A utilização de leite com altas concentrações bacterianas,

geralmente associado ao uso de leite de descarte, é relacionada a doença respiratória, devido a maior exposição dos animais a patógenos, que podem, em alguns casos, ser agentes ligados a doença respiratória como, por exemplo, o *Mycoplasma* spp. e o BVD (Armengol e Fraile, 2016). O *Mycoplasma* spp. pode causar mastite, clínica e subclínica, nas vacas e ser eliminado no leite. Com isso, o patógeno, via leite de descarte, contamina e coloniza o trato respiratório de bezerras leiteiras, causando doença respiratória e otite. O manejo de pasteurização do leite, que reduz a carga microbiana e elimina potenciais patógenos causadores de doença respiratória, ou a utilização de leite de tanque, com baixas contagens bacterianas, tem sido associados a redução do risco de doença respiratória no período de aleitamento (Karle et al., 2019; Maier, et al., 2019).

Restringir a quantidade ou fornecer um alimento de pior qualidade também pode favorecer o adoecimento dos animais. Maier et al. (2019) realizaram um inquérito epidemiológico em 100 fazendas leiteiras na Califórnia, observaram que bezerras da raça Holandesa, alimentadas com 2,84 a 5,68 litros/dia de leite ou sucedâneo, tinham menor risco de doença respiratória, quando comparada as que recebiam menos de 2,84 litros/dia. Para bezerras Jersey, a redução do risco foi observada quando foram fornecidos volumes superiores a 5,68 litros/dia. Dubrovsky et al. (2019) em outro inquérito na Califórnia, avaliando seis propriedades, verificou que alimentar as bezerras, com idade inferior a 21 dias, com mais de 3,8 litros de leite diminuiu o risco de doença respiratória em 92%, quando comparado a volumes menores. Em outro trabalho, Godden et al. (2005) compararam o fornecimento de leite de descarte pasteurizado e um sucedâneo convencional. Os bezerros alimentados com sucedâneo convencional apresentaram maior chance de tratamento, morte e morbidade para doença respiratória e diarreia. Isso, foi associado a menor concentração de proteína e energia desse alimento. Outro fato relacionado pelos autores, foi que o leite possui, mesmo que em pequenas quantidades, imunoglobulinas (IgG, IgA e IgM), fatores antimicrobianos (leucócitos, citocinas, fatores de crescimento, hormônios, vitaminas, lactoferrina e lisozima) e um perfil mais adequado de ácidos graxos de cadeia longa, que podem favorecer o sistema imune do animal, principalmente nas primeiras semanas de vida.

Assim, é visto que alimentação inadequada, leva a imunossupressão, pois compromete o desenvolvimento e o funcionamento do sistema imunológico, e prejudica a resposta do organismo as doenças e ao estresse térmico (Godden et al., 2005; Dubrovsky et al., 2019; Maier et al., 2019).

4.2.1 Diagnóstico da doença respiratória

O termo Complexo da Doença Respiratória Bovina (CDRB) é utilizado para determinar as afecções do sistema respiratório dos bovinos. Essa definição é utilizada devido a sintomatologia inespecífica, casuística multifatorial e etiologia variada, que dificultam o diagnóstico específico e definitivo (Gonçalves et al., 2000; Radostits et al., 2007; McGavin et al., 2007; Cooper e Brodersen, 2010; Regev-Shoshani, 2014).

Os sinais clínicos da doença respiratória são variados, podendo ser desde alterações pouco evidentes e até o óbito. Os animais podem apresentar: dispneia, tosse, corrimento nasal e ocular, hipertermia, taquicardia, exacerbação e alteração dos ruídos respiratórios, depressão, inapetência e anorexia (Gonçalves et al., 2000; Radostits et al., 2007). Essa diversidade de sintomas é utilizada no campo para definir um caso que requer tratamento para doença respiratória e geralmente o diagnóstico é dado como pneumonia. Assim, não existe uma distinção clara entre doenças do trato respiratório superior e inferior, ou entre infecções virais e bacterianas, ou entre casos que requerem tratamento antimicrobiano ou não. Considerando a preocupação mundial para reduzir e racionalizar o uso de antimicrobianos, o diagnóstico mais acurado da doença respiratória precisa ser estudado, para não apenas classifica-la de forma genérica como um CDRB (Buczinski e Pardon, 2020).

Outra necessidade, principalmente nos casos de pneumonia, é a precocidade do diagnóstico. Quando realizado de forma tardia, o sucesso do tratamento de uma doença pulmonar é variável, pois no processo infeccioso crônico, ocorre deposição de exsudato, fibrina e redução do fluxo sanguíneo, que diminuem a ação do sistema imunológico, a difusão e a ação de antibióticos contra os patógenos envolvidos. Além disso, quando o processo não leva o animal ao óbito, pode resultar em fibrose, aderências e abscessos no tecido pulmonar, que impactam no desempenho do animal de forma permanente, afeta seu bem estar e a viabilidade econômica do sistema de produção (Griffin et al., 2010; Lorenz et al., 2011; McGuirk e Peek, 2014).

4.2.2 Escores Clínicos no diagnóstico das doenças respiratórias

O desenvolvimento de métodos de escores clínicos para o diagnóstico da doença respiratória, tem por objetivo ser utilizado por produtores e veterinários. Para isso, devem ser simples, sem a necessidade de equipamentos sofisticados e determinar a doença de forma precoce (McGuirk, 2008; Love et al., 2014; Ollivett, 2014). Esses sistemas, são baseados na atribuição de pontuações para sinais clínicos, de acordo com sua presença ou gravidade de manifestação, e o

somatório dessa pontuação indica a probabilidade do animal apresentar doença, quando essa supera um ponto de corte pré-determinado (Love et al., 2014; McGuirk e Peek, 2014).

O sistema mais relatado para diagnóstico de pneumonia em bezerras leiteiras é o Escore Respiratório de Wisconsin (Escore de WI), desenvolvido por pesquisadores da Universidade do Wisconsin, em Madison, Estados Unidos (McGuirk, 2008; Ollivett, 2014). Esse sistema atribui escores baseado na temperatura retal, secreção nasal, tosse, secreção ocular e posicionamento das orelhas. A graduação da pontuação para cada sintoma, varia de 0 (zero) a 3 (três), no qual: 0 (zero) é normal, 1 (um) representa alteração leve, 2 (dois) moderada e 3 (três) intensa. Os bezerros com pontuação total ≥ 5 (cinco) são considerados doentes. A validação desse sistema, no seu desenvolvimento, foi realizada através da correlação dos escores com o resultado da citologia e cultura do líquido broncoalveolar (McGuirk, 2008).

Alguns trabalhos testaram sua eficácia comparando-o a outros métodos de diagnóstico (Tabela 1). Buczinski et al. (2014) avaliaram 106 bezerros antes da desmama, de 13 fazendas no Canadá com histórico de doença respiratória e seis sem suspeita de problemas. O Escore de WI, apresentou sensibilidade de 55% e especificidade de 58% para detectar animais com pneumonia (escore ≥ 5 positivos), determinada através da observação de pelo menos uma consolidação > 1 cm no exame de ultrassonografia pulmonar. Em segundo trabalho Buczinski et al. (2015) utilizaram o mesmo critério de avaliação anterior, contudo realizaram análise estatística bayesiana para estimar a eficácia do Escore de WI em duas populações de bezerras, com alta prevalência de doença respiratória ($n=106$) e outra com prevalência média ($n=85$). Os resultados foram superiores ao trabalho anterior, principalmente para especificidade que foi de 74,1% e a sensibilidade foi de 64,2%. Nos dois trabalhos a ultrassonografia pulmonar foi utilizada como referência de diagnóstico da pneumonia. Porém, os autores argumentam que essa ferramenta indica a presença de uma alteração pulmonar, que pode ser vista independentemente da manifestação de sintomas clínicos e que não é possível, no momento da avaliação, diferenciar um processo infeccioso ativo de um em fase de reparação tecidual. Outro fato, nos dois estudos, a parte cranial do pulmão direito, geralmente envolvida na broncopneumonia, não foi avaliada na ultrassonografia e com isso podem ter ocorrido alguns casos falso negativos. Assim, as implicações inerentes a técnica escolhida como referência, a metodologia empregada nos trabalhos, podem ter influenciado na avaliação da eficácia do escore.

Outro método de escore proposto é o Escore Respiratório da Califórnia (Escore da CA) descrito por Love et al. (2014). A proposta dos autores, ao desenvolver esse método foi evitar os erros interpretativos de avaliação da gravidade do sinal clínico utilizado no Escore de WI. Assim, o sinal clínico é avaliado apenas como presente ou ausente e cada um possui um peso diferente na escala de pontuação. A presença de tosse recebe 2 (dois) pontos, a secreção nasal 4 (quatro) pontos, a secreção ocular 2 (dois) pontos, o posicionamento de orelha e cabeça 5 (cinco) pontos, a temperatura retal $>39,2^{\circ}\text{C}$ 2 (dois) pontos e o padrão respiratório anormal 2 (dois) pontos. Como no escore anterior, os bezerras são considerados positivos na pontuação ≥ 5 (cinco). Na sua validação, apresentou sensibilidade de 89,4% e especificidade de 90,8% para diagnosticar pneumonia em bezerras, determinadas através do PCR positivo para vírus respiratório, ou cultura positiva para bactérias respiratórias aeróbias e Escore de WI ≥ 5 , ou cultura positiva para *Mycoplasma bovis* e Escore de WI ≥ 5 (Love et al., 2014).

Apesar da diferença metodológica, os trabalhos mostram boa concordância entre o Escore da CA e o de WI. Aly et al. (2014) observaram coeficiente de concordância excelente, (*Kappa* de 0,85) na avaliação de 100 bezerras no período de aleitamento e Andrade (2017) observou concordância substancial (*Kappa* de 0,65) nas avaliações ($n=237$) realizadas em grupo de 39 bezerras Holandês em fase de aleitamento.

A eficácia desses dois escores, foi estudada durante a avaliação de um mesmo grupo de animais. No estudo de Love et al. (2015), a sensibilidade e a especificidade do Escore da CA foi de 46,8% e 91,2% e a do Escore de WI foi de 46,0% e 87,4%, respectivamente, no diagnóstico de pneumonia em bezerras antes da desmama, determinada através da ultrassonografia e/ou auscultação pulmonar ($n=221/536$). No trabalho de Andrade (2017) quando a ultrassonografia pulmonar foi utilizada como teste confirmatório, ambos os métodos de escore apresentaram sensibilidade de 33% e especificidade de 92 %. Quando foi utilizado a radiografia torácica, o Escore de WI apresentou 25% de sensibilidade e 94% de especificidade e o Escore da CA 18% e 90%, respectivamente. A maior especificidade do Escore de WI encontradas nos trabalhos, pode estar no emprego do critério de gravidade dos sintomas, o que pode reduzir os casos falso-positivos. Contudo, ambos os trabalhos utilizaram métodos de imagem, que independem de sinais clínicos para diagnosticar uma lesão pulmonar. Assim, a sensibilidade dos métodos de escore podem ser baixas em rebanhos com alta prevalência de animais subclínicos (Andrade, 2017).

Ambos Escores, de WI e da CA, requerem a manipulação dos animais durante sua utilização. Isso pode limitar o emprego em bezerros leiteiros desmamados, pois geralmente são criados em grupos e soltos em baias ou piquetes. Com o intuito de sanar esse problema, recentemente Maier et al. (2019b) propuseram um novo modelo de escore. No estudo foram utilizados dados de campo de 689 bezerros alojados em currais coletivos em cinco fazendas na Califórnia. Os sinais clínicos foram registrados para todos os bezerros e a doença respiratória foi confirmada na presença de alteração na ausculta e ultrassonografia pulmonar. O melhor modelo apresentado no estudo foi a presença de tosse (2 pontos), respiração anormal (1 ponto), baixa condição corporal (5 pontos), olhos fundos (4 pontos) e flutuação da temperatura ambiente superior a 15°C por 24 horas (1 ponto). Considerando o animal positivo com pontuação ≥ 2 (dois), com sensibilidade de 77 % e especificidade de 61,9%. Adicionando temperatura retal $\geq 39,2^\circ\text{C}$ como segundo teste, na definição do caso positivo, a sensibilidade reduziu para 64,8% e a especificidade aumentou para 76,7%. Esse sistema de pontuação foi o primeiro desenvolvido para bezerras leiteiras desmamadas e o uso do parâmetro de temperatura ambiente pode ampliar sua utilização em diferentes locais.

Tabela 1: Sensibilidade e Especificidade dos Escores de Wisconsin e da Califórnia, de acordo com a referência para diagnóstico de pneumonia, em diferentes estudos realizados em bezerros no período de aleitamento

Escore	Se. (%)	Es. (%)	Método diagnóstico de referência	Autor
Escore de WI	55	58	Ultrassonografia pulmonar	(Buczinski et al. 2014)
Escore de WI	64,2	74,1	Análise Bayesiana (Escore de WI e Ultrassonografia)	(Buczinski et al. 2015)
Escore de WI	46,8	91,2	Ultrassonografia e/ou Auscultação pulmonar	(Love et al., 2015)
Escore da CA	46	87,4	Ultrassonografia e/ou Auscultação pulmonar	(Love et al., 2015)
Escore de WI	33	92	Ultrassonografia pulmonar	(Andrade, 2017)
Escore da CA	33	92	Ultrassonografia pulmonar	(Andrade, 2017)
Escore de WI	25	94	Radiografia Torácica	(Andrade, 2017)
Escore da CA	18	90	Radiografia Torácica	(Andrade, 2017)

Se. Sensibilidade; Es. Especificidade

4.2.3 Auscultação Pulmonar

O método de auscultação do sistema respiratório, é baseado na identificação e interpretação das alterações do padrão sonoro fisiológico das vias aéreas, que permite inferir sobre qual ou quais processos patológicos estão envolvidos (Gonçalves et al., 2001). Os sons auscultados e geralmente atribuídos como alterações são: aumento patológico dos ruídos respiratórios,

redução patológica do ruído respiratório, crepitações, sibilos e o roçar respiratório (Dirksen et al., 1993; Gonçalves et al., 2001; Gonçalves, 2004; Gonçalves, 2009).

A frequência e a percepção da alteração dos ruídos respiratórios em animais com pneumonia são variáveis entre os trabalhos. Gonçalves et al. (2000), avaliaram 133 casos de bezerros com broncopneumonia e os principais estertores auscultados foram o aumento patológico dos ruídos respiratórios, a crepitação e o sibilo. Em vacas com pneumonia Flöck (2004) observou como mais frequente as crepitações e depois o aumento patológico do ruído respiratório, sons de respiração áspera, sibilo e redução dos ruídos. Além disso, em alguns animais, a combinação de ruídos foi observada.

A percepção desses ruídos respiratórios pode mudar de acordo como local de auscultação, a gravidade e cronicidade das lesões pulmonares. Após indução de pneumonia em bezerros, por inoculação intratraqueal de *Mannheimia haemolytica*, Coutinho (2004) observou que com o passar do tempo de infecção os sons laringotraqueal, traqueobrônquico, ruídos adventícios traqueais, crepitação pulmonar e o sibilo ficaram mais intensos. Os sons traqueobrônquicos foram relativamente menos intensos, nas extremidades dos campos cranioventrais dos pulmões, devido a grave lesão de consolidação pulmonar. Em vacas com pneumonia supurativa crônica, Scott, (2013) teve dificuldade em diferenciar a maior audibilidade do ruído respiratório com o ruído respiratório normal. Os sons de sibilos foram percebidos em todo o campo pulmonar e em áreas não restritas às áreas de lesão pulmonar, identificadas na ultrassonografia. Outro fato observado foi que a cronicidade da pneumonia comprometeu a aeração pulmonar e isso impediu a percepção da crepitação no pulmão de alguns animais, mesmo na presença de secreção purulenta observada durante a necropsia. Nesses casos, baixo ruído respiratório foi auscultado, principalmente na região crânio-ventral do pulmão.

A variação dos sons auscultados de acordo com as características da lesão pulmonar e o caráter interpretativo do método, torna sua acurácia variável e dependente da experiência do operador. No trabalho de Pardon et al. (2019), 49 veterinários auscultaram de oito a 10 bezerras e julgaram se essas deveriam ser ou não tratadas para pneumonia. Suas decisões foram comparadas com o diagnóstico de pneumonia através a ultrassonografia pulmonar. Dos participantes, 8,2 % acertaram todos os casos positivos, 16,3% acertaram todos os casos negativos e apenas 4,0 % foram perfeitos no diagnóstico. A análise de concordância entre os avaliadores foi muito baixa, apenas de 0,18 (intervalo de confiança de 95 por cento: -0,01 a 0,38 *Kappa*).

A eficácia da auscultação pulmonar foi avaliada em alguns trabalhos (Tabela 2). Andrade (2017) observou baixa concordância da auscultação, considerada positiva na presença de qualquer alteração no ruído pulmonar, com a radiografia (*kappa* 0,28) e a ultrassonografia torácica (*Kappa* 0,27), no diagnóstico da pneumonia em bezerros [Holandês antes da desmama. Na análise de eficiência, a auscultação foi muito eficaz em identificar os animais realmente negativos, especificidade de 96 e 94%, e muito pouco eficaz em identificar um animal doente, sensibilidade de 27% e 30%, quando comparada a radiografia e ultrassonografia, respectivamente. Em outro trabalho, Buczinski, et al (2014), consideraram a auscultação positiva apenas a presença de crepitação, sibilo e/ou ausência do ruído respiratório, observaram sensibilidade de apenas 5,6% e especificidade semelhante ao trabalho anterior de 94%, quando comparada a ultrassonografia pulmonar.

Em análise estatística bayesiana, realizada por Buczinski et al., (2016), a auscultação apresentou sensibilidade de 72,9 % e especificidade de 53,3%, quando foi comparada a presença de uma consolidação pulmonar ≥ 1 cm. Pardon et al., (2019) usando a mesma técnica ultrassonografia, porém com resultado da auscultação de bezerros realizada por 46 veterinários, verificaram eficácia similar, com sensibilidade de 63% e a especificidade de 46%.

A eficácia variada da auscultação entre os trabalhos pode estar relacionada há fatores inerentes a própria técnica e a utilizada como referência para comparação. Em relação a auscultação deve ser considerado a experiência do examinador, quais sons foram considerados como alteração no estudo (Buczinski et al., 2014; Buczinski et al., 2016; Andrade 2017; Pardon et al., 2019; Buczinski et al., 2020) e o fato que esses podem variar dependendo do estágio, agudo ou crônico, e da severidade da doença pulmonar (Flöck, 2004a; Gonçalves et al., 2000, 2001; Scott, 2013). Como diagnóstico definitivo, nos trabalhos que avaliaram a eficácia da auscultação, geralmente foi utilizada a consolidação pulmonar identificada no exame de ultrassonografia, uma alteração que representa uma área não aerada no pulmão e por isso nem sempre é identificada na auscultação. Além disso, essa alteração pode não significar um processo infeccioso ativo e com isso, não há secreções ou inflamação nas vias aéreas para alterarem a passagem do ar. Outra característica é que, em alguns casos, a auscultação pode ser mais eficiente em identificar processos infecciosos mais internos e precoce da pneumonia comparada a presença da consolidação pulmonar na ultrassonografia, que somente é identificada quando localizada na porção mais externa do pulmão (Buczinski et al., 2014; Buczinski et al., 2016; Andrade, 2017; Plessers et al., 2015; Rabeling et al., 1998).

Tabela 2: Sensibilidade e Especificidade da Auscultação Pulmonar, de acordo com método de referência para diagnóstico de pneumonia, em diferentes estudos realizados em bezerros no período de aleitamento

Se. (%)	Es. (%)	Método diagnóstico de referência	Autores
5,6	94	Ultrassonografia	(Buczinski et al., 2014)
72,9	53,3	Análise bayesiana (Ausculta e Ultrassonografia pulmonar)	(Buczinski et al., 2016)
27	96	Radiografia Torácica	(Andrade, 2017)
30	94	Ultrassonografia pulmonar	(Andrade, 2017)
63	46	Ultrassonografia pulmonar	(Pardon et al., 2019)

Se. Sensibilidade; Es. Especificidade

4.2.4 Ultrassonografia Pulmonar

A maior aplicabilidade da ultrassonografia na bovinocultura é no diagnóstico reprodutivo. Contudo, a sua utilização na avaliação do sistema respiratório tem aumentado nos últimos anos (Rabeling et al., 1998; Streeter e Step, 2007; Ollivetti, 2014; Adams e Buczinski, 2016; Ollivett e Buczinski, 2016) .

A avaliação do pulmão à ultrassonografia é feita nos espaços intercostais. Na imagem de um pulmão saudável, as pleuras possuem interface com o pulmão aerado e aparecem como uma faixa continua brilhante (Flock, 2004; Jung e Bostedt, 2004). Logo abaixo, forma-se o artefato de reverberação, uma série de linhas horizontais, chamadas de “Linhas A”, paralelas, curvilíneas dispostas em intervalos regulares que se atenuam gradualmente (Tidwell, 1998; Flock, 2004; Larson, 2009; Dexheimer Neto et al., 2012; Masseli, et al., 2013; Scott, 2013; Drost, 2013).

Outro artefato presente no pulmão são as “caudas de cometa” ou linhas B. São caracterizadas por um feixe estreito de linhas hiperecogênicas muito próximas, que começam da superfície da pleura e movimentam em sincronia com o movimento respiratório (Tidwell, 1998; Blond e Buckzinsk, 2009; Dexheimer Neto et al., 2012) e são formados devido a presença de bolhas de gás, líquido dentro do alvéolo próximo a pleura ou no edema intersticial (Tidwell, 1998). Geralmente estão presentes em animais saudáveis, principalmente na porção crânio ventral do pulmão. Porém, é relatada que a presença de múltiplas caudas de cometa indica edema intersticial, que podem ser vistos na broncopneumonia inicial ou em casos de sepse (Ollivett e Buczinski, 2016; Pardon e Buczinski, 2020)

Assim, um pulmão sem alterações à ultrassonografia deve apresentar pleuras hiperecoicas, contínuas, sem irregularidades, com movimento em conjunto com a respiração e, em seguida, a reverberação, com presença de Linhas A distribuídas uniformemente (Flock, 2004; Masseli et al., 2013). As alterações patológicas no pulmão mudam esse aspecto, quando estão em contato com a pleura e não sobrepostas por uma área pulmonar aerada. As principais alterações que sugerem a presença de doença são as efusões pleurais, irregularidade pleural, consolidação pulmonar e o pneumotórax (Rabeling et al., 1998; Tidwell, 1998; Jung e Bostedt, 2004; Flock, 2004; Blond e Buckzinsk, 2009).

A consolidação pulmonar é o achado mais comum e associado a lesão pulmonar. Durante o processo inflamatório os alvéolos e os brônquios são preenchidos por conteúdo inflamatório e passam a apresentar no exame ultrassonográfico uma característica anecoica. E sua característica, localização e tamanho são utilizados no diagnóstico e prognóstico da pneumonia (Buczinski et al., 2015; Ollivett, 2014; Ollivett e Buczinski, 2016).

Em bovinos, a frequência e os transdutores utilizados na avaliação pulmonar geralmente variam de 3,5 a 7,5 MHz em transdutores setoriais (Rabeling et al., 1998; Abutarbush et al., 2012), 3,5 a 13 MHz para os lineares (Braun et al., 1997; Flock, 2004; Jung e Bostedt, 2004; Ollivett, 2014; Francoz et al., 2015) e 5 MHz nos convexos (Jung e Bostedt, 2004; Buczinski et al., 2014; Adams e Buczinski, 2016). A avaliação dos espaços intercostais durante os exames variaram do terceiro ao 11º ou 12º espaço (Reinhold et al., 2002; Jung e Bostedt, 2004; Buczinski et al., 2014; Adams e Buczinski, 2016), do quinto ao 12º (Babkine e Blond, 2009), do terceiro ao quinto (Abutarbush et al., 2012), do primeiro ao 12º (Ollivett, 2014), ou do quarto ao oitavo espaço intercostal (Francoz et al., 2015). Para o contato entre a pele e o transdutor é utilizado álcool ou gel para ultrassonografia, sem ou após tricotomia da região (Rabeling et al., 1998; Braun et al., 1996; Flock, 2004; Abutarbush et al., 2012, Ollivett, 2014). Segundo Ollivett (2014) o uso de transdutores lineares transretal permite a avaliação dos primeiros espaços intercostais e isso pode aumentar a sensibilidade do diagnóstico, pois a maioria das infecções pulmonares ocorrem por via aerógena e os primeiros lobos afetados são os craniais, principalmente a porção cranial do lobo cranial direito.

A partir da década de 90, os estudos se concentraram na avaliação da precisão da Ultrassonografia Pulmonar para identificar as lesões pulmonares associadas à pneumonia em bovinos (Tabela 3). Rabeling et al. (1998) avaliaram a precisão da ultrassonografia em detectar lesões pulmonares em bezerros da raça Holandês, com idade de 5 a 10 meses, em diferentes

estágios de broncopneumonia clínica, com um transdutor setorial 7,5MHz, avaliando do terceiro ao 11º espaço intercostal. Foram observados 85% de sensibilidade e 98% de especificidade, após a comparação dos resultados da ultrassonografia com o exame *post mortem*. Apenas um abscesso no interior do pulmão, um pneumotórax e um caso de pneumonia intersticial não foram diagnosticados. As limitações da ultrassonografia foram a presença de tecido pulmonar aerado e da costela sobre as lesões, contudo não afetaram significativamente a sua eficácia. Em outro estudo, Reinhold et al. (2002) utilizaram a mesma técnica ultrassonográfica descrita por Rabelling et al. (1998), para avaliar bezerros com pneumonia induzida por *Pasteurella Multocida*. Estes pesquisadores observaram que a sensibilidade da ultrassonografia para a detecção de lesões pulmonares foi maior que 80% quando relacionados aos achados *post mortem*. Os resultados falso-negativos foram atribuídos à falta do exame da região cranial do tórax e a sobreposição do tecido aerado em casos de broncopneumonia inicial e a pneumonia intersticial.

Diferente dos trabalhos anteriores, Ollivett et al. (2015), utilizando transdutor linear, avaliaram toda extensão dos lobos pulmonares craniais e caudais, do primeiro ao último espaço intercostal. Nesse caso, as lesões pulmonares foram identificadas em 24 bezerros classificados como portadores de pneumonia subclínica (negativos no Escore de WI e positivos na ultrassonografia) e comparadas ao exame *post mortem*. A ultrassonografia apresentou sensibilidade de 94% e especificidade de 100%. Apenas uma lesão na face dorso-medial do pulmão direito em um bezerro não foi detectada a ultrassonografia. Outro fato relatado, foi que quatro bezerros, de cinco gravemente afetados, teriam sido classificados incorretamente como saudáveis na ultrassonografia, se não tivesse sido realizada a avaliação do primeiro e do segundo espaço intercostal direito, porque as lesões pulmonares no exame *post mortem* eram restritas a essa região.

O teste da eficácia da ultrassonografia, quando realizada a campo, foi avaliado em dois trabalhos. Em análise bayesiana, Buczinski et al. (2015) estimaram a sensibilidade e especificidade da Ultrassonografia Pulmonar, em bezerros da raça Holandês oriundos de duas fazendas comerciais diferentes, nas quais uma apresentava alta prevalência de doença respiratória e a outra com baixa prevalência. Considerando os animais positivos para doença pulmonar, os que apresentaram uma consolidação >1cm na avaliação do terceiro ao 11º/12º espaço intercostal, a sensibilidade foi 79,4% e a especificidade foi 93,9%. Em outro trabalho, utilizando análise bayesiana, Berman et al. (2019) verificaram a eficácia da ultrassonografia para detectar um quadro de pneumonia ativa, determinada pela presença de consolidação

pulmonar e um Escore de WI positivo ou uma concentração sérica de Haptoglobina ≥ 15 mg/dL. O melhor resultado de eficácia foi relacionado a consolidação pulmonar ≥ 3 cm de profundidade, com sensibilidade de 89 % (95%: 0,55, 1,0) e a especificidade de 95% (95%: 0,92, 0,98). Outro achado foi que a avaliação da região cranial do pulmão, do terceiro ao primeiro espaço intercostal, não aumentou o desempenho da ultrassonografia. Assim, os autores recomendam a utilização do limiar encontrado e avaliação caudal do pulmão, do quarto ao 11º espaço intercostal, para detectar lesões ativas em rebanhos com baixa prevalência de pneumonia.

A sensibilidade e a especificidade da Ultrassonografia Pulmonar, podem variar entre os estudos de acordo com a técnica utilizada, com as alterações consideradas como patológicas e a porção pulmonar envolvida durante as avaliações. Outro fato que pode interferir é a prevalência de lesões iniciais ou lesões internas, onde a porção pulmonar em contato com a pleura permanece ventilada, impossibilitando sua identificação. Contudo, a Ultrassonografia Pulmonar é considerada um método não invasivo, capaz de identificar pequenas e grandes alterações patológicas, nem sempre diagnosticadas no exame físico. Além disso, traz informações valiosas sobre prognóstico e monitoramento do processo de recuperação da doença pulmonar. (Braun, et al., 1997; Rabeling et al., 1998; Reinhold et al., 2002; Flock, 2004; Scott, 2013; Gouda, 2015; Ollivett e Buczinski, 2016).

A interpretação dos resultados a ultrassonografia requer treinamento. Buczinski et al. (2018b) avaliaram a concordância na interpretação de 50 vídeos de exames ultrassonográficos, por seis profissionais com diferentes níveis de conhecimento sobre ultrassonografia, após receberem 30 min de treinamento básico em uma apresentação de slides. A concordância entre os avaliadores foi boa para presença de consolidação pulmonar, cauda de cometa e derrame pleural, mas foi leve a ruim para a detecção de irregularidade pleural e lesões cavitários. Para variáveis quantitativas (número máximo de caudas de cometa por quadro, profundidade máxima ou área de consolidação pulmonar, e profundidade máxima do derrame pleural) a concordância foi moderada.

Além do diagnóstico, a ultrassonografia traz outras informações para programas de monitoramento da doença respiratória. Ollivett e Buczinski (2016) classificaram o resultado do exame ultrassonográfico em escores, de acordo com a severidade da alteração, e o associaram ao Escore Clínico. O Escore Ultrassonográfico foi dividido em: Escore 0 (pulmão com reverberação e poucas caudas de cometa), Escore 1 (caudas de cometa frequentes), Escore 2 (consolidações lobulares), Escore 3 (um lobo pulmonar totalmente consolidado), Escore 4 (2

lobos consolidados) e no escore 5 (três ou mais lobos consolidados). Sendo o animal positivo com um Escore ≥ 2 . Quando associado ao Escore de WI a doença respiratória foi classificada como: doença do trato respiratório superior (casos positivos no Escore de WI e negativos na ultrassonografia), pneumonia clínica (positivos no Escore de WI e na Ultrassonografia) e pneumonia subclínica (negativos no Escore de WI e positivos na ultrassonografia). Com isso, foi possível dar o diagnóstico mais específico da doença respiratória e determinar a prevalência de cada uma no rebanho.

Tabela 3: Sensibilidade e Especificidade da Ultrassonografia pulmonar, de acordo com método diagnóstico de pneumonia utilizado como referência e a área pulmonar avaliada no exame ultrassonográfico, em diferentes estudos realizados em bezerros no período de aleitamento

Se. (%)	Es. (%)	Método diagnóstico de referência	Espaços intercostais avaliados	Autores
85	98	Necrópsia	Do terceiro ao 11º	(Rabelling et al., 1998)
94	100	Necrópsia	Do primeiro ao 11º	(Ollivett et al., 2015)
79,4	93,9	Análise Bayesiana (Ultrassonografia e Escore de WI)	Do terceiro ao 11º	(Buczinski et al., 2015)
52	94	Radiografia Torácica	Do Terceiro ao 11º	(Andrade, 2017)

Se. Sensibilidade; Es. Especificidade

4.2.5 Radiografia Torácica

A Radiografia Torácica, para diagnóstico de alterações pulmonares, apesar de muito utilizada na medicina humana e na clínica de pequenos animais, é menos aplicada a bovinos e equinos (Thrall, 2013). Isso em função do custo dos aparelhos, a necessidade de ter um equipamento portátil para levar ao campo e a massa corporal do animal, que dificulta o emprego da técnica (Verschooten et al., 1974; Thrall, 2013).

Na avaliação da imagem, os achados radiográficos pulmonares, geralmente são classificados em padrões (intersticial, alveolar e bronquial) (Franquet, 2001) e de acordo com sua distribuição em discreto ou disseminado (Lord, 1976).

O padrão alveolar é caracterizado por imagem pulmonar com manchas radiopacas localizadas ou homogeneamente distribuídas, formadas pela exclusão do ar (atelectasia) ou na consolidação pulmonar, quando o alvéolo ou pequenas vias aéreas periféricas são preenchidas por conteúdo inflamatório ou hemorrágico (Lord, 1976, Godoy et al., 2007). A consolidação pulmonar é o principal indicador radiográfico de pneumonia e pode envolver todo ou parte de um lobo. Quando grandes porções de um ou ambos os lobos pulmonares estão consolidados, a imagem se torna totalmente opaca, e as vezes parece que existem duas fronteiras do coração, uma ilusão chamada de sinal duplo do coração, um forte indicador de pneumonia. Outra característica radiográfica da consolidação severa é o broncograma aéreo, formado no contraste, preto sobre branco, entre os brônquios menores e os alvéolos consolidados (Farrow, 1999).

O padrão intersticial é caracterizado por um espessamento dos septos interalveolares. O parênquima pulmonar saudável é muito fino e o conteúdo do alvéolo é radiolucido devido a presença de ar. Contudo, no edema e/ou infiltrado celular intersticial, o parênquima pulmonar se torna espesso e apresenta característica linear ou reticular na imagem radiográfica (Farrow, 1999; Godoy et al., 2007). Nas infecções pulmonares experimentais com agentes virais esse padrão foi característico, porém, em infecções naturais, a lesão intersticial é pouco específica, devido à alta prevalência concomitante de infecções bacterianas (Farrow, 1999). No entanto, alguns autores consideram que esse padrão tem pouco valor diagnóstico para bovinos, pois esses animais possuem septos interalveolares e com isso um interstício naturalmente mais espesso e marcado na radiografia (Jackson e Cockcroft, 2002).

Pesquisas com avaliação da eficiência da radiografia torácica, na avaliação pulmonar de grandes animais são pouco frequentes. Masseur et al. (1998) compararam o resultado da radiografia torácica com o exame *post mortem* de bovinos com mais de 18 meses. A frequência da doença pulmonar na necrópsia foi de 86% e a radiografia apresentou sensibilidade de 94% e especificidade de 50%, com valor preditivo positivo e negativo de 92% e 57%, respectivamente. A sensibilidade para detecção de infiltrada alveolar foi de 60% e a especificidade de 88%. Para o padrão intersticial foi descrito 64% de sensibilidade e 74% de especificidade.

Os exames radiográficos mostram que frequentemente os bovinos se recuperam das lesões pulmonares e voltam a demonstrar pulmão normal. Contudo, exames seriados revelam que essa recuperação é gradual e pode perdurar por semanas. Assim, durante o acompanhamento da recuperação dos animais, os exames radiográficos não devem ser repetidos em intervalos muito

curtos (Farrow, 1999). Além disso, os sinais radiográficos podem persistir mesmo após o desaparecimento dos sinais clínicos (Radostits et al., 2007).

Algumas doenças respiratórias não apresentam lesões facilmente detectáveis ao exame radiográfico e pode haver falhas no diagnóstico (Radostits et al., 2007). Geralmente são difíceis de identificar as traqueites, bronquite, formas menos graves de alveolite, doença pulmonar obstrutiva crônica, pequenas hemorragias, aderências e pleurites. No derrame pleural a radiografia é pouco sensível, devido à grande quantidade de líquido necessária para promover alguma alteração na imagem (Masseau et al., 2008; Farrow, 1999).

Assim, a Radiografia Torácica pode auxiliar no reconhecimento de atelectasias, consolidação, infiltrado intersticial, pneumonia exsudativa, neoplasias, efusões pleurais, pneumotórax, hidropericárdio e tumores. (Radostits et al., 2007). Pode fornecer dados da localização e extensão da pneumonia, permitir a avaliação da evolução da pneumonia e auxilia no prognóstico (Farrow, 1999; Franquet, 2001; Godoy et al., 2007; Vervloet et al., 2010).

4.2.6 Métodos automáticos para diagnóstico e monitoramento da doença respiratória

A avaliação do ruído pulmonar por auscultação é amplamente utilizada no diagnóstico da pneumonia em bovinos. Porém, esse método é dependente da experiência do examinador e geralmente é de competência do médico veterinário. Para superar essas desvantagens, foi desenvolvido um Sistema de Ausculta Pulmonar Assistida por Computador (Mang et al., 2015; Zeineldin et al., 2016).

Esse sistema, consiste em colocar o diafragma de um estetoscópio eletrônico na altura do quinto espaço intercostal da parede torácica direita, aproximadamente 10 cm acima do cotovelo e registrar os sons pulmonares por 8 segundos. Posteriormente, o som registrado, através de um *software*, é comparado com um banco de dados de sons pulmonares de animais com pneumonia, diagnosticados por veterinários experientes, e o animal é classificado nos escores: 1 (um) normal, 2 (dois) agudo leve, 3 (três) agudo moderado, 4 (quatro) agudo grave e 5 (cinco) crônico. Sendo um grau ≥ 2 (dois) indicativo de tratamento para pneumonia (Mang et al., 2015; Zeineldin et al., 2016).

A eficácia diagnóstica desse aparelho foi investigada em dois trabalhos. Mang et al. (2015) observaram concordância substancial ($kappa = 0,77$) entre o resultado de ausculta de um veterinário experiente e o estetoscópio eletrônico (usando escore ≥ 2 como ponto de corte),

realizada em 35 novilhos identificados com sinais visuais de doença respiratória e 35 controles. A eficácia do sistema eletrônico foi de 92,9% (95% IC = 0,71–0,99) de sensibilidade e 89,6% (95% IC = 0,64–0,99) especificidade, em animais classificados na inspeção com e sem sintomas de pneumonia. Em outro trabalho Zeineldin et al. (2016) utilizaram a ultrassonografia pulmonar e o estetoscópio eletrônico em novilhos confinados, selecionados previamente com doença respiratória (n=24) e saudáveis (n=24), na inspeção visual. O estetoscópio eletrônico foi positivo em 21/24 dos classificados com doença respiratória e em 6/24 dos saudáveis. A ultrassonografia identificou consolidação em 17/24 dos com doença respiratória e em 3/24 saudáveis.

Um sintoma comum durante a doença respiratória é o aumento da temperatura corporal. Apesar de sua inespecificidade, essa pode ser utilizada para identificar animais suspeitos. O método mais usual de avaliação é a aferição da temperatura retal. Contudo, esse método se torna laborioso e estressante para os animais, devido a necessidade de ser realizado de forma frequente em um programa de monitoramento. Nesse contexto, algumas alternativas são estudadas para automatizar a aferição da temperatura corporal dos animais (Timsit et al., 2011; Schaefer et al., 2007, 2012).

A termografia infravermelha avalia o calor irradiado através da superfície corporal do animal. Durante um processo inflamatório, o animal apresenta aumento da temperatura, no local da infecção ou de forma sistêmica, e uma das formas de perder esse calor para manter sua temperatura corporal, dentro dos limites normais, é através da irradiação. Assim, o aumento da temperatura irradiada em locais específicos do corpo do animal podem ser utilizados para identificar problemas de saúde (Schaefer et al., 2007; Schaefer 2012).

Schaefer et al. (2007) avaliaram semanalmente um grupo de bezerros de corte desmamados por termografia de globo ocular, um modelo de escore clínico e temperatura retal. Não houve diferença estatística entre as técnicas utilizadas, todas foram igualmente eficazes, para identificar um animal com pneumonia. Contudo a termografia sugeriu que os animais estavam doentes quatro a seis dias antes da confirmação do diagnóstico, com 68 % de sensibilidade e 77% especificidade. Em outro trabalho Schaefer et al. (2012) montaram um sistema automatizado, para avaliar a temperatura infravermelha do globo ocular de bezerros de corte desmamados a cada vez que visitava ao bebedouro. O valor médio máximo de temperatura para um animal com doença respiratória foi de $35,44^{\circ}\text{C} \pm 0,58$ e para os saudáveis foi de $34,71^{\circ}\text{C} \pm 0,57$ ($P < 0,01$). Comparada ao resultado de animais avaliados em um método de Escore Clínico,

que envolvia a avaliação da temperatura retal e a contagem de leucócitos, a termografia infravermelha apresentou uma sensibilidade de 100% e uma especificidade de 87,2% no diagnóstico da pneumonia.

Outra forma para monitorar a variação da temperatura corporal é o emprego de um Bolus retículo-ruminal, que afere a temperatura dentro do órgão e transmite essa informação para um computador. Timsit et al. (2011) colocaram esse dispositivo em vinte e quatro touros na entrada do confinamento e monitoram esses animais por 40 dias. Assim que um episódio de hipertermia retículo-ruminal foi detectado pelo Bolus, era realizado um exame físico por um veterinário a cada 12–24 horas, até a temperatura voltar ao normal. A correlação entre a temperatura retal e do Bolus foi alta, de 0,91 ($r^2 = 0,82$), e em 73% (38/52) das vezes que o Bolus acusou um aumento de temperatura, a pneumonia foi diagnosticada pelo veterinário. O início dos sintomas, sempre ocorreu após o episódio de aumento de temperatura retículo-ruminal, com um intervalo de tempo de 12 a 136 horas. Assim, o sistema foi sensível para prever um quadro de doença respiratória, contudo foi necessário outro exame mais específico.

Recentemente, Mahendran et al. (2017) associaram o resultado de um medidor eletrônico de temperatura preso ao canal auditivo externo de bezerras e o tratamento da doença respiratória. O aparelho aferiu a temperatura dos animais a cada 15 minutos. Na detecção de hipertermia ($\geq 39,7^\circ\text{C}$), uma luz ficava acesa e piscando por um período de seis horas, para indicar que animal deveria ser avaliado, e depois ficava apagada até acusar um novo caso. Um total de 83 bezerros desenvolveram hipertermia e foram dados como positivos para doença respiratória, após exclusão de outras doenças. Esses animais, de forma aleatória, foram divididos em: Grupo 1, receberam anti-inflamatório não esteroide por três dias consecutivos, ou Grupo 2, tratamentos com antimicrobiano de longa ação. Se a hipertermia persistisse por mais 72 horas após o tratamento, o grupo 1 recebeu antimicrobiano e o grupo 2 recebeu anti-inflamatório. Os bezerros do grupo 1 foram cinco vezes mais propensos ($P = 0,002$) a um segundo tratamento. No entanto, 25,7 % desses animais apresentaram resolução da hipertermia sem precisar de um antimicrobiano. Isso sugere que o anti-inflamatório sozinho pode ser um tratamento de primeira linha útil na doença respiratória, diminuindo o uso de antimicrobiano, mas é preciso um bom monitoramento para identificar a necessidade de um tratamento adicional.

A tosse é outro sintoma indicativo de doença respiratória. Acredita-se que monitorá-la continuamente dentro de um bezerreiro, traz informações importantes sobre a ocorrência da doença respiratória. Com esse objetivo, Vandermeulen et al. (2020) desenvolveram um

aparelho para detecção de tosse e compararam seus registros com o tratamento da doença respiratória realizado no rebanho. O algoritmo de detecção de tosse alcançou em média 50,3% de sensibilidade e 99,2% de especificidade, com uma precisão de 87,5%. Mesmo com a baixa sensibilidade, nos cinco períodos detectados com aumento de tosse, vários bezerros foram tratados para doença respiratória. Isso indica que a detecção automática de tosse, pode ser um alerta precoce e ajudar o tratador a reconhecer animais em risco de desenvolver doença respiratória.

Mudanças no comportamento do animal também tem sido exploradas para a detecção da doença respiratória. Buhman et al. (2000) observaram através de um sistema automático de avaliação, que novilhos classificados com doença respiratória (suspeito na inspeção e positivos num escore clínico que envolveu exame físico, dosagem de leucócitos e haptoglobina) durante o período de confinamento, tiveram menores frequências e duração no tempo de alimentação e de ingestão de água, 11 a 27 dias após a chegada no confinamento e maior frequência de alimentação com 28 a 57 dias, comparado aos não doentes. Essa redução no início do confinamento foi associada ao adoecimento e aumento posterior com um ganho compensatório. Em outro trabalho realizado em confinamento, Wolfger et al. (2015) observaram relação apenas da redução da média de frequência e intervalo médio entre refeições, no aumento do risco de desenvolver doença respiratória, 7 dias antes da identificação visual.

Theurer et al. (2013) provocaram doença respiratória em um grupo de novilhas de corte com inoculação intratraqueal de *Mannheimia haemolytica* (n = 10). Esses animais foram monitorados durante nove dias por acelerômetros, pedômetros e dispositivos de localização. Quando comparado ao grupo controle (n=8), os animais doentes passaram menos tempo próximo ao cocho com concentrado no primeiro dia, menos tempo no alimentador de feno por dois dias e maior tempo deitado durante todo o período de avaliação.

4.2.7 Método de Swab nasal, swab nasofaríngeo, lavado intratraqueal e lavado broncoalveolar

A utilização do Swab Nasal é considerado de valor limitado no diagnóstico da doença respiratória, pois representa uma mostra predominante da região cutânea do nariz e por isso muito contaminada por microrganismos locais. No esfregaço Nasofaríngeo, a amostra é coletada de forma mais profunda, sobre o epitélio linfóide associado a mucosa da nasofaringe, com isso a contaminação é reduzida e a amostra é mais representativa. No entanto, a maioria

dos resultados ainda serão polimicrobianos (> 80%) e muitos serão positivos para bactérias consideradas patogênicas, que fazem parte da microbiota local, o que dificulta a interpretação diagnóstica desse teste (Pardon e Buczinski, 2020).

Comparando o *Swab* Nasal e o da Nasofaringe de bezerros saudáveis, Coutinho et al. (2009) verificaram amostras polimicrobianas nos dois locais, os agentes isolados estavam em proporções semelhantes, foi isolada uma pequena quantidade *P. multocida* e em 26% dos animais foi encontrado *M. haemolítica-A* na região da nasofaringe. Os mesmos animais receberam uma inoculação intratraquel com *M. haemolítica-A1* e desenvolveram doença respiratória clínica. No final do experimento, as amostras continuaram polimicrobianas, contudo apresentaram uma reduzida proporção de microrganismos. A *M. haemolítica* foi o microrganismo predominante, isolada em 26% das amostras da cavidade nasal e em 100% da região da nasofaringe, mostrando alta relação da infecção pulmonar com o trato respiratório superior. A região da nasofaringe foi a melhor escolha para identificação de infecção por *M. haemolítica*, porém como visto no início do estudo os bezerros podem ser portadores dessa bactéria.

Na busca por amostras menos contaminadas e de informações mais fidedignas sobre o patógeno causador da infecção pulmonar, foi desenvolvida a técnica de lavado intratraqueal. Essa técnica é baseada na perfuração da traqueia com agulha ou um cateter, após um preparo cirúrgico da pele, introdução de uma sonda na traqueia direcionada até a região dos brônquios, onde um fluido é estilado e em seguida aspirado. Assim, é adquirida uma amostra do conteúdo do trato respiratório inferior, sem contaminação nasal ou faríngea, e mais representativa do agente causador da pneumonia. No entanto, existem alguns contra-argumentos sobre o real benefício dessa técnica. Durante uma infecção no trato respiratório inferior o sistema mucociliar pode ser fortemente prejudicado e a aspiração da microbiota da nasofaringe para a traqueia pode contaminar o local de coleta. Em alguns casos pode ocorrer apenas uma traqueíte bacteriana, uma colonização insignificante ou uma contaminação da porção cranial da traqueia, resultando em um diagnóstico falso positivo de broncopneumonia infecciosa (Pardon e Buczinski, 2020).

Timsit et al. (2018) avaliaram a microbiota da nasofaringe e da traqueia em novilhos de confinamento saudáveis e com broncopneumonia, através de análise de DNA das amostras de *Swab* nasofaríngeo e lavado intratraqueal. A diversidade bacteriana foi mais baixa na nasofaringe e principalmente no lavado de novilhos com broncopneumonia, com o predomínio de *Mycoplasma bovis*, *Mannheimia haemolytica* e *Pasteurella multocida*. Em contraste, o

Mycoplasma dispar, *Lactococcus lactis* e *Lactobacillus casei*, estavam mais presentes no lavado de novilhos saudáveis. As bactérias *Corynebacterium*, *Jeotgalicoccus*, *Psychrobacter* e *Planomicrobium*, estavam presentes apenas na nasofaringe. Assim, os métodos foram eficazes para identificar os patógenos e as mudanças no microbioma durante a doença respiratória.

Outro método, de coletar informações do processo inflamatório no trato respiratório inferior, é o lavado intratraqueal broncobronquiolar. O procedimento é realizado com a introdução de um cateter ou um broncoscópio através da narina ou da cavidade oral, até a região dos brônquios principais. O uso do broncoscópio permite visualizar o local da coleta e escolher o pulmão afetado, que poderia ter sido diagnosticado anteriormente em algum exame de imagem. A sua desvantagem é o custo do aparelho e a necessidade de sedar o animal durante o exame (Ollivett, 2014). Já no uso de cateter, conduzido por sonda nasofaríngea ou oral, o procedimento é mais barato e requer apenas contenção física do animal. Como desvantagem é o acesso às cegas da região da coleta e maior risco de contaminação da amostra com bactérias do trato respiratório superior (Pardon e Buczinski, 2020).

A principal análise feita com a amostra coletada por esse método é a citologia. Animais saudáveis, apresentam maior proporção de macrófagos alveolares e menor de neutrófilos, na secreção bronquial. Durante a infecção bacteriana pulmonar e ocasionalmente na viral, ocorre migração de neutrófilos para o lúmen das vias aéreas, resultando em maiores proporções de neutrófilos e menores de macrófagos. Porém, o ponto de corte da proporção de neutrófilos considera como patológica pode variar de 4 a 40% (McGuirk, 2008; Ollivett, 2014).

Em bezerros com doença pulmonar subclínica (negativos no Escore de WI e positivos na ultrassonografia pulmonar) foram avaliados na citologia do lavado broncoalveolar com o uso de um broncoscópio. O diagnóstico definitivo para comparação foi a necropsia e a histologia. A proporção de neutrófilos no lavado broncoalveolar, observada como ponto de corte para doença respiratória foi de >4%. Comparada ao resultado *post mortem*, significou uma acurácia diagnóstica com alta sensibilidade 81% (95% CI, 56–94%) e especificidade 75% (95% CI, 36–95%) e significou aumento na chance de ocorrência da consolidação pulmonar (RR, 3.9; 95% CI, 1.13–13.45; P = .003) (Ollivett et al., 2015).

A utilização da amostra do lavado broncoalveolar para identificação de patógenos pode ser pouco eficiente, pelo risco de contaminação por bactérias do trato respiratório superior durante a passagem da sonda (Pardon e Buczinski, 2020). DriesscheVan et al. (2017) avaliaram o

resultado da cultura microbiológica do lavado broncobronquiolar por sonda e do swab nasofaríngeo, de animais com doença respiratória (positivos no Escore de WI e na ultrassonografia pulmonar) e de animais saudáveis (negativos e localizados em fazendas sem histórico de doença respiratória, para evitar a inclusão de animais subclínicos). O lavado broncobronquiolar resultou em amostras menos contaminadas, mais fáceis e possíveis de serem analisadas, em comparação com o *Swab* nasal (79,2% x 31,2% dos casos). Além disso, apresentaram uma proporção maior de resultados negativos em animais saudáveis e de cultura pura em animais doentes, indicando baixa proporção de amostras contaminadas. Os dois métodos apresentaram concordância moderada no isolamento de *M. haemolytica* *sl.*, *P. multocida*, *H. somni* e *M. bovis* e esses foram os patógenos mais isolados nos animais com doença respiratória. O *Swab* nasal falhou na identificação do *H. somni*, possivelmente devido seu crescimento ser inibido por outras bactérias, o que ocorreu com menos frequência no lavado, que apresentava amostras menos contaminadas. Assim, o lavado broncoalveolar com sonda pode ser a melhor escolha na coleta a campo para cultura, na investigação dos agentes causadores de pneumonia.

4.2.8 Necropsia e Histopatologia

A necropsia é um método primário na investigação e monitoramento das causas de morte em um rebanho. Quando aplicada na investigação do problema respiratório, se torna ainda mais importante devido as incertezas do diagnóstico *ante mortem*. Além disso, permite avaliar a presença e a gravidade das lesões pulmonares, a resposta ao tratamento, a ocorrência de falhas de diagnóstico e a coleta de material para identificar patógenos (Buczinski e Pardon, 2020). Contudo, essa prática é pouco empregada. Nos Estados Unidos, estima-se que 11% das fazendas leiteiras fazem necropsia de animais jovens e 22% de vacas, e no total apenas 4,6% dos animais mortos são necropsiados (USDA, 2018). No Brasil a frequência dessa prática nos sistemas de produção ainda não foi estudada. Nesse contexto, na maioria dos eventos de mortalidade, não é compreendido de forma clara a relação entre tratamento e doença, ou falhas de tratamento e imprecisões diagnóstica. Informações que são capazes de fornecer uma base para melhorar a compreensão da relação do manejo e da saúde animal, em uma fazenda (McConnel et al., 2019).

McConnel et al. (2019) avaliaram a precisão do diagnóstico em 90 bezerras leiteiras, comparando os registros de tratamento com os achados de necropsia e laboratoriais. A concordância entre a causa suspeita de morte, determinada pelo registro de tratamento e os achados de necropsia foi moderada ($\kappa = 0,22$; IC 95%: 0,15-0,28). Contudo quando foi

adicionado a análise dos resultados do diagnóstico laboratorial a concordância foi leve ($\kappa = 0,13$; IC 95%: 0,06-0,21). Por outro lado, houve concordância quase perfeita ($\kappa = 0,86$; IC 95%: 0,76-0,97) entre os achados de necropsia e o resultado laboratorial. As principais causas da falta de concordância do tratamento com os exames *post mortem* foi no diagnóstico genérico da doença e as vezes errônea. Por exemplo, animais que tinham apenas diagnóstico de diarreia apresentavam peritonite, enterite necrótica ou pneumonia, ou animais que tinham diagnóstico de diarreia e pneumonia, mas não tinham lesão pulmonar.

Em animais de confinamento a relação entre o diagnóstico *ante mortem* e o *post mortem* para doença respiratória pode ser ainda mais falho. Brscic et al. (2012) observaram em 154 fazendas de vitelos na Europa, que a prevalência de distúrbios respiratórios *in vivo* sempre foram inferiores a 7%, contudo no abate 13,9% dos pulmões mostraram sinais leves a moderados de pneumonia e 7,7% foram graves, e no total 21,4% tinham pleurite. Em sete estudos envolvidos em uma meta-análise realizada por Timsit et al. (2016), das lesões pulmonares identificadas no abate, a identificação como doente durante o período de confinamento variou de 3% a 56 %. Uma considerável heterogeneidade entre os estudos, o que reforça a necessidade do monitoramento *post mortem* e a melhora do diagnóstico da doença no período de confinamento.

As alterações macroscópicas, localização das lesões e as características histológicas do tecido pulmonar auxiliam no diagnóstico e podem sugerir os possíveis agentes etiológicos envolvidos nos quadros de pneumonia. As brocopneumonias, as mais comumente envolvidas nos casos de doença pulmonar, apresentam lesão exudativa na junção bronquíolo-alveolar, localizada principalmente na região pulmonar crânio-ventral. Microscopicamente apresentam grande quantidade de neutrófilos nos sítios de lesão. As infecções geralmente ocorrem por bactérias presentes nas vias respiratórias superiores, como a *M. haemolytica*, *H. somni* e *P. multocida*. As lesões por *M. haemolytica* são caracterizadas principalmente por deposição de fibrina. As lesões por *P. multocida* caracterizam-se por broncopneumonia supurativa e quando crônica os pulmões ficam mais consolidados e ocorre acúmulo pus e formação de abscessos (Panciera e Confer, 2010; Caswell et al., 2012).

Na pneumonia intersticial as lesões pulmonares são bilaterais e acometem principalmente as regiões caudo-dorsais do pulmão. Na necropsia, são vistos pulmões que falham em colapsar, superinflados, pesados, com quantidades variáveis de edema interlobular e enfisema. Na histopatologia é observado edema alveolar difuso, formação de membranas hialinas, com lesão de células endoteliais, proliferação de pneumócitos tipo II e fibrose alveolar. Os principais

agentes infecciosos envolvidos nesses casos são os vírus, e entre eles, o BRSV, o PI-3 e o BoHV-1 (Panciera e Confer, 2010; Assis Brasil et al., 2013).

Outras formas menos comuns de pneumonia são as aspirativas, tromboembólicas e a verminótica. A pneumonia aspirativa tem manifestação clínica dependente do material aspirado. Geralmente as lesões resultantes são unilaterais, necrosantes ou gangrenadas, localizadas na região crânio-ventral do pulmão, com odor pútrido e podendo conter frações do material aspirado. As causas mais comuns são a aspiração de conteúdo ruminal devido a distúrbios digestivos, fornecimento incorreto de leite em madeiras ou baldes para bezerros e erros em passagem de sondas esofágicas. A pneumonia tromboembólica, é caracterizada por múltiplos focos inflamatórios, distribuídos em todos os lobos pulmonares, provocados pela deposição de trombos sépticos oriundos de um processo infeccioso supurativo. Geralmente oriundos de uma infecção hepática, mastite ou tromboflebite. As primeiras lesões são pequenos focos de inflamação aguda e necrose, que podem progredir para tamanhos moderados com formação de abscessos. Os pulmões se tornam edematosos e enfisematosos. Os êmbolos infectados podem aderir nos ramos da artéria pulmonar, causar seu rompimento e como consequência grave hemorragia pulmonar (Panciera e Confer, 2010).

A pneumonia verminótica é provocada pelo *Dictyocaulus viviparus*. Durante o período pré-patente da doença, as larvas do parasita migram dentro do parênquima e provocam focos de pneumonia intersticial e bronquiolite eosinofílica, vistos como pequenas áreas multifocais de atelectasia lobular e edema pulmonar. No período patente, os vermes adultos se desenvolvem nos brônquios e induzem bronquiolite eosinofílica mucopurulenta, resultando em atelectasia e enfisema pulmonar. No exame macroscópico do pulmão, as lesões são bilaterais, na região caudo-dorsal, em forma de cunha, atelectásicas e as vezes associada a broncopneumonia bacteriana (Panciera e Confer, 2010). Em casos de infecção pelo parasita, o diagnóstico *in vivo* é realizado pelo método de *Baermann*, que permite identificar a presença das larvas do parasita nas fezes (Caswell et al., 2012).

4.3 Perdas de desempenho relacionada a doença respiratória em bovinos

A doença respiratória em bovinos provoca alto impacto econômico nos sistemas de produção. Os custos incluem despesas de tratamento, mão de obra, perdas de animais, compra de animais para reposição e perdas de desempenho (Adams, E A e Buczinski, 2016; Dunn et al., 2018; Gorden e Plummer, 2010; Teixeira, McArt e Bicalho, 2017). Nos Estados Unidos estima-se que

os custos do CDRB variam de 10 a 16 dólares por bezerro (Gorden e Plummer, 2010). Contudo, as estimativas de perdas econômicas na maioria das vezes são subestimadas, devido à dificuldade em mensurar de forma fidedigna a perda de produção do animal. Em rebanhos leiteiros algumas pesquisas foram desenvolvidas para elucidar qual seria e a intensidade dessas perdas (Tabela 4).

Análises considerando como diagnóstico da doença respiratória, os registros de tratamento realizados na fazenda, observaram impactos negativos na sobrevivência, no ganho de peso e na reprodução dos animais afetados. Waltner-Toews et al. (1986) observaram em um grupo de 804 bezerras, selecionadas de 34 fazendas, que os animais tratados para pneumonia, nos primeiros três meses de vida, tinham 2,5 vezes mais probabilidade de morrer antes do primeiro parto, quando comparada as não tratadas. Bach (2011a) ao analisar um banco de dados envolvendo 7.768 novilhas Holandês, identificou que quatro ou mais tratamentos para pneumonia antes do parto, aumentaram em $1,87 \pm 0,14$ vezes a chance desse animal não completar a primeira lactação. Além disso, os dias em lactação acumulado, em relação aos dias de vida, diminuíram linearmente, conforme o número de casos de doença respiratória. Em um estudo similar, Rossini et al. (2004) verificaram os registros de tratamento para doença respiratória no primeiro ano de vida de 2.556 bezerras e concluíram que múltiplos tratamentos para doença respiratória aumentaram 0,53 meses a idade ao primeiro parto e reduziram a probabilidade do animal permanecer no rebanho, em análises realizadas aos 305 e 730 dias de vida. Em outro trabalho com dados de 300 bezerras, Donovan et al. (1998) observaram que o número de dias tratados para pneumonia antes dos 6 meses, reduziram o ganho de peso médio diário aos 14 meses.

Em outros dois trabalhos de análise de desempenho, o diagnóstico foi realizado por profissionais treinados e obedeceram a parâmetros pré-estabelecidos na pesquisa. Provavelmente, isso reduziu o erro do diagnóstico. No trabalho de Virtala et al. (1996), 410 bezerras foram avaliadas por um clínico treinado, uma vez por semana, até os três meses de vida. A doença respiratória foi determinada através do exame físico, na presença de prostração, febre, tosse e estertor pulmonar. Os animais tratados para pneumonia, no final do período de três meses, apresentaram 3,8 kg de peso a menos que os não tratados ($P < 0,001$).

Em outro trabalho, Stanton et al. (2012) avaliaram um grupo de 1392 bezerras, entre 2 e 4 meses de vida, e o tratamento da doença respiratória (298/1392) foi associada a: redução no peso corporal em $7,1 \pm 0,6$, $11,4 \pm 1,4$, $15,4 \pm 1,8$ e $14,4 \pm 2,17$ kg aos 3, 6, 9 e 13 meses de vida ($P < 0,001$), respectivamente; redução na altura da cernelha, menos $1,7 \pm 0,4$ cm os 13 meses de

idade ($P < 0,001$); aumento em 3,4 (IC 95%: 2,2 a 5,2) vezes a chances de não sobreviver até o primeiro parto e em 1,5 (IC 95%: 1,1 a 2,2) vezes a chance de uma distocia leve no primeiro parto; reduziu em 0,6 (IC 95%: 0,4 a 0,8) vezes as chances de parto até os 25 meses ($P = 0,01$); a produção de leite na primeira pesagem tendeu a ser $1,1 \pm 0,6$ kg menor. Não foram observadas diferenças significativas na sobrevivência até os 120 dias de lactação. Os autores argumentaram que os efeitos da doença respiratória na distocia, produção de leite e sobrevivência no pós-parto, podem ter sido subestimados, porque os animais mais gravemente afetados morreram ou foram descartados antes da primeira lactação. Isso representa um viés de sobrevivência e é um desafio comum em estudos que avaliam doenças a longo prazo. Assim, os resultados deste estudo são provavelmente mais representativos de novilhas com doença respiratória leve a moderada.

Nos últimos anos, a ultrassonografia começou a ser estudada e empregada no diagnóstico da doença respiratória. Apesar de não ser um diagnóstico “padrão ouro”, apresenta melhor acurácia no diagnóstico da pneumonia clínica e subclínica, quando comparada a avaliação de parâmetros físicos. Com isso, provavelmente a sua utilização para determinar a relação da doença respiratória com o desempenho seja a mais precisa. Adams e Buczinski (2016) realizaram um único exame em bezerras Jersey ($n=250$), aos 3 meses de vida. A ultrassonografia torácica foi pontuada de acordo com as alterações em uma escala de 1 a 4 (1 saudável, 2 múltiplas caudas de cometa, 3 consolidações ≥ 1 e < 6 cm, 4 consolidações extensa ≥ 6 cm ou evidência de abscesso ou derrame pleural) e 59% das bezerras apresentaram alguma alteração pulmonar. Animais com pontuação 4 tiveram mais chance de morrer ou serem descartados [26% (intervalo de credibilidade de 95%: 13-47%)] do que bezerros com pontuação 1 [1% (0-6%)], 2 [3% (1-9%)], ou 3 [5% (1-17%)] ($p < 0,01$). Assim, verificaram uma relação entre a gravidade da lesão a ultrassonografia, em uma avaliação pontual, e a perda de desempenho futura. Contudo não foi observada diferença na idade ao primeiro parto.

Cramer e Olivett (2019), avaliaram 233 bezerros, duas vezes por semana, dos 20 aos 50 dias de vida, no Escore Ultrassonográfico proposto por Ollivett e Buczinski (2016) e no Escore de WI. Não foi observada associação do ganho de peso médio diário com o grau de alteração do Escore Ultrassonográfico. Com isso, em uma segunda análise a ultrassonografia foi dividida em 2 níveis, sem consolidação pulmonar ou com consolidação pulmonar maior que 1 cm^2 . Dessa forma, bezerros com consolidação pulmonar ($n = 169$) tiveram menor ganho de peso do que sem consolidação pulmonar ($n = 64$; 0,73 vs. 0,85 kg/dia, respectivamente) e o mesmo foi visto para animais positivos no Escore de WI ($n = 61$) comparados aos negativos ($n = 172$; 0,74 vs.

0,84 kg/dia, respectivamente). Como não houve associação entre os dois métodos, ambos foram necessários para explicar o menor ganho de peso. Diferente do trabalho anterior não foi observado uma associação de gravidade da lesão pulmonar, que seria observada como escores mais altos na ultrassonografia, e a perda de desempenho.

No trabalho de Teixeira et al. (2017), como no trabalho anterior, a pneumonia foi determinada pela presença de uma consolidação maior que 1cm². Contudo, foi realizada uma avaliação pontual aos 2 meses de vida em 613 bezerras Holandês. A lesão pulmonar representou um risco maior de morte [razão de risco (HR) = 4,7, IC 95% = 2,1 a 10,7; P <0,001] dos 350 dias de vida até o dia do parto, menor risco de prenhez (HR = 0,7, IC 95% = 0,6 a 0,8; P = 0,006) e maior idade ao primeiro parto. Na avaliação dos primeiros 90 dias de lactação, não foram observadas diferenças na ocorrência de doenças do pós-parto, sobrevivência, índices reprodutivos ou produção de leite.

Dunn et al. (2018) avaliaram bezerras Holandês durante as oito primeiras semanas de vida e observaram que 57% (123/215) apresentaram pelo menos um caso de consolidação pulmonar superior a > 3cm. Essa alteração, significou redução na produção de 525 kg (IC 95%: -993 a -60 kg; p= ,03) de leite na primeira lactação. Contudo, não observaram influência na chance de sobreviver ou de deixar o rebanho antes do final da primeira lactação e na idade ao primeiro parto. Sobre a produção de leite, o desenho desse estudo pode ter desempenhado um papel importante nos resultados. Diferente do estudo anterior, que foi realizado apenas uma medição pontual da consolidação no desmame, a avaliação semanal reduziu a chance de um animal ter tido uma consolidação anterior e ser considerado como saudável. Além disso todo o período de lactação foi avaliado. Outra razão atribuída, foi em relação ao baixo número de animais que deixou o rebanho e isso permitiu verificar a produção de animais com alterações leves e graves, sem viés de seleção, quando os animais com lesões mais graves morrem ou são descartados antes do término das análises.

Tabela 4: Efeito da doença respiratória sobre o desempenho de bovinos leiteiros observados em diferentes estudos, distribuídos de acordo com o método empregado para diagnóstico e período de avaliação

Definição de caso	Período de avaliação da doença respiratória	Efeito sobre o desempenho	Sem diferença	Autores
Registros de tratamentos	3 meses de vida	Maior risco de morrer até o primeiro parto		Waltner-Toews et al. (1986)
		Maior risco de morrer até o primeiro parto		
	Até o primeiro parto	Risco de não completar a primeira lactação		Bach (2011)
		Menor relação dias em lactação/dias de vida		
	Primeiro ano de vida	Aumento da idade ao primeiro parto	Produção de leite	
		Maior risco de não permanência no rebanho	Sobrevivência	Rossini et al. (2004)
			Prevalência de doenças na primeira lactação	
Critérios da pesquisa ou profissional treinado	6 meses de vida	Menor ganho de peso diário até os 24 meses		Donovan et al. (1998)
	3 meses de vida	Menor peso aos 3 meses de vida		Virtala et al. (1996),
		Menor peso e crescimento		
		Maior risco de morrer até o primeiro parto		
	Dos 2 aos 4 meses de vida	Maior chance de distocia	Sobrevivência durante a lactação	Stanton et al. (2012)
		Menor produção de leite		
		Maior idade ao primeiro parto		
Escore ultrassonográfico	Um exame aos 3 meses de vida	Menor risco de permanecer no rebanho	Idade ao primeiro parto	

		ou sobreviver até o primeiro ano de vida		Adams e Buczinski (2016)
		Maior risco de não sobreviver dos 350 dias de vida ao dia do parto	Produção de leite	
		Menor risco de prenhez	Doenças no pós-parto	
Consolidação pulmonar ≥ 1 cm	Um exame aos 2 meses de vida	Maior idade ao primeiro parto	Sobrevivência	Teixeira et al. (2017)
			Índices reprodutivos nos primeiros 90 dias de lactação	
		Menor produção de leite na primeira lactação	Idade ao primeiro parto	
Consolidação pulmonar ≥ 3 cm	Exames semanais até os 2 meses de vida		Sobrevivência ou descarte até o final da primeira lactação	Dunn et al. (2018)
Escore ultrassonográfico (Ollivett e Buczinski, 2016)	2x por semana, dos 20 aos 50 dias de vida		Ganho de peso até os 50 dias de vida	
Consolidação ≥ 1 cm ou Escore de WI		Menor ganho de peso até 50 dias de vida		Cramer e Olivett (2019)

5 MATERIAL E MÉTODOS

5.1 Local e Período

O presente estudo foi desenvolvido em uma fazenda de produção leiteira comercial, de sistema intensivo, localizada na região Centro-Oeste do Brasil, no período de março de 2019 a setembro de 2020. As atividades desenvolvidas estavam de acordo com o projeto submetido e aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS da Universidade Federal de Minas Gerais, sob protocolo nº 358/2019.

A propriedade possuía um rebanho bovino de predominância da raça Holandês, com aproximadamente 944 animais em lactação, com média de 60 partos mensais. As vacas eram criadas em sistema de confinamento do tipo *Free Stall* e o parto ocorria em baias maternidade, anexas ao galpão. Os partos eram monitorados durante o dia e a noite, a cama das baias era de feno de *Tifton*, as fezes e o feno molhado eram retirados diariamente e a cama totalmente trocada a cada 10 partos.

Na maternidade foi realizada a primeira cura de umbigo do bezerro e a vaca foi ordenhada em uma ordenhadeira mecânica de balde ao pé. Em seguida, o bezerro era levado para instalação do bezerreiro em um carrinho previamente higienizado. No bezerreiro, a colostragem foi realizada com o colostro da própria mãe, após avaliação do percentual de sólidos em um aparelho de refratômetro com escala *Brix*. Os requisitos mínimos para o fornecimento do colostro foi 24% de *Brix* e caso fosse encontrado valor inferior, foi realizado o adensamento com colostro em pó bovino¹. No caso de o volume produzido de colostro ser inferior ao mínimo preconizado, foi utilizado colostro descongelado, do banco de colostro, ou somente o colostro em pó. Assim, em média, 6L de colostro foram fornecidos, divididos em três refeições, a primeira em até duas horas e mais duas a cada duas horas, por mamadeira ou por meio de sonda oroesofágica. O leite de transição foi fornecido nas primeiras 72h de vida.

O sistema de criação no bezerreiro consistia em um galpão, aberto nas laterais e com ventilação natural. As bezerras foram alojadas individualmente, em gaiolas, dispostas em quatro fileiras paralelas, com área de 2m² por animal, com paredes feitas de tela que não permitia contato direto entre os animais, colocadas sob um sistema de *flushing* para remoção de dejetos, com camas de palha (trigo, aveia, *Tifton* ou milho) trocada a cada três dias. Os animais permaneceram nesse sistema até o fim do período de desmame. A dieta era fornecida de forma individual. O concentrado, composto basicamente por milho moído fino, farelo de soja e núcleo mineral, com 20% de Proteína Bruta, 20% de FDN, 48% de CNF e 80% de NDT, era fornecido à vontade. A água também era fornecida à vontade, em cochos com enchimento automático. A dieta líquida era composta por 6L de leite de descarte pasteurizado até 40 dias de vida, corrigida a matéria seca com sucedâneo para 13%, e posteriormente 6L de sucedâneo², diluídos para 13% de matéria seca. O desaleitamento, iniciou a partir de 60 dias de vida, quando o animal apresentou um peso mínimo de 80 kg, nas pesagens realizadas duas vezes por semana. A partir

¹ Colostro Bovino em Pó-Alta Genetics®

² Kalvolac Quick Nutrifed®

desse momento, foram fornecidos 3L de sucedâneo na parte da manhã por 15 dias. Posteriormente, o animal permaneceu, em média, por mais 10 dias no bezerreiro, até sua saída para o setor de recria.

A recria foi realizada em piquetes, com lotes que variavam de oito a 10 animais até os 150 dias de vida e posteriormente em lotes de 30 animais. A dieta na recria, dos três a oito meses de vida, foi fornecida no cocho, composta por silagem de milho e concentrado à base de casquinha de soja, milho moído fino, farelo de soja e núcleo mineral, na forma de dieta total, com 20% de PB, 32% de FDN, 37% de CNF e 75% de NDT. Dos oito aos 13 meses de vida, a dieta consistiu em silagem de milho, *Tifton* verde picado, milho moído fino, casquinha de soja, núcleo mineral e farelo de soja, em mistura total, com 16% de PB, 23% de FDN, 78% NDT e 32% de CNF.

5.2 Utilização dos animais e Coleta de Dados

O experimento teve início no dia 14 de março de 2019. Os bezerros selecionados para o estudo foram todas as fêmeas com idade inferior a 70 dias de vida e as nascidas até o dia 24 de abril de 2019. Com isso, 193 bezerras foram envolvidas no estudo e avaliadas para diagnóstico da doença respiratória até o dia 20 de julho de 2019, no Escore Respiratório de Wisconsin, Escore Respiratório da Califórnia e Ultrassonografia Pulmonar, na 1^a, 4^a, 6^a, 8^a, 10^a, 12^a, 16^a, 20^a e 24^a semana de vida. Na Tabela 5, está representado o número total de avaliações realizadas e quantas vezes cada subgrupo de bezerras foi avaliado, de acordo com início e término das suas avaliações durante o período. No total, foram realizadas 328 avaliações na fase de Bezerreiro Inicial (BI), da 1^a a 6^a semana de vida; 539 na de Bezerreiro Final (BF), da 8^a a 12^a; 887 no Bezerreiro Geral (BG) 1^a a 12^a; 291 na Recria (RC), da 16^a a 24^a e 1158 no Total de Avaliações (TA), 1^a a 24^a.

Tabela 5: Distribuição das avaliações de Ultrassonografia Pulmonar, Escore de WI e da CA, de acordo com o início e término das avaliações em um grupo de 193 bezerras Holandesas até a 24ª semana de vida, em uma fazenda de exploração leiteira intensiva localizada no Centro-Oeste do Brasil

Número de Bezerras	Semanas de vida								
	1ª	4ª	6ª	8ª	10ª	12ª	16ª	20ª	24ª
28	-	-	-	-	28	28	27	26	26
23	-	-	-	23	23	22	23	20	18
8	-	-	8	8	8	8	8	7	8
13	-	-	13	13	12	13	13	12	-
33	-	33	33	33	33	31	29	25	-
57	40	56	56	56	55	54	49	-	-
31	27	31	31	31	31	29	-	-	-
Total									
193	67	120	141	164	190	185	149	90	52
Total de avaliações por período									
BI	328								
BF				539					
BG				867					
RC							291		
TA				1158					

Colunas: número de coletas por semana de vida. Linhas: subgrupo de bezerras de acordo com a semana que iniciaram e terminaram suas avaliações. Avaliações por período: Bezerreiro Inicial (BI) da 1ª a 6ª semana de vida, Bezerreiro Final (BF) da 8ª a 12ª, Bezerreiro Geral (BG) da 1ª a 12ª, Recria (RC) da 16ª a 24ª e Total de Avaliações (TA) da 1ª a 24ª.

Além disso, foram coletadas informações sobre transferência de imunidade passiva, escore de fezes até os 20 dias de vida, ganho de peso, tratamentos para doenças realizados até a desmama, diagnóstico de tristeza parasitária até os oito meses de vida, mortes até os 19 meses de vida e número de inseminações necessárias para primeira concepção.

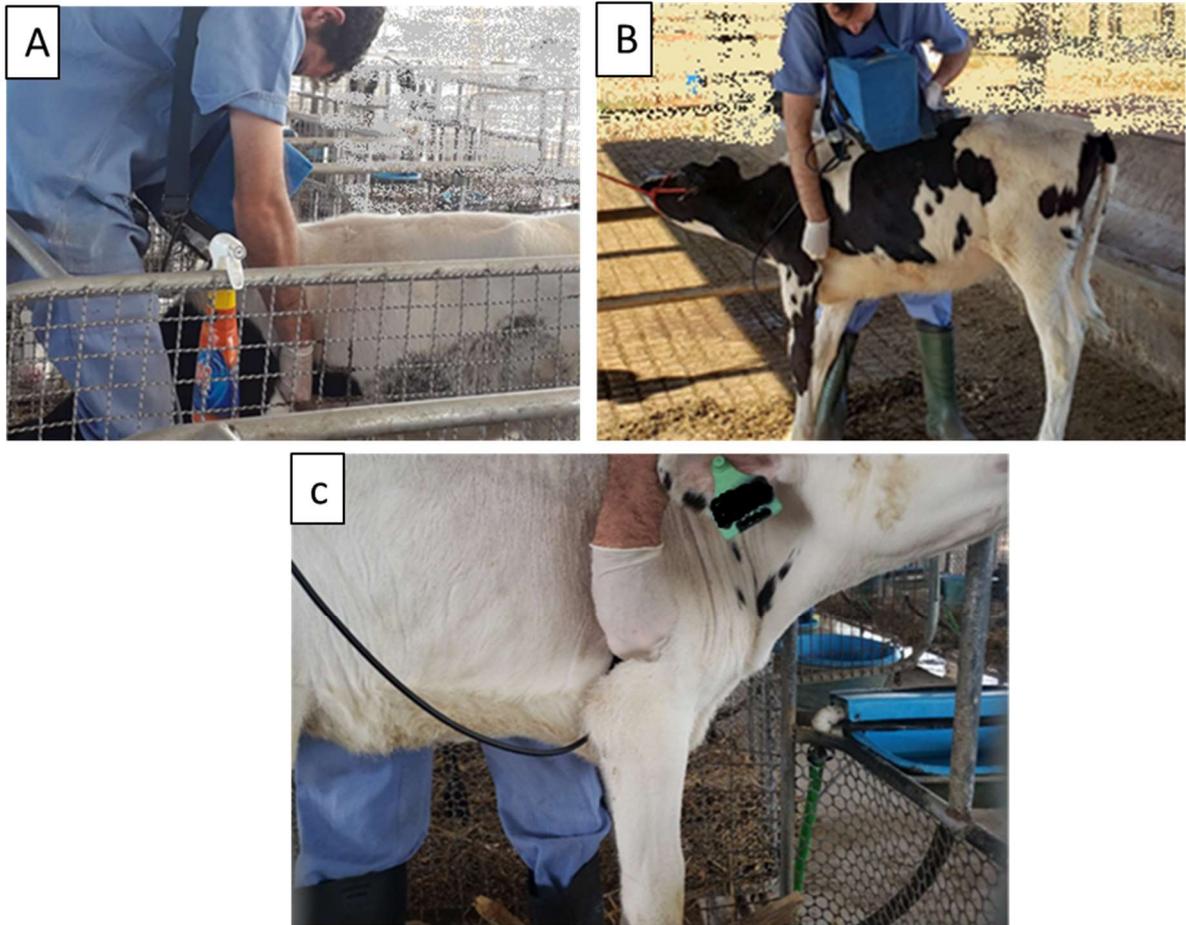
5.3 Descrição da coleta de dados:

5.3.1- Escores respiratórios e Ultrassonografia pulmonar

Os dois Escores Respiratórios empregados no estudo, foram realizados no mesmo momento, entre sete e oito horas da manhã. O Escore Respiratório de Wisconsin (escore de WI) foi realizado segundo McGuirk (2008) (Anexo 1). Assim, foi estabelecida uma pontuação para as alterações da temperatura retal, secreção nasal, tosse, secreção ocular e posicionamento das orelhas. Ambos, avaliados como 0 (zero) quando normal, 1 (um) para alteração leve, 2 (dois) para moderada e 3 (três) para intensa. Após o exame, os animais que obtiveram pontuação total ≥ 5 (nos parâmetros de secreção ocular e posicionamento de orelhas foi considerada a maior nota) foram considerados com doença respiratória, segundo Buczinski et al. (2015).

O Escore Respiratório da Califórnia (Escore da CA) foi realizado segundo Love et al. (2014) e uma nota foi atribuída para presença de tosse (apenas tosse espontânea 2 pontos), secreção nasal (qualquer, 4 pontos), secreção ocular (qualquer, 2 pontos), posicionamento de orelha e cabeça (inclinação da orelha ou inclinação da cabeça, 5 pontos), temperatura retal $>39,2^{\circ}\text{C}$ (2 pontos) e padrão respiratório anormal (2 pontos) (Anexo 2). Os bezerros foram considerados com doença respiratória com pontuação total ≥ 5 , segundo Love et al. (2014).

No exame de Ultrassonografia Pulmonar, os animais tiveram a região do tórax tricotomizada na primeira avaliação. A ultrassonografia foi realizada do primeiro ao 10^o espaço intercostal direito e do segundo ao 10^o espaço intercostal esquerdo, segundo Olivett e Buczinski (2016). O ultrassom utilizado foi o modelo Kaixin KX 5100, com transdutor linear transretal na frequência de 6,5 MHz, com profundidade de imagem de 10 cm, em *B-mode* e álcool 70% como condutor (Figura 1).



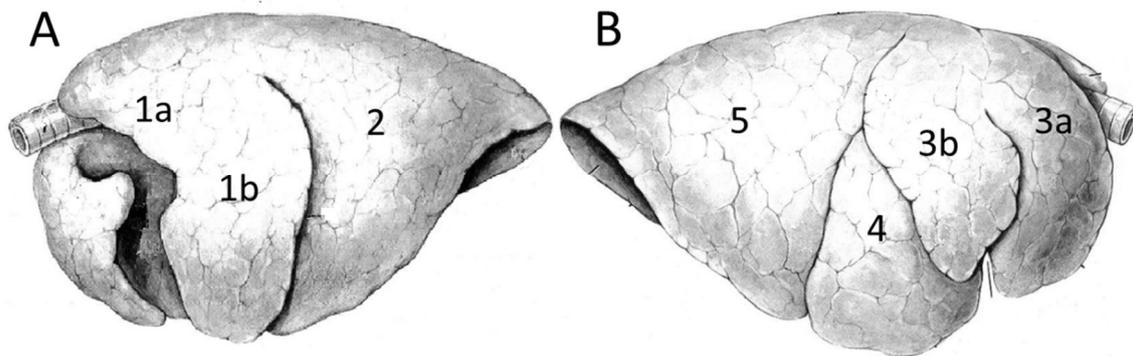
(Arquivo pessoal)

Figura 1: Exame ultrassonográfico do pulmão de bezerras Holandês na fase de aleitamento e recria. A: Exame ultrassonográfico de uma bezerra na fase de aleitamento. B: Exame ultrassonográfico de uma bezerra na fase de recria C: Posicionamento da probe linear transretal abaixo do membro torácico direito de uma bezerra para acessar o primeiro e segundo espaço intercostal

As imagens ultrassonográficas foram classificadas de acordo com Blond e Buczinski (2009). O pulmão normal, foi considerado quando na presença de artefatos de reverberação ou “linhas A”, caracterizadas por faixas paralelas e hiperecoicas que começam a partir da pleura. As ‘Caudas de cometa’ ou “linhas B” foram representadas por feixes hiperecoicos perpendiculares que iniciavam da região da pleura. As áreas de consolidação pulmonar, foram consideradas como qualquer porção pulmonar com ausência de reverberação, com característica hipoecoica e ecoica, a partir da pleura. A efusão pleural foi identificada pela presença de uma porção anecoica entre as pleuras. As alterações foram registradas conforme a localização no espaço intercostal e as consolidações foram medidas, de acordo com sua profundidade, através da função *measure* do ultrassom na imagem estática.

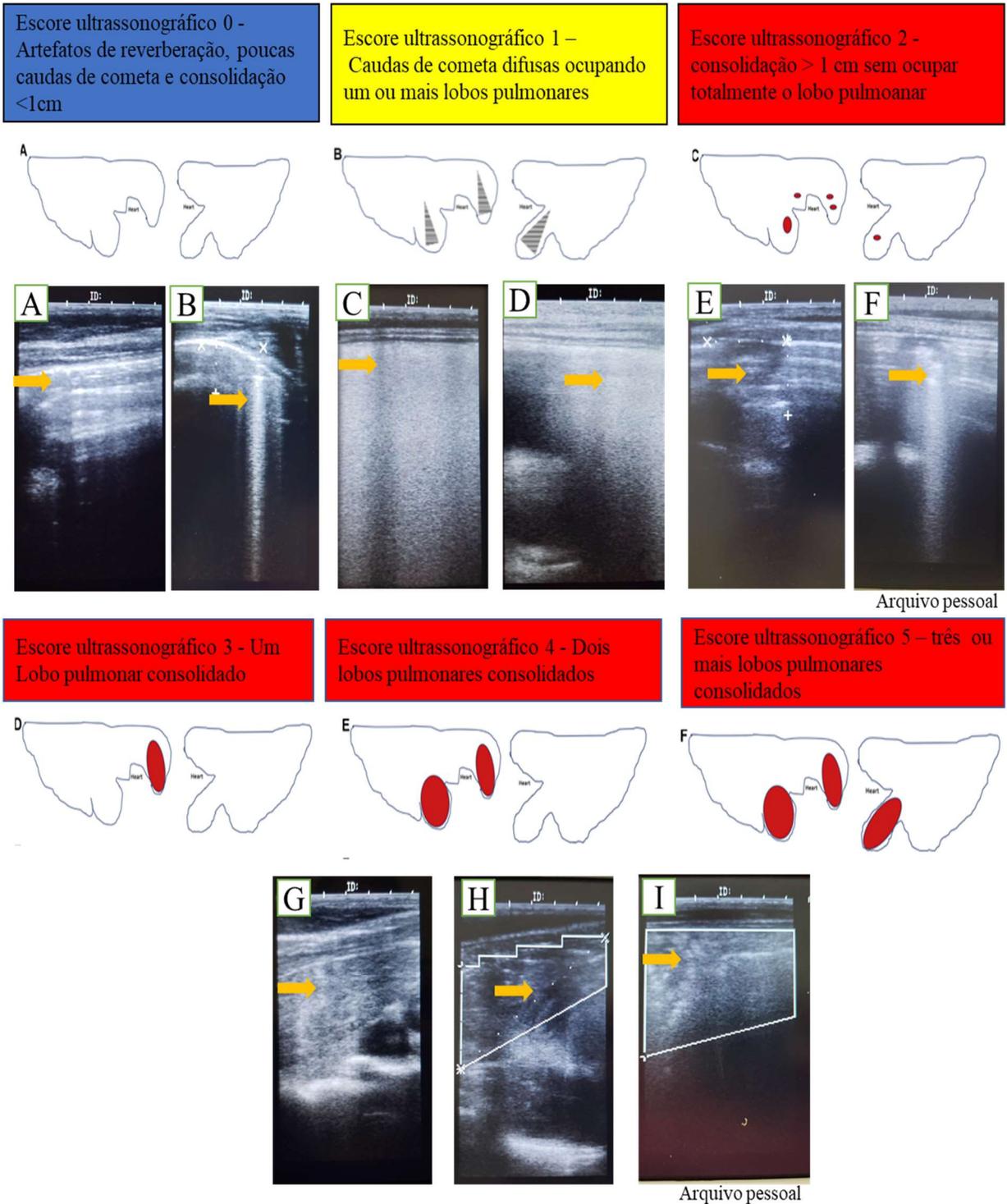
Baseado nas alterações ultrassonográficas, os animais foram classificados de acordo com sistema de Escore Ultrassonográfico, proposto por Cramer e Olivett (2019). Neste os cinco

lobos pulmonares foram examinados e considerados em separado (Figura 2) e de acordo com as alterações, foram classificados em: Escore ultrassonográfico 0 (zero), apenas artefatos de reverberação, poucas caudas de cometa e consolidações <1cm; Escore 1, caudas de cometa difusas, ocupando um ou mais lobos pulmonares; Escore 2, consolidações pulmonares >1 cm, mas que não ocupavam todo o lobo pulmonar; Escore 3, consolidação completa de um lobo pulmonar; Escore 4, consolidação de 2 lobos pulmonares e Escore 5, quando 3 ou mais lobos estavam consolidados (Figura 3). Este sistema foi relacionado com escore de WI, realizado anteriormente, e o animal foi considerado como saudável (escore de WI <5 e escore ultrassonográfico 0), doença do trato respiratório superior (escore de WI \geq 5 e escore ultrassonográfico 0), pneumonia clínica (escore de WI \geq 5 e escore ultrassonográfico \geq 1) e pneumonia subclínica (escore de WI <5 e escore ultrassonográfico \geq 1), segundo Olivett e Buczinski (2016) (Figura 4).



Adaptado de Popesko (2012)

Figura 2: Descrição anatômica do pulmão bovino e identificação dos lobos pulmonares para realização do exame ultrassonográfico, segundo Olivett e Buczinski (2016) A- Pulmão esquerdo: 1-Lobo cranial; 1a- Porção cranial do lobo cranial esquerdo, 2° ao 3° espaço intercostal (EI); 1b- Porção caudal do lobo cranial esquerdo, 4° ao 5° EI; 2-Lobo caudal, 6° ao 10° EI; B- Pulmão direito: 3 -Lobo cranial; 3a- Porção cranial do lobo cranial direito, 1° ao 2° EI; 3b- Porção caudal do lobo cranial direito, 3° ao 4° EI; 4- Lobo médio, 5° EI; 5-Lobo caudal, 6° ao 10° EI



Adaptado de Olivett e Buczinski (2016)

Figura 3: Classificação das alterações ultrassonográficas no Escore Ultrassonográfico, segundo Cramer e Olivett (2019). Escore ultrassonográfico 0 (zero), apenas artefatos de reverberação (A), poucas caudas de cometa (B) e consolidações <1cm; Escore 1, caudas de cometa difusas, ocupando um ou mais lobos pulmonares (C e D); Escore 2, consolidações pulmonares > 1 cm, mas que não ocupavam todo o lobo pulmonar (E e F); Escore 3, consolidação completa de um lobo pulmonar (G); Escore 4, consolidação de 2 lobos pulmonares (G e H) e Escore 5, quando 3 ou mais lobos estavam consolidados (G, H e I)

Doença respiratória	Escore de WI	Escore de US
Saudável	Negativo	Negativo
Doença do trato respiratório superior	Positivo	Negativo
Pneumonia subclínica	Negativo	Positivo
Pneumonia clínica	Positivo	Positivo

Figura 4: Classificação da doença respiratória de acordo com os resultados da avaliação do Escore de Wisconsin (escore de WI) e da Ultrassonografia Pulmonar (Escore de US), segundo Olivett e Buczinsk (2016). Escore de WI= negativo <5, positivo ≥ 5 ; Escore de US = negativo poucas caudas de cometa e consolidações <1cm, positivo caudas de cometa difusas ou com consolidações >1cm

5.3.2- Avaliação da transferência de imunidade passiva, das enfermidades das bezerras e dados zootécnicos

Durante todo o período de experimento, funcionários treinados e capacitados pela fazenda, realizaram a dosagem de proteína plasmática das bezerras, avaliação de escore de fezes, diagnóstico e tratamentos das enfermidades, com protocolos pré-estabelecidos pela fazenda.

A transferência de imunidade passiva era realizada como rotina na fazenda, através da coleta de sangue total, por venopunção da veia jugular, dos animais com idade entre 2 e 5 dias de vida, em tubos *Vacutainer* com anticoagulante. Posteriormente foi realizado o hematócrito do animal em tubo capilar, sendo quebrado na fração do plasma e realizada a leitura da proteína plasmática em refratômetro.

A presença da diarreia era monitorada diariamente. A avaliação visual das fezes das bezerras até os 20 dias de vida, era realizada por um funcionário na parte da manhã. A diarreia foi classificada em: normais, quando pastosas a consistentes; diarreia leve, apesar de pastosas, tendiam a escorrer; diarreia moderada, fezes líquidas com porções pastosas e diarreia grave, fezes totalmente fluidas. Todos os casos de diarreia neonatal, foram tratados com 2,5 mg/kg Enrofloxacino³ uma vez ao dia, por via oral, durante três dias.

Os casos de onfalite, eram diagnosticados por palpação rotineira do umbigo durante as duas primeiras semanas de vida do animal. Na ocorrência de sinais de infecção (aumento de volume,

³ Trigentel, Bimeda®

dor, presença de secreção) era realizada uma aplicação de Penicilina Benzatina, na dose de 30.000 UI/kg de peso vivo, por via intramuscular, dose única.

Os casos de otite, foram identificados pelo funcionário e durante a avaliação do escore da CA e de WI quando eram avaliados posicionamento da cabeça e orelha. Os animais foram tratados com medicamento a base de Penicilina Procaína⁴ na dose 30.000 UI/kg de peso vivo, via intramuscular por 10 dias, ou Tilosina⁵ na dose de 10mg/kg de peso vivo, durante 7 dias.

O diagnóstico e tratamento da pneumonia era realizado por um funcionário treinado pela fazenda. O diagnóstico era feito através da inspeção diária dos animais e baseado na avaliação do comportamento, padrão respiratório, tosse, secreção nasal, temperatura retal e auscultação pulmonar. Os protocolos terapêuticos empregados foram duas doses no intervalo de 48 horas de 15 mg/kg de peso vivo de Amoxicilina Triidratada⁶, por via intramuscular, como primeira escolha. Na segunda escolha era utilizado duas aplicações de Florfenicol⁷, 20 mg/kg de peso vivo, via intramuscular, no intervalo de 48 horas e como terceiro tratamento era realizado uma aplicação de Tilmicosina⁸, 10mg/kg de peso vivo, por via subcutânea atrás da paleta. Após o exame ultrassonográfico, os animais que apresentavam consolidações pulmonares eram informados ao funcionário responsável e entravam em sua avaliação de rotina para diagnóstico de pneumonia. Na análise, foi considerado como casos de tratamento para pneumonia, se decorridos pelo menos quinze dias do último tratamento.

Os casos de Tristeza parasitária (infecções por *Anaplasma marginale*, *Babesia Bovis* e *Babesia bigemina*), eram identificados pelos funcionários através da inspeção clínica e por resultado da leitura de esfregaço de ponta de cauda em lâmina para microscopia. Na fase de recria, a doença era monitorada através da avaliação da temperatura retal, a cada três dias, até os oito meses de vida e quando os animais apresentavam uma temperatura retal superior a 39,1°C era realizado um esfregaço de ponta de cauda. A leitura do esfregaço, após coloração em corante rápido, era realizada por uma médica veterinária da fazenda. Os casos positivos para Anaplasmosose foram tratados com 7,5 mg/kg de peso vivo de Enrofloxacino⁹ ou 20mg/kg de peso vivo de Oxitetraciclina¹⁰, ambos dose única ou de acordo com a necessidade na persistência de

⁴ Agrovit Plus, Novartis®

⁵ Tylan 200, Elanco®

⁶ Clamoxyl, Zoetis®

⁷ Roflin, Agener União®

⁸ Micotil 300, Elanco®

⁹ Kinetomax, Bayer®

¹⁰ Oxitrat La Plus, Vallée®

parasitemia, na leitura de esfregaço de ponta de cauda. No tratamento da Babesiose foi administrado Diaceturato de diminazene¹¹, 3,5 mg/kg de peso vivo, dose única ou de acordo com a necessidade na persistência de parasitemia. Nas análises, foram considerados apenas os casos decorrentes de leitura positiva nos esfregaços de ponta de cauda e como um novo caso de Anaplasmose aqueles diagnosticados após 15 dias do último caso positivo e para Babesiose após 7 dias.

Os casos de Salmonelose foram diagnosticados na rotina de avaliação dos animais pelo funcionário e em alguns casos, confirmada através de cultura microbiológica em meio seletivo, realizada na fazenda. As terapias antibióticas empregadas nos animais acometidos foram duas doses de Florfenicol, 20 mg/kg de peso vivo, por via intramuscular, no intervalo de 48 horas, ou duas doses de Enrofloxacino, 7,5 mg/kg, via intramuscular profunda, a cada 48 horas.

No período de aleitamento, no caso de redução ou não ingestão de leite e desidratação acentuada, era fornecido soro oral, para reposição eletrolítica, através de uma sonda oro-esofágica, no volume de dois litros de uma solução contendo 10g cloreto de sódio, 8g de acetato de sódio, 2g de cloreto de potássio e 40g de glicose de milho, duas vezes ao dia. Se o animal desidratasse de forma severa e ficasse prostrado, a soroterapia endovenosa era empregada, no volume de 4 litros de ringer com lactato. Na fase de recria, bezerras que apresentavam desidratação e/ou redução de consumo de alimento recebiam fluidoterapia oral, no volume de 50 mL/kg de peso corporal, de uma solução com 5g de cloreto de sódio, 4g de acetato de sódio, 1g de cloreto de cálcio e 10 mL de propilenoglicol, para cada litro de água. Quando os animais apresentavam hematócrito abaixo de 15% era realizado uma transfusão sanguínea, com um volume de 15 mL/kg de peso vivo.

A avaliação do ganho peso dos animais foi realizada por inferência do perímetro torácico, logo atrás da escápula, passando uma fita pelo esterno e pelos processos espinhais das vértebras torácicas. Para isso foi utilizado, fita convencional para pesagem de bovinos leiteiros, observando na escala o peso pré-determinado para raças grandes. O primeiro peso foi ao nascimento, seguida de pesagens nos momentos que foram realizados as avaliações de Escore Respiratório e na pesagem realizada pela fazenda aos 13 meses de vida, para determinar a entrada dos animais na reprodução, quando era considerado um peso mínimo de 370 kg e idade

¹¹ Ganaseg, Elanco®

mínima de 13 meses. Os índices reprodutivos como número de inseminações até a primeira concepção e os óbitos, foram obtidos dos registros da fazenda.

6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

O cálculo amostral foi realizado segundo a prevalência de 8,9% de consolidações pulmonares relatada por Buczinski et al. (2018), em bezerros em aleitamento. Considerando essa informação, o erro do tipo I de 5% e a margem de erro esperada de 4%, resulta segundo Miot (2011) na equação: $n = [1,96 \times \sqrt{0,089 \times 0,911}] / 0,04]^2$, em que sqrt é a raiz quadrada. Assim, o tamanho amostral foi igual a 194,67 ou 195 indivíduos.

Para verificar diferenças entre distintas coletas para um mesmo grupo, assim como diferenças entre grupos para uma mesma coleta, foram ajustados modelos de equações de estimativas generalizadas adequadas a dados com realização de medidas repetidas no mesmo indivíduo ao longo do tempo, sendo bastante flexíveis quanto à distribuição de probabilidade da variável resposta (Guimarães e Hirakata, 2012). Após a escolha das distribuições de probabilidade mais adequadas para cada variável (i.e. gaussiana, Poisson ou gama), foi utilizada uma estrutura de autocorrelação temporal de simetria composta, foi calculado os valores médios de seus respectivos intervalos de 95% de confiança para cada grupo em cada tempo e empregado o teste de Tukey.

Na avaliação da associação entre duas variáveis quantitativas (i.e., numéricas) foram realizado modelos de regressão ao gráfico de dispersão, calculou-se a significância da regressão, o coeficiente de determinação e foi estimada a equação da reta de regressão. Isso foi utilizado para relacionar a proteína plasmática mensurada na primeira semana de vida, ganho de peso e os dias em diarreia (leve, moderada e grave), com o número de espaços intercostais com consolidações >1cm na ultrassonografia, valores de escore de WI e número de casos tratados para pneumonia, nos momentos Bezerreiro fase inicial (BI - 1ª a 6ª semana de vida), Bezerreiro fase final (BF - 8ª a 12ª semana), Bezerreiro geral (BG - 1ª a 12ª semana), Recria (RC-16ª a 24ª semana) e Total de avaliações (TA - 1ª a 24ª semana).

O efeito da variável concentração de proteína plasmática na sobrevivência dos animais, foi verificado segundo metodologia descrita por Kaplan e Meier (1958). Para isso, os valores de proteína plasmática foram distribuídos em duas curvas, com valores acima do valor mediano (>7,6 g/dL) ou abaixo ($\leq 7,6$ g/dL), e as diferenças entre as curvas foram testadas pelo Teste Logrank. Na avaliação da implicação do escore de WI e do número de espaços intercostais

>1cm, na sobrevivência dos animais, foi calculado um valor médio de todas as avaliações realizadas ao longo do tempo no mesmo animal, obtendo-se um único valor. O efeito do aumento do valor médio, sobre a sobrevivência dos animais, foi avaliado a partir de um ajuste de modelos de regressão de Taxas de Falhas Proporcionalis ou Modelo Semiparamétrico de Cox (Cox, 1972).

Na análise de concordância do escore de WI e da CA, foi utilizado *Kappa* de Cohen. Na avaliação da capacidade preditiva do escore de WI em relação ao diagnóstico ultrassonográfico, foram construídas tabelas de contingência 2x2, contendo o número de classificações concordantes e discordantes, e calculados os índices de Acurácia, *Kappa* de Cohen, sensibilidade (número de resultados de teste verdadeiros positivos/ verdadeiro-positivos + falso-negativos) e especificidade (número de resultados de teste verdadeiro-negativos / verdadeiro-negativos + falso-positivos).

7 RESULTADOS E DISCUSSÃO

No total foram envolvidas no estudo 193 bezerras. A maioria nasceu de partos normais, apenas cinco nasceram de partos distócicos, os quais foram distocias leves, com necessidade de pequena tração realizada por uma pessoa. Considerando os tratamentos realizados até o aleitamento, 82,9% (160/193) das bezerras foram tratadas pelo menos uma vez para diarreia, 73,6% (142/193) para pneumonia, 10,3% (20/193) para onfalite, 13,5% (26/193) para otite, 9,8% (19/193) para Anaplasmose e 5,7% (11/193) para Salmonelose. A morte ou descarte involuntário (eutanásia pelo entendimento que o animal não tinha condições de melhora), ocorreu para 26,4% (51/193) das bezerras até os 19 meses.

7.1 Relação da transferência de imunidade passiva com a doença respiratória e sobrevivência

Na primeira mamada do colostro 82,4% (159/193) das bezerras receberam colostro fresco, com ou sem adensamento, 9,8 % (19/193) colostro descongelado e 7,3% (14/193) substituto de colostro comercial. O *Brix* médio do colostro fresco e descongelado foi de 27,9% (24-32%, DP 2,5%). A concentração de proteína plasmática não foi influenciada pelo tipo de colostragem recebida na primeira mamada (P=0,101).

O presente estudo utilizou a proteína plasmática, que diferente da proteína sérica, apresenta em sua constituição o fibrinogênio, que aumenta seu valor. Com isso, o seu ponto de corte, segundo

Elsohaby et al. (2019), deve ser de 5.8 g/dL para determinar falha de transferência de imunidade passiva (FTIP) (Sensibilidade=81.2%, Especificidade= 68.1%, Acurácia=74%), para uma relação com a concentração sérica de 10 g/L de IgG. Considerando este ponto de corte, apenas 2% (4/193) dos animais do estudo apresentaram FTIP, o que demonstra o adequado manejo de colostragem da fazenda.

A maioria dos estudos utilizam o ponto de corte de 5,5 g/dL de proteína sérica para determinar FTIP e que também possui alta correlação com a concentração sanguínea de 10 g/L de IgG, considerado como o mínimo necessário para boa colostragem (Tyler et al. 1998; Shivley et al., 2018). Geralmente são relatadas frequências de FTIP, bem maiores do que os encontrados neste estudo. Considerando o ponto de corte de 5,5 g/dl, Tyler et al. (1998) observaram 60,5% e Weiller et al. (2020) 32% de FTIP nos bezerros avaliados. Utilizando o ponto de corte de IgG sérica <10 g/L, a FTIP pode variar de 10% a 13% (Renaud et al., 2018; Shivley et al., 2018; Barry et al., 2019).

Na análise de regressão, maiores concentrações de proteína plasmática mostraram efeito positivo na saúde respiratória (Tabela 6 e Figura 5). Para cada aumento em um ponto na proteína plasmática, a partir de 5,0 g/dL, foi observado uma relação significativa na redução do número de consolidações ultrassonográficas >1cm nos períodos BG ($y= 0,81-0,047x$, $R^2=0,004$, $P=0,021$), TA ($y=0,82-0,055x$, $R^2=0,0061$, $P=0,003$) e no número de casos tratados para pneumonia até à saída do bezerreiro ($y=2-0,13x$; $R^2 =0,021$; $P=0,044$). Maiores concentrações de proteínas plasmáticas na corrente sanguínea, estão relacionadas a melhor transferência de imunidade passiva e conseqüentemente melhor imunidade dos animais. Ao nascimento, bezerros possuem o sistema imunológico imaturo e devido ao tipo de placentação dos bovinos, que não permite a passagem de moléculas grandes para a circulação fetal, esses animais nascem agamaglobulinêmicos. Por isso, sua proteção imunológica inicial é altamente dependente da transferência passiva de imunoglobulinas, via colostro, nas primeiras horas de vida, que contribuem com a imunidade sistêmica e de mucosas (Ackermann et al., 2010). Além disso, o colostro fornece fatores hormonais (fator de crescimento), citocinas (TNF, Interleucinas), fatores antigênicos (lactoferrina e lisozimas), leucócitos maternos e aporte nutricional (gordura, proteína e vitamina), que auxiliam no desenvolvimento do sistema imune, prevenindo assim o adoecimento (Shivley et al., 2018).

Apesar da relação positiva da melhor eficiência da transferência de imunidade, com a melhora da saúde respiratória, este efeito foi muito baixo ($R^2=0,0061$ e $R^2=0,021$). Provavelmente, isto

está relacionado à característica multifatorial da doença respiratória e apenas um fator isolado, dificilmente seria responsável por explicar toda sua ocorrência. Além disso, foi observado elevada concentração de proteína plasmática no grupo de bezerras avaliadas (média 7,5g/dL, DP 0,84) e 98% apresentaram transferência de imunidade passiva adequada, o que limitou a capacidade predizer diferenças mais significativas na sua relação com a doença respiratória.

Outras pesquisas também observaram o efeito protetivo de boa colostragem sobre a doença respiratória. Windeyer et al. (2014) acompanharam 2.874 bezerros e observaram que proteína sérica inferior a 5,7 g/dL na primeira semana de vida, representou aumento de duas vezes no risco para doença respiratória, até cinco semanas de idade. Pardon et al. (2015) relataram efeito semelhante, porém com ponto de corte de proteína de 7,5 g/L (razão de risco = 1,9). Virtala et al. (1999) avaliando a concentração sérica de IgG nas duas primeiras semanas de vida, verificaram que valores mais baixos aumentaram duas vezes a chance de desenvolvimento de doença respiratória.

O achado importante do presente estudo, foi que o aumento da concentração de proteínas plasmáticas representou menos lesão pulmonar, caracterizada pela redução no número de consolidações pulmonares >1cm (Tabela 6). Este resultado, apesar de discreto, mostrou uma relação direta da transferência de imunidade passiva com a saúde pulmonar, pois a ultrassonografia, comparada aos escores respiratórios, permitiu identificar a real presença da lesão pulmonar e se associa melhor com a gravidade do processo, por inferência da área pulmonar afetada com consolidações. Assim, estes resultados são mais consistentes do que os das pesquisas publicadas até o momento, que verificaram esta relação através do diagnóstico da doença respiratória pelo exame físico e por registros de tratamentos realizados na fazenda (Virtala e al., 1996; Windeyer et al., 2014; Pardon et al., 2019), os quais são métodos de diagnóstico subjetivos e incapazes de determinar com exatidão se a doença respiratória está relacionada a pneumonia.

Além disso, a ultrassonografia permitiu identificar, com maior acurácia, a real ocorrência de pneumonia no rebanho e os dados podem ser mais precisos, pois sua avaliação independe de sinais clínicos e permitiu identificar os animais assintomáticos com lesão pulmonar. Esses casos, considerados subclínicos, podem representar de 10 a 90% dos quadros de pneumonia (Gouda, 2015; Buczinski et al, 2014; Ollivett e Buczinski 2016). Ainda, foi possível estabelecer relação da transferência de imunidade passiva com a gravidade da lesão pulmonar, pois menores concentrações de proteína plasmática, foram relacionadas com maior número de consolidações

pulmonares, ou seja, maior área pulmonar afetada. Recentemente, apenas Dunn et al. (2018) pesquisaram este efeito, mas não encontraram relação do ponto de corte da proteína sérica total de 5,2 g/dL, com a presença de consolidação pulmonar.

Tabela 6: Relação da concentração de proteína plasmática, avaliada na primeira semana de vida, com a saúde respiratória, determinada através do número de espaços intercostais com consolidações >1cm na avaliação ultrassonográfica e valor do escore respiratório de WI em avaliações realizadas da primeira a 24ª semana de vida, e do número de casos tratados para pneumonia, até o desaleitamento, de um grupo de 193 bezerras Holandês em uma fazenda de produção leiteira intensiva localizada no Centro-Oeste do Brasil

Avaliação da saúde respiratória	$y=f(x)^*$	R^2	P
Número de espaços intercostais com consolidação >1cm			
Bezerreiro inicial (BI)	$y=0,84-0,057x$	0,0057	0,062
Bezerreiro final (BF)	$y=0,81-0,043x$	0,0035	0,158
Bezerreiro (BG)	$y=0,81-0,047x$	0,004	0,021
Recria (RC)	$y=0,65-0,051x$	0,0097	0,129
Todo de avaliações (TA)	$y=0,82-0,055x$	0,0061	0,003
Valores do Escore de WI			
Bezerreiro inicial (BI)	$y=1,1 + 0,014x$	0,00055	0,998
Bezerreiro final (BF)	$y=1,2-0,03x$	0,0025	0,237
Bezerreiro (BG)	$y=1,2-0,019x$	0,00095	0,256
Recria (RC)	$y=1,4-0,04x$	0,0052	0,13
Todo de avaliações (TA)	$y=1,2-0,023x$	0,0015	0,09
Número de casos tratados para pneumonia até a desmama	$y=2-0,13x$	0,021	0,044

*Cada ponto de aumento na proteína plasmática >5,0 g/dL, promove efeito negativo (-) ou positivo (+). y = número de consolidações pulmonares >1cm, valores do escore de WI e tratamentos para pneumonia. x=concentração de proteína plasmática. BI- Avaliações da 1ª a 6ª semana de vida, BF-8ª a 12ª, BG-1ª a 12ª, RC-16ª a 24ª e TA-1ª a 24ª.

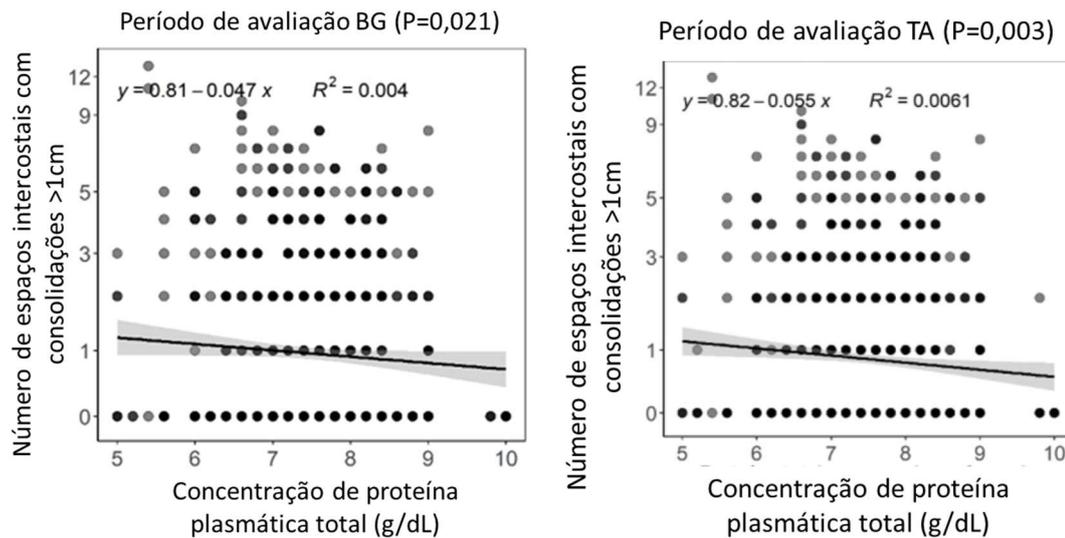


Figura 5: Relação da proteína plasmática, mensurada na primeira semana de vida, com o número de espaços intercostais com consolidações pulmonares >1cm, no exame ultrassonográfico, avaliados nos períodos BG e TA, de um grupo de 193 bezerras holandesas em uma fazenda leiteira intensiva localizada no Centro-Oeste do Brasil. BG: avaliações da primeira a 12ª semana de vida; TA: avaliações da primeira a 24ª semana de vida

Apesar do efeito observado sobre a doença respiratória, a transferência de imunidade passiva não teve relação com a sobrevivência dos animais. A análise de regressão não mostrou diferença significativa para valores de proteína plasmática acima ou abaixo do valor mediano (7,6 g/dL; $p=0,46$) (Figura 6). Com isso outros fatores foram determinantes para sobrevivência dos animais.

Na literatura, essa relação é variável. Tyler et al. (1998) consideraram a proteína sérica >5,5 g/dL como ideal e em concentrações inferiores, verificaram aumento no risco de morte (4,6x para valores entre 4 e 4,4 g/dL; 3,1x para valores 4,5 a 4,9 g/dL) até a 16ª semana de vida. Donovan et al. (1998), observaram redução linear na mortalidade até 6 meses de vida, no aumento de 4,0 até 8,0 g/dL de proteína sérica total. Já Cuttance et al. (2018), relataram redução significativa na mortalidade em bezerros, melhor colostrados, até os 12 meses de idade e não observaram o mesmo efeito antes do desaleitamento. Semelhante ao presente estudo, Windeyer et al. (2014), adotando ponto de corte de proteína sérica de 5,7 g/dL, e Barry et al. (2019), com ponto de corte de IgG de 10 g/L, não observaram relação com a sobrevivência dos bezerros avaliados. Como pode ser observado, o ponto de corte ideal para determinar a eficiência de colostragem foi variável e nem sempre foi associado com a mortalidade ou à sobrevivência. Isto pode ser ainda mais difícil de ser observado em rebanhos com excelente colostragem, como no presente estudo.

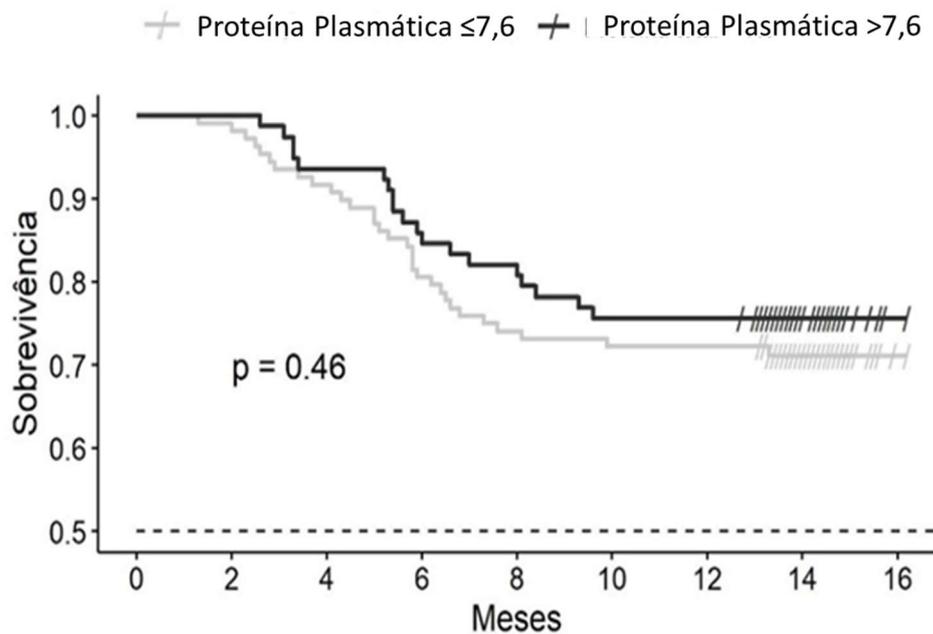


Figura 6: Relação da concentração de proteína plasmática, avaliada na primeira semana de vida, com a sobrevivência até os 19 meses de vida, de um grupo de 193 bezerras Holandesas em uma fazenda leiteira intensiva localizada no Centro-Oeste do Brasil. Concentração de proteína plasmática, acima ($>7,6$ g/dL) e menor ou igual ($\leq 7,6$ g/dL) o valor mediano

7.2 Relação da diarreia com a doença respiratória

Na avaliação do escore de fezes nos primeiros 20 dias de vida, a diarreia neonatal afetou 97% (188/193) das bezerras. Do total de casos, a diarreia grave afetou 3,9% (7/188) das bezerras, a moderada 61,7% (116/188) e a leve 34,5% (65/188). A antibioticoterapia foi utilizado em 83% (160/193) das bezerras com diarreia, enquanto a hidratação via intravenosa foi realizada apenas em 1,5% (3/188).

A frequência de diarreia foi alta neste estudo. Em outras pesquisas estes valores foram variados. Algumas mostram valores inferiores, com 15,2% em bezerros até 16 semanas de idade (Sivula et al., 1996) e 35% até 6 meses de idade (Donovan et al., 1998). No Brasil, Weiller et al. (2020) acompanharam diariamente um grupo de bezerros até 60 dias de vida e o percentual de animais com diarreia foi de 77,9%. Segundo Langoni et al. (2004), na realidade brasileira a frequência de diarreia em bezerros tem variado de 53,65 a 100%.

Na análise de regressão, não foram encontradas relação do período de diarreia, com o número de espaços intercostais com consolidações >1 cm ou com casos positivos no Escore de WI, nos diferentes momentos de avaliação ($P > 0,05$). Um efeito significativo foi notado no total de dias em diarreia, com o número de casos tratados para pneumonia ($y = 0,79 + 0,04x$; $R^2 = 0,022$;

P=0,04) no período de bezerreiro (Figura 7). Essa relação já foi observada em trabalhos anteriores. Perez et al (1990) observaram que bezerros que tiveram diarreia nas primeiras semanas de vida, apresentaram três vezes mais chance de desenvolverem doença respiratória nos primeiros quatro meses de vida. Já Svensson et al. (2006), verificaram um efeito a longo prazo. A ocorrência de diarreia nos primeiros 90 dias de vida aumentou a chance do desenvolvimento da doença respiratória dos três aos sete meses de vida.

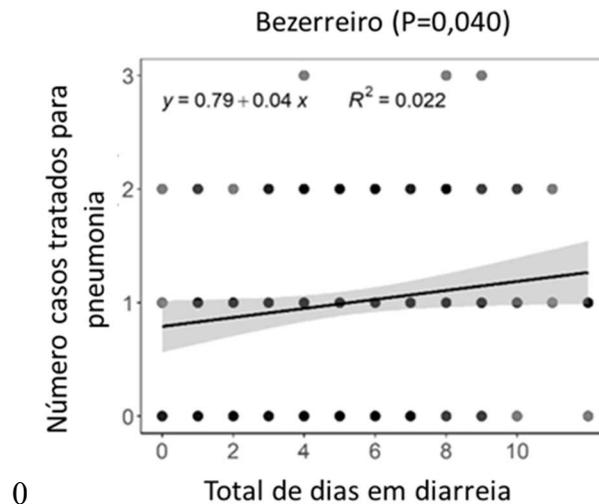


Figura 7: Relação do período total de dias em diarreia, mensurado nos primeiros 20 dias de vida, com o número de casos tratados para pneumonia até o desaleitamento, de um grupo 193 bezerras Holandesas em uma fazenda de produção leiteira intensiva localizada no Centro-Oeste do Brasil. BG: avaliações da primeira a 12ª semana de vida; TA: avaliações da primeira a 24ª semana de vida

Apesar de ser observado que a diarreia aumentou o número de casos tratados para pneumonia, o efeito observado foi baixo ($R^2=0,022$). A diarreia pode predispor à ocorrência da doença respiratória, por provocar distúrbios metabólicos sistêmicos como desidratação, hipoglicemia, distúrbio ácido base e eletrolítico, os quais afetam diretamente a capacidade plena de funcionamento das defesas do sistema imunológico. A intensidade da ocorrência desses distúrbios está relacionada com a gravidade e o tempo de diarreia (Freitas, 2009). No grupo de animais avaliados, o período de diarreia foi curto, média de 4,1 dias (DP 1,1 dias), e nos poucos bezerros que tiveram diarreia grave, a média foi de 1,1 dias (DP 2,3 dias). Isto pode ter reduzido o efeito imunossupressor e pode justificar o efeito discreto na sua relação com a doença respiratória. Além disso, a maioria dos animais apresentaram diarreia por períodos semelhantes, o que limitou a análise da sua relação com a doença respiratória.

7.3 Associação da doença respiratória com a mortalidade até 19 meses.

Das 193 bezerras avaliadas, 51 bezerras deixaram o rebanho até os 19 meses de idade (Tabela 7). Até os três meses de vida, a mortalidade foi 4,1% e a principal causa foi a Salmonelose, que também foi responsável por 1/3 das mortes no pós-desmame. A fazenda era endêmica para *Salmonella* Dublin, multirresistente a antimicrobianos, que geralmente provocava quadros agudos de sepse pouco responsivos ao tratamento. O diagnóstico desta situação epidemiológica da fazenda, com identificação do sorovar da salmonela e testes de resistência a antimicrobianos, foram realizados por outro estudo, realizado em paralelo, por um integrante do grupo de pesquisa.

Geralmente a doença respiratória e a diarreia correspondem à maiores causas de mortalidade de bezerros jovens, contudo isso não foi observado no presente estudo. Apesar do alto índice de tratamento para pneumonia até os três meses de vida, houve baixa letalidade e apenas um animal veio a óbito devido a complicações pulmonares. O mesmo ocorreu para diarreia, que afetou 97% dos animais e nenhum veio a óbito, provavelmente devido ao curto período de diarreia e a baixa gravidade. Weiller et al (2020) avaliaram bezerros Holandês até os 60 dias de vida, oriundos de cinco fazendas no Sul do Brasil, e observaram mortalidade de 10,7% (14/131), sendo 6,9% por diarreia e 4,6% por doença respiratória. Nos Estados Unidos, um levantamento com dados de vários rebanhos verificou 7,8% de mortalidade, sendo as diarreias responsáveis por 56,5% dos casos, seguidos por infecções respiratórias (22,5%), razões desconhecidas (7,8%) e partos distócicos (5,3%) (USDA, 2007). Tais diferenças entre as pesquisas, estão relacionadas aos distintos fatores de risco aos quais cada rebanho está exposto e da intensidade com que as doenças se manifestam em cada um deles.

Dos três aos 19 meses de vida, a mortalidade observada foi 23,2% (43/185). As principais causas de mortalidade foram tristeza parasitária, com 34,8% (15/43) dos óbitos, Salmonelose, com 32,5% (14/43) e pneumonia, com 30,2% (13/43). A morbidade para tristeza parasitária foi alta nesta fase e justifica a participação importante desta enfermidade na taxa de mortalidade. Até os três meses de vida, nenhum animal foi diagnosticado para Babesiose e apenas 19 animais tiveram Anaplasmosse. No geral, até os oito meses de vida, 82,3% (159/193) dos animais apresentaram pelo menos um caso de Babesiose, que se repetiram em média 2,12 vezes (1-7 casos, DP 1,7), e 82,9% (160/193) tiveram Anaplasmosse, que se repetiram 1,61 vezes (1-4 casos, DP 1,77). A diferença na incidência da tristeza parasitária, entre os períodos de aleitamento e pós-desaleitamento, pode ser justificado pela mudança no sistema de criação. Até

os três meses de vida, as bezerras foram mantidas em gaiolas, dentro de um galpão e sem carrapatos. Após o desaleitamento, na fase de recria, os animais passaram para piquetes, com alto contágio para agentes da tristeza parasitária, devido à presença mais intensa de moscas hematófagas, condições favoráveis para manutenção de carrapatos e a criação em grupo. Com isso, o sistema de criação proporcionou que o primeiro desafio dos bezerros para Babesiose e o maior desafio para Anaplasmosse, ocorresse após o desaleitamento, quando eram transferidos para os piquetes. Assim, até desenvolverem imunidade adquirida efetiva, os animais estavam sujeitos a maior chance de adoecer (Melo et al. 2001; Sacco, 2001).

Tabela 7: Causa da morte de 51 animais de um grupo de 193 bezerras Holandês, avaliadas até os 19 meses de vida, em uma fazenda de exploração leiteira intensiva no Centro Oeste do Brasil

Causa da morte	Idade				Total
	0 a 3 meses	3 a 6 meses dias	6 a 10 meses	10 a 19 meses	
Intoxicação por Ionóforo		1	1		2
Morte Súbita		1			1
Peritonite		1			1
Pneumonia crônica e Salmonelose		1			1
Pneumonia Crônica	1	1	5	2	9
Pneumonia Crônica / Actinobacilose			1		1
Pneumonia Crônica / Úlcera de Abomaso			1		1
Poliartrite e Salmonelose		1			1
Salmonelose	7	9	1		17
Salmonelose e Tristeza parasitária		2			2
Sepse		1			1
Trauma			1		1
Tristeza parasitária		6	5		11
Tristeza parasitária e pneumonia		2			2
Total Geral	8	26	15	2	51

A pneumonia foi importante na causa de morte da recria, representando 30,2% (13/43) dos casos e todos tiveram pelo menos um achado positivo na ultrassonografia, durante o estudo. Na análise de regressão de Cox, quando o valor médio de número de espaços intercostais com consolidações > 1cm aumentou em uma unidade, a taxa de morte aumentou em média 51% (*Hazard ratio*=1,51; IC 95% (1,16-1,97; P=0,002) até os 19 meses. Isso mostra relação direta da lesão pulmonar sobre a mortalidade dos animais avaliados e quanto mais grave, maior foi o efeito.

Outros trabalhos encontraram resposta semelhante, mas em avaliações pontuais. Adams e Buczinski (2016), observaram que bezerras que apresentaram consolidações pulmonares em um exame ultrassonográfico realizado aos três meses de vida, tiveram menor taxa de sobrevivência até um ano de vida. Contudo, essa relação só foi observada para animais com consolidações ≥ 6 cm, evidência de abscesso ou derrame pleural. Já Teixeira et al. (2017), verificaram maior risco de morte nos primeiros 350 dias de vida, para animais que apresentaram consolidação >1 cm no momento do desaleitamento. Dunn *et al.* (2018) avaliaram bezerros semanalmente até os dois meses de vida e a presença de pelo menos um caso de consolidação pulmonar >3 cm neste período, não afetou a sobrevivência até o fim da primeira lactação. Apesar das diferenças metodológicas na coleta de dados e nas análises, a presença de consolidação pulmonar, como observada no presente estudo, afetou negativamente a sobrevivência de bezerros a longo prazo.

A mesma análise de regressão de Cox, também mostrou que o acréscimo de um ponto na média da pontuação do escore de WI, aumentou a taxa de morte em 35% (*Hazard ratio* =1,35; IC 95% (1,12-1,63; P=0,002). Nesta análise, o aumento de um ponto no escore de WI, ficou abaixo do ponto de corte ≥ 5 para indicar um animal com doença respiratória. Contudo, os parâmetros avaliados para estabelecer esta pontuação no escore de WI, não são específicos para doença respiratória e sua alteração pode significar piora na saúde geral dos animais, o que provavelmente, refletiu no aumento da chance de morte.

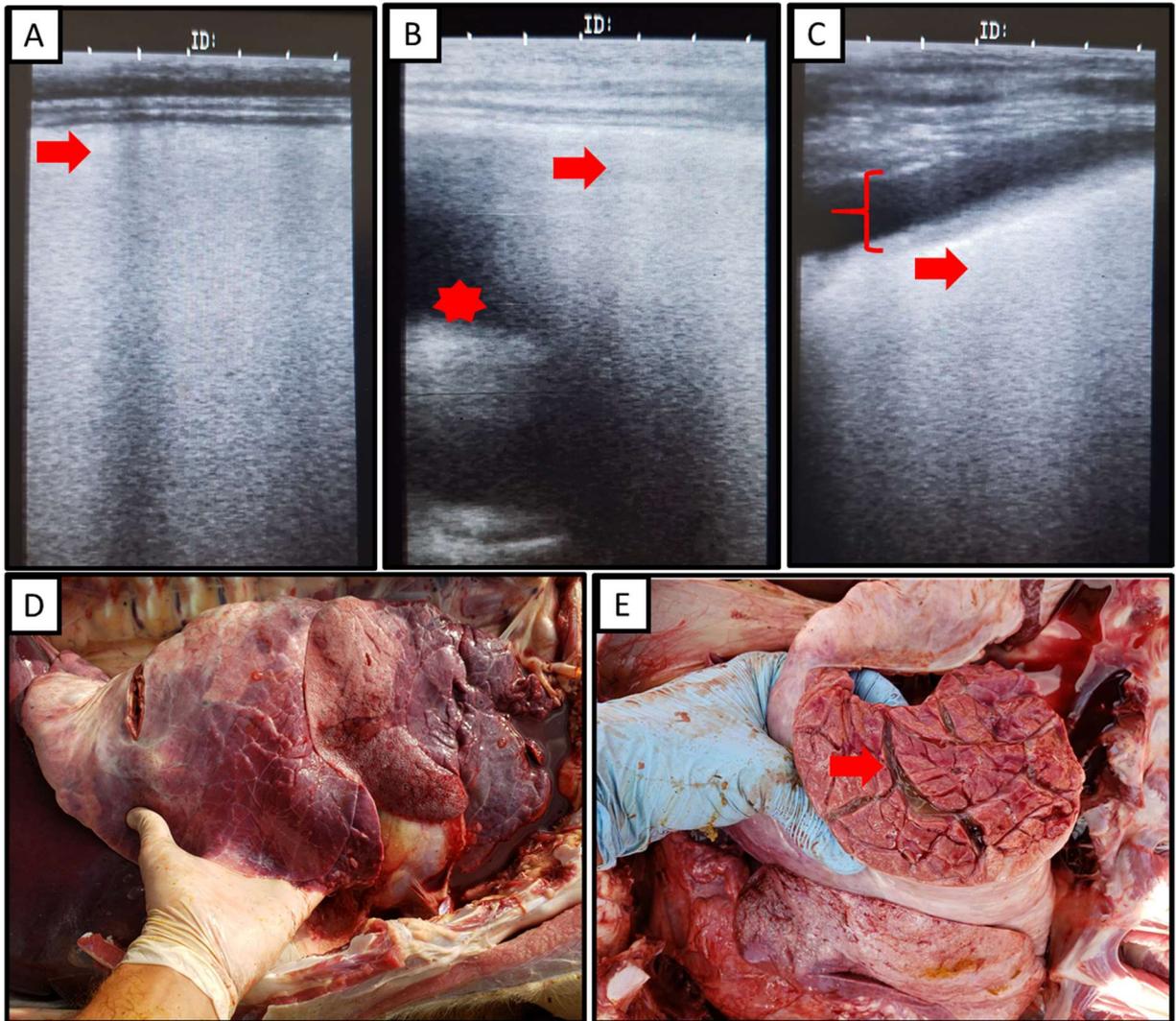
7.4 Utilização da ultrassonografia e do escore de WI e da CA no diagnóstico da doença respiratória

Na avaliação ultrassonográfica, 79,3% (153/193) das bezerras apresentaram pelo menos um caso de consolidação pulmonar ≥ 1 cm. Até a saída do bezerreiro, na 12^a semana de vida, esse número chegou a 74,6% (144/193). No geral, uma proporção alta de animais apresentou lesão

pulmonar durante o estudo. Outros trabalhos também mostram que essa proporção pode ser elevada. Dunn et al. (2018), usando ponto de corte >3cm para consolidação, com avaliações semanais até os 56 dias de vida, observaram que 57% (123/215) das bezerras avaliadas apresentaram pelo menos um exame positivo. Resultado inferior ao presente estudo, que pode ter sido influenciado pelo maior ponto de corte para consolidação. Cramer e Ollivett (2019) verificaram um valor bem próximo, com 73% das bezerras com pelo menos um caso de consolidação pulmonar >1cm, dos 26 aos 50 dias de vida.

Apesar das diferenças na metodologia dos trabalhos, mais da metade dos animais avaliados, apresentaram consolidações pulmonares nos primeiros meses de vida. O diagnóstico da proporção de animais acometidos, pode auxiliar na caracterização da intensidade dos problemas respiratórios na fazenda, no entendimento da dinâmica da distribuição de bezerros afetados por categoria, no levantamento de índices para efeito de comparação, estabelecimento de metas e na avaliação da assertividade do diagnóstico clínico. Informações de grande valor para programas de diagnóstico e monitoramento de pneumonias.

Na classificação do escore ultrassonográfico, considerando o resultado de todas as avaliações, 20,1% (40/193) apresentaram escore ultrassonográfico 0 até o final do estudo, 2% (4/193) apresentaram escore 1, 24,8% (48/193) apresentaram o escore 2 como o mais elevado, 25,4% (49/193) o escore 3, 13,5% (26/193) o escore 4 e 14,5% (28/153) o escore 5. O escore 1 foi observado em quatro bezerras que vieram a óbito, poucos dias após o diagnóstico (1 a 5 dias). Os sinais clínicos comuns foram apatia, taquipneia, febre e petéquias nas mucosas. Após três dias, dois animais apresentaram diarreia grave e um com fibrina nas fezes. Na necrópsia, os achados comuns foram petéquias na serosa intestinal e da bexiga, edema na região do duodeno, fígado com bordas abauladas, úlceras no abomaso, pulmão pesado, brilhante, úmido e com a região intersticial bem delimitada (edema intersticial) (Figura 8), um animal ainda apresentou peritonite, outro enterite fibrinonecrótica e um efusão pleural, que já havia sido observada no exame ultrassonográfico. Na cultura microbiológica, em meio seletivo, de amostras coletadas em *swab* de pulmão, vesícula biliar e de intestino, foi identificada um crescimento bacteriano sugestivo de bactérias do gênero *Salmonella*. Nos quatro casos, as colônias foram isoladas e após sorotipagem foi confirmada a presença de *Salmonella* Dublin. Estes resultados foram obtidos de uma pesquisa da mesma equipe realizada na fazenda.



(Arquivo pessoal)

Figura 8: Imagens da ultrassonografia pulmonar com edema intersticial e avaliação macroscópica do pulmão na necrópsia, de bezerras Holandesas que vieram a óbito no período de aleitamento devido a sepse por *Salmonella* Dublin; A: Presença de caudas de cometa difusa no lobo pulmonar (→); B: Presença de caudas de cometa difusas no lobo pulmonar (→) sobre o coração (*); C: Efusão pleural (Σ) e lobo pulmonar com cauda de cometa difusa (→); D: Pulmão direito com características macroscópicas de edema intersticial, congesto, pesado, úmido e com septos interalveolares bem demarcados; E: Interstício pulmonar com característica gelatinosa (→) devido ao edema intenso

Nos quatro casos, os animais apresentaram quadro clínico inicial que poderia ser facilmente confundido com broncopneumonia. Contudo, a ultrassonografia mostrou extensas áreas com caudas de cometa, sugerindo edema intersticial difuso, na ausência de consolidações pulmonares que seriam esperadas nos quadros de broncopneumonias. Desta forma, foi possível estabelecer diagnóstico diferencial e sugestivo para Salmonelose, já que a fazenda apresentava casos recorrentes dessa enfermidade. Segundo Guterbock (2014), o uso do exame clínico convencional e a ausência de investigação detalhada, faz com que casos de Salmonelose septicêmica não sejam diagnosticados e os animais são tratados erroneamente para doença

respiratória. Isso resulta em insucesso no tratamento, gera dados errados sobre a ocorrência de doença respiratória e, principalmente, não permite que medidas de controle sejam tomadas, possibilitando a rápida disseminação da salmonela no rebanho.

Outra doença comum nos animais avaliados foi a Tristeza Parasitária e muitos apresentavam apenas aumento da frequência respiratória, hipertermia e prostração como sinais clínicos, principalmente nos quadros de Babesiose. No caso da propriedade, o diagnóstico definitivo da tristeza parasitária era realizado através do exame de esfregaço de ponta de cauda. Contudo, a ultrassonografia, muitas vezes, auxiliou no diagnóstico por excluir a presença de um quadro de pneumonia ou de Salmonelose septicêmica, pois ambas as doenças podem apresentar sinais clínicos semelhantes.

Apesar do sistema de escore ultrassonográfico ser pontuado de 1 a 5 e intuitivamente dar uma ideia de quanto maior, mais grave, isso não é totalmente uma verdade. O escore 1 está relacionado à presença de caudas de cometa difusamente distribuídas sobre a área pulmonar, o que significa edema pulmonar intersticial difuso. Este quadro em bovinos, pode estar presente nas pneumonias causadas pelo vírus sincicial bovino, na broncopneumonia aguda e sepse. Sendo assim, este escore pode ser muito grave, como foi visto nos quatro casos de Salmonelose septicêmica do presente estudo, em que todos os animais morreram. Por estar presentes nestes casos específicos, sua frequência nos rebanhos é baixa e pode não ser observado (Cramer e Ollivett, 2019).

Assim, dentre os escores positivos, o escore 1 foi o menos presente. Os escore 2 e 3 foram os mais prevalentes, provavelmente por estarem presentes nos casos menos graves de broncopneumonia, na fase inicial do processo, na fase de resolução ou nos casos crônicos. Já os escores 4 e 5 apresentaram frequência intermediária, possivelmente por representar maior gravidade os animais não permanecem por longos períodos neste estágio. Cramer e Ollivett (2019) observaram distribuição semelhante, ao avaliar bezerros até 56 dias de vida, em que 27% permaneceram saudáveis, no primeiro diagnóstico de doença respiratória, 60% apresentaram escore 2 e 3, 12% escore 4 e 5 e o escore 1 não foi observado.

Na distribuição dos escores ao longo do tempo, na primeira semana de vida apenas uma bezerra apresentou escore ultrassonográfico 2 e as outras foram saudáveis. Nas avaliações seguintes, a partir da 4ª semana de vida, a proporção de animais negativos não alterou e em média 41% (31-49%) dos exames ultrassonográficos foram positivos. O escore 2 mostrou leve queda na 6ª e 8ª

semana, aumentando novamente na 10^a semana e permanecendo estável até a 20^a semana. A presença do escore 3 permaneceu constante ao longo do estudo. Os escores >3, somatório dos escores 4 e 5, tiveram pico na 6^a semana de vida, caíram lentamente até a 10^a semana de vida e depois diminuíram de forma mais acentuada até a 24^a semana (Figura 9).

Na análise de proporção de espaços intercostais, acometidos por consolidação pulmonar ao longo do tempo, foi observado pico na 6^a e 8^a semana de vida, que reduziram até a 24^a semana (Figura 10). Esse comportamento está diretamente associado à distribuição dos escores ultrassonográficos ao longo das avaliações, pois não houve diferença entre os tempos para animais negativos, mas sim na distribuição dos escores ultrassonográficos positivos. Isso ocorreu principalmente pelos escores ultrassonográficos >3, que apresentaram distribuição ao longo do tempo, semelhante a distribuição do número de espaços intercostais. O que era esperado, pois a extensão da consolidação sobre a área pulmonar é interpretada de acordo com sua área de localização nos espaços intercostais. Com isso, o escore >3 representa maior área pulmonar afetada e conseqüentemente maior número de espaços intercostais com consolidações pulmonares.

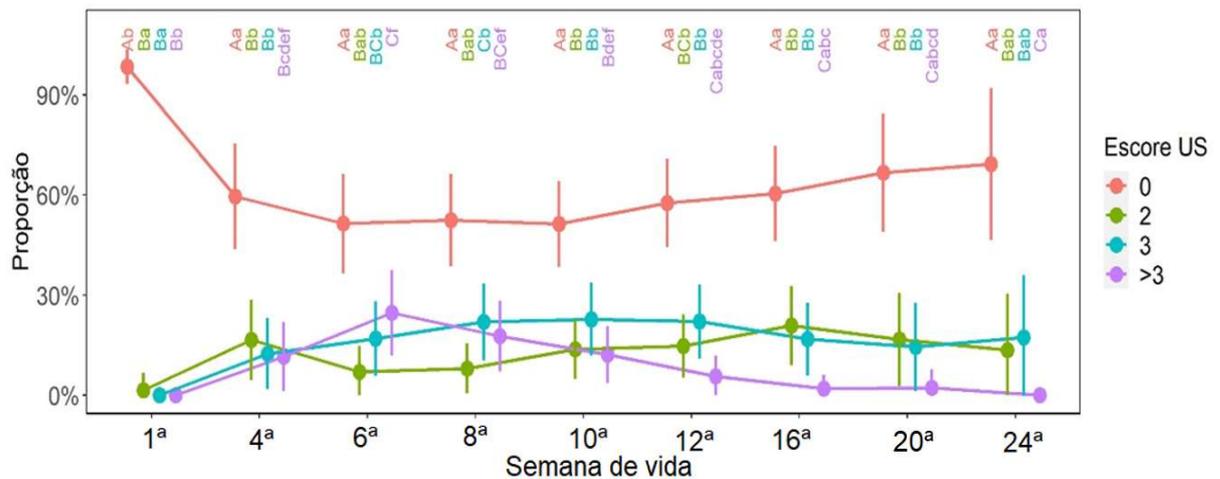


Figura 9: Distribuição da frequência de Escores Ultrassonográficos, de acordo com as avaliações ultrassonográficas, realizadas da primeira a 24^a semana de vida, de um grupo de 193 bezerras Holandês em uma fazenda de produção leiteira intensiva localizada no Centro-Oeste do Brasil. Escore US 0=Escore Ultrassonográfico 0, presença de reverberação, poucas caudas de cometa ou consolidações \leq 1cm; Escore US 2, consolidações >1cm, mas que não ocupam todo o lobo pulmonar; Escore US 3, consolidação pulmonar em um lobo pulmonar; Escore US >3, somatório do escore ultrassonográfico 4, dois lobos afetados, e escore ultrassonográfico 5, três ou mais lobos afetados. Letras maiúsculas mostram diferenças entre escores para mesmo tempo e letras minúsculas mostram diferenças entre tempos para mesmo escore. Grupos que compartilham pelo menos uma letra não são significativamente diferentes entre si ($P < 0,05$)

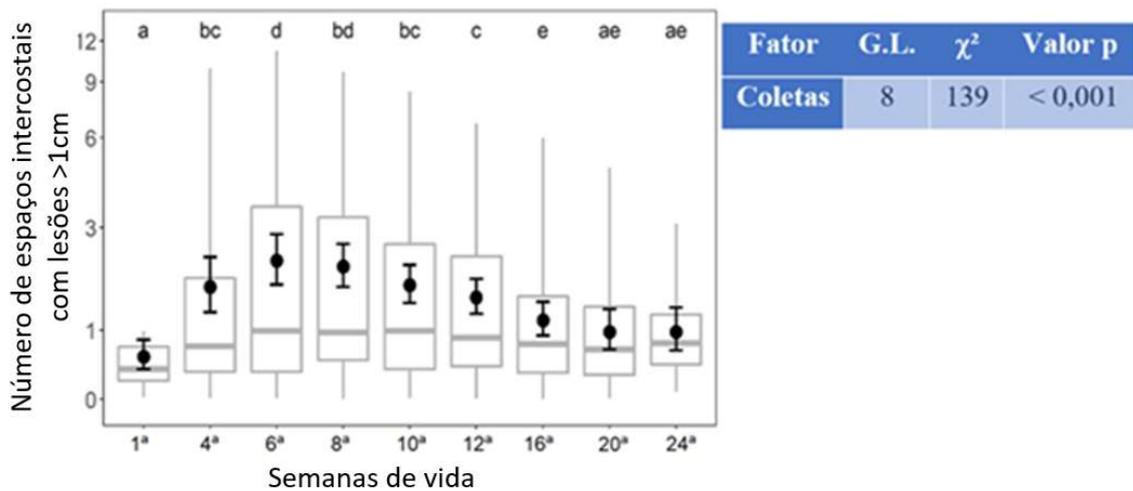


Figura 10: Distribuição do número de espaços intercostais com consolidações >1cm de acordo com a semana de avaliação ultrassonográfica, de um grupo de 193 bezerras Holandesas em uma fazenda de produção leiteira intensiva localizada no Centro-Oeste do Brasil. Letras minúsculas mostram diferenças entre os momentos de avaliação. Momentos que compartilham pelo menos uma letra não são significativamente diferentes entre si ($P < 0,05$)

A proporção de animais positivos na ultrassonografia se manteve constante ao longo do estudo. Porém, foi observada redução na extensão da consolidação pulmonar ao longo do tempo, evidenciada pela alteração na proporção dos escores ultrassonográficos e do número de espaços intercostais com lesões. Houve aumento na proporção dos escores >3 até a coleta da 6ª semana de vida e redução posterior até a 24ª semana. Este aumento inicial, pode estar relacionado a alta incidência de casos de pneumonia neste período, quando 59% (113/193) das bezerras avaliadas já haviam recebido seu primeiro tratamento para pneumonia, representando 79% (113/142) dos primeiros tratamentos para doença ocorridos no estudo (Figura 14). Assim, foi visto que os quadros de pneumonia neste período afetaram mais gravemente o pulmão dos animais, o que refletiu na maior proporção de escores ultrassonográficos >3.

Nas semanas seguintes, mesmo já tendo recebido algum tratamento, muitas bezerras apenas reduziram as lesões pulmonares, passando a apresentar escores ultrassonográficos 2 ou 3, e permaneceram positivas por longos períodos. Isso fez com que não houvesse redução no número de casos positivos na ultrassonografia ao longo do tempo. Esta influência do tratamento pode ser vista na Figura 11. O número de espaços intercostais com consolidações >1cm foi maior no grupo que recebeu tratamento para pneumonia em todos os momentos. Ao longo do tempo, a proporção de consolidações pulmonares foi maior no período em que ocorreu o maior número de primeiros tratamentos para doença respiratória, até a 6ª semana de vida, e

posteriormente houve redução. Contudo muitos animais ainda foram positivos nas semanas seguintes.

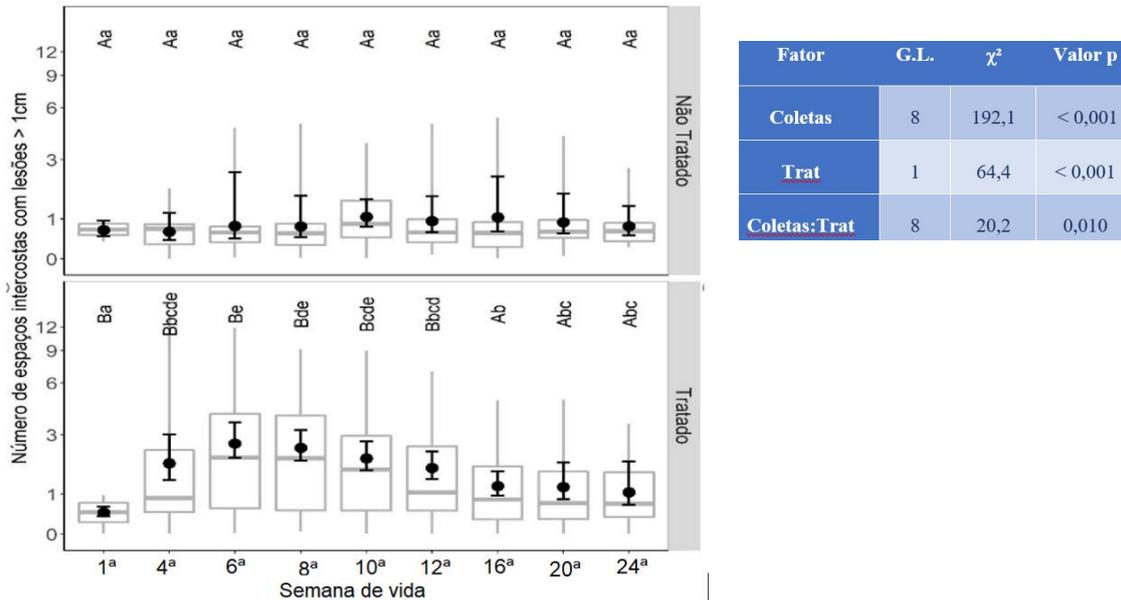


Figura 11: Distribuição do número de espaços intercostais com consolidações >1cm de acordo com a semana de avaliação e se o grupo de animais foi ou não tratado para pneumonia, de um grupo de 193 bezerras Holandesas em uma fazenda de produção leiteira intensiva localizada no Centro-Oeste do Brasil. Letras maiúsculas mostram diferenças entre os grupos tratado e não tratado para um mesmo tempo e letras minúsculas mostram diferenças entre tempos para um mesmo grupo. Grupos que compartilham pelo menos uma letra não são significativamente diferentes entre si ($P < 0,05$)

Os tratamentos para pneumonia no rebanho iniciaram na primeira semana de vida e na quarta semana, momento da segunda avaliação ultrassonográfica quando 40% dos animais apresentaram lesões na ultrassonografia. Com isso, foi observado que as pneumonias começaram cedo e a realização de avaliações entre a 1ª e a 4ª semana, poderiam determinar com mais exatidão o início das lesões pulmonares. Outros trabalhos encontraram lesões pulmonares em bezerros a partir das primeiras semanas de vida. Buczinski et al. (2014) identificaram lesões pulmonares antes de 15 dias de vida em bezerros de cinco rebanhos no Canadá. Dunn et al (2018) observaram lesões a partir dos 12 dias de idade, em um grupo de 123 bezerras, que foram avaliadas semanalmente até o desaleitamento, atingindo pico na 2ª e 3ª semanas.

Na saída do bezerreiro, na 12ª semana de vida, foram avaliadas 185 bezerras e 42,2% (78/185) foram positivas na ultrassonografia. Destas bezerras, 62,8% (49/78) tinham escore ultrassonográfico >2, 26,9% (21/78) também foram positivas no escore de WI e 73,1% (57/78) foram positivas somente na ultrassonografia. Apesar de serem positivas, 87,1% (68/78) haviam

recebido pelo menos dois protocolos de antibioticoterapia para tratamento de pneumonia, durante o período de bezerreiro. Com isso, nota-se que muitos animais chegaram no momento de saída para recria com consolidações pulmonares assintomáticas e muitas delas crônicas, já que haviam sido positivas na ultrassonografia e tratadas semanas antes. Essa elevada proporção de animais positivos, indica que o desafio para doença respiratória na fazenda era alto e os protocolos de tratamento precisavam ser revistos. Além disso, a única forma de diagnosticar todos os animais com lesões pulmonares foi com uso da ultrassonografia, devido à alta frequência de animais assintomáticos.

Outras pesquisas mostram que a proporção de animais positivos na ultrassonografia no desaleitamento é variável. De forma semelhante, Binversie et al. (2020) relataram que 70% dos bezerras apresentaram pneumonia lobar no desaleitamento, mesmo após terem recebido de dois a três tratamentos distintos e 90% eram assintomáticos. Outros trabalhos já demonstraram prevalências menores, como Adams e Buczinski (2016) que observaram 25,1% (57/227) de positivos aos 90 dias de vida e Teixeira et al (2017) relataram 20,2% (124/613) em uma avaliação aos 60 dias. Assim, um exame ultrassonográfico se torna muito útil no dia do desaleitamento, pois permite avaliar quais animais ainda possuem lesões pulmonares, quais já haviam sido tratados e a partir disso avaliar como está o diagnóstico e o controle da pneumonia no rebanho.

Nos Escores Respiratórios, 65,2% (126/193) das bezerras apresentaram pelo menos um caso positivo no escore de WI e 60,1% (116/193) no escore da CA. Considerando o total de avaliações realizadas nos dois escores, ao longo do tempo, nenhum animal foi positivo na primeira semana. Posteriormente, houve maior proporção de casos positivos na 4ª semana de vida, seguida por queda até a 8ª semana de vida e ficaram estáveis até o final do estudo (Figura 12). O período de maior proporção de casos positivos, coincide com a maior ocorrência dos primeiros casos de tratamento para doença respiratória, da primeira a 6ª semana de vida, e com maiores proporções de escore ultrassonográfico >3. Da mesma forma, à medida que os animais passaram por esta fase, a maioria dos animais receberam seu primeiro tratamento e permaneceram com consolidações pulmonares subclínicas, ou no caso de novos casos, esses também foram em sua maioria subclínicos, pois o número de positivos nos escores de WI e da CA diminuíram e os de positivos na ultrassonografia se mantiveram.

A concordância entre os métodos de escore de WI e da CA foi alta (*Kappa* 0,8; $P < 0,001$), o que evidencia alta similaridade. Ambos utilizam análises semelhantes e a escolha do emprego de

um ou de outro, pode ser baseada no qual melhor se adaptar à realidade da fazenda e apresentar maior facilidade de uso. Resultado semelhante foi observado por Aly et al. (2014), que verificaram um coeficiente de concordância excelente entre os dois escores (*Kappa* de 0,85), na avaliação de 100 bezerras no período de aleitamento e por Andrade (2017), que identificou uma concordância substancial (*Kappa* de 0,65), nas 237 avaliações realizadas num grupo de 39 bezerros Holandês em fase de aleitamento. Diante disso, apenas o escore de WI foi utilizado para comparação com a ultrassonografia, nas análises seguintes.

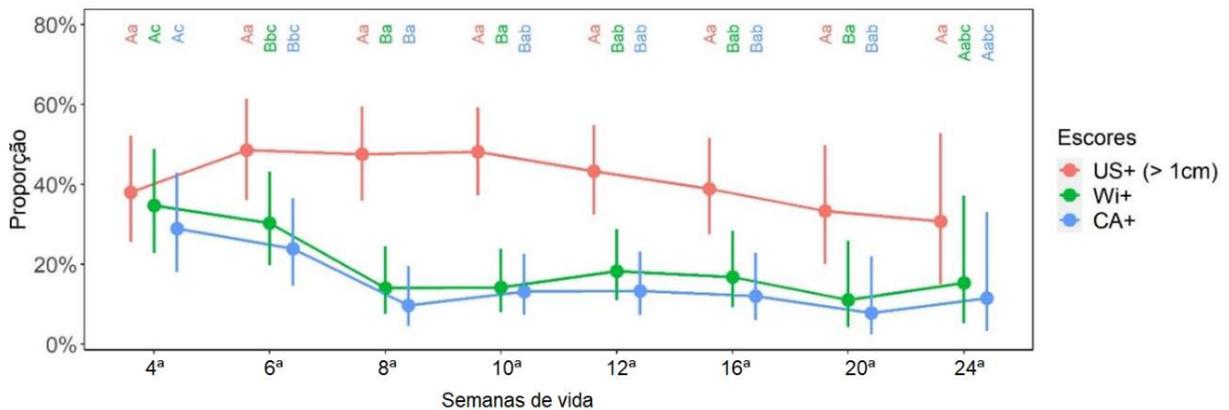


Figura 12: Proporção de casos positivos na Ultrassonografia pulmonar (US+(>1cm)), escore de Wisconsin (WI+) e da Califórnia (CA+) de acordo com semana de avaliação, realizada em um grupo de 193 bezerras Holandesas em uma fazenda leiteira intensiva localizada no Centro-Oeste do Brasil. Letras maiúsculas mostram diferenças entre escores para um mesmo tempo e letras minúsculas mostram diferenças entre tempos para um mesmo escore. Grupos que compartilham pelo menos uma letra não são significativamente diferentes entre si ($P < 0,05$)

Na classificação da saúde respiratória, utilizando as informações em conjunto da ultrassonografia e do escore de WI, na primeira semana de vida 99% (66/67) das bezerras foram saudáveis, escore de WI e ultrassonografia negativos, e 1% (1/67) apresentou pneumonia subclínica, escore de WI negativo e ultrassonografia positiva. Na segunda avaliação, na 4ª semana de vida, a proporção de pneumonia subclínica foi de 28% e aumentou até a 10ª semana de vida, quando representou 42% das avaliações. Posteriormente, os quadros subclínicos reduziram ligeiramente e mantiveram proporções semelhantes até a última avaliação na 24ª semana. Já, a proporção de animais com pneumonia clínica, escore de WI e ultrassonografia positivos, mantiveram-se iguais até a 16ª semana de vida, apresentando ligeira queda nas avaliações seguintes. A doença do trato respiratório superior, escore de WI positivo e ultrassonografia negativa, teve maior frequência na 4ª semana, evoluindo para uma queda até a 8ª semana, elevou-se discretamente na 10ª semana e constante nas demais avaliações (Figura 13).

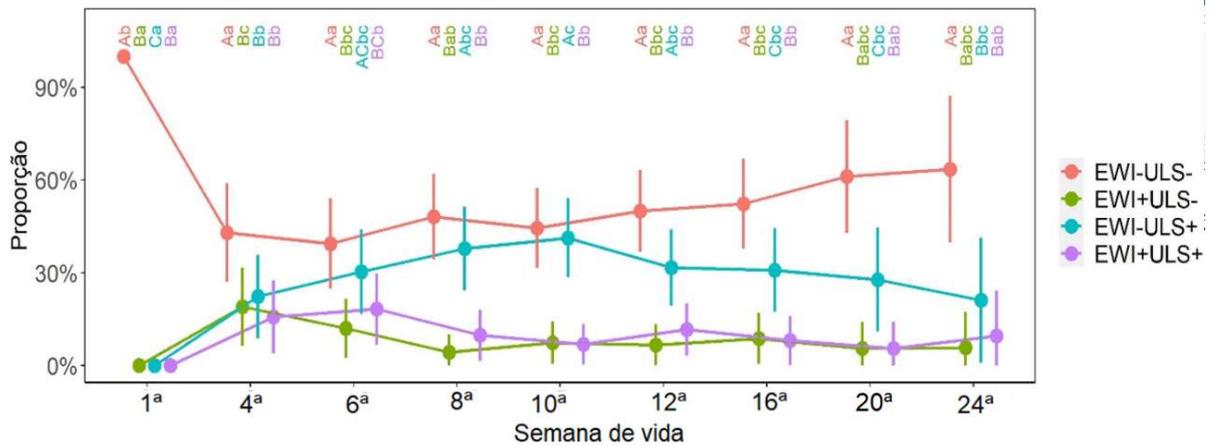


Figura 13: Classificação da doença respiratória de acordo com o resultado das avaliações em conjunto dos resultados da ultrassonografia pulmonar e da avaliação do escore de WI, segundo Ollivett e Buczinsck (2016), realizada em um grupo de 193 bezerras Holandês, da primeira a 24ª semana de vida, em uma fazenda leiteira intensiva localizada no Centro-Oeste do Brasil. EWI +/ULS + , Escore de WI ≥ 5 e Escore de Ultrassom positivo (≥ 1) = pneumonia clínica; EWI -/ULS-, Escore de WI ≤ 4 e Escore de Ultrassom negativo = saudável; EWI +/ULS-, Escore de WI ≥ 5 e Escore de Ultrassom negativo = doença do trato respiratório superior; EWI-/ULS+, Escore de WI ≤ 4 e Escore de Ultrassom positivo (≥ 1)= pneumonia subclínica. Letras maiúsculas mostram diferenças entre escores para um mesmo tempo e letras minúsculas mostram diferenças entre tempos para um mesmo escore. Grupos que compartilham pelo menos uma letra não são significativamente diferentes entre si ($P < 0,05$)

Ao longo do estudo, a partir da avaliação da 4ª semana de vida, não foi observada diferença na proporção de animais saudáveis, em relação a proporção de animais com alguma doença respiratória. Nos animais doentes, houve aumento crescente dos casos de pneumonia subclínica, até a 10ª semana. Isso ocorreu à medida que os animais passaram pelo período de maior incidência de tratamentos para pneumonia. Até a 6ª semana de vida, 59% (113/193) dos animais já haviam recebido seu primeiro tratamento e muitos, mesmo tratados, mantiveram consolidações pulmonares por períodos variáveis. Sendo que 52,3% (83/153) das bezerras tiveram mais de três avaliações positivas na ultrassonografia e na maioria das vezes, em avaliações seguidas, que representa um período de 30 a 45 dias. Com isso, à medida que os animais foram tratados ou passaram pelos momentos de maior incidência de pneumonia, a maioria dos casos se tornaram subclínicos, ou seja, foram identificados apenas no exame ultrassonográfico.

A relação entre apresentação de consolidação pulmonar e a manifestação de sinais clínicos é variável. Isso está relacionado a diversos fatores, como o tempo de infecção pulmonar, a capacidade imune do animal, a patogenicidade do patógeno, o efeito do tratamento, a gravidade do processo, o período de reparação da lesão pulmonar e a cronicidade do processo. Outras pesquisas mostram que a presença da consolidação pulmonar subclínica pode representar de 10

a 80% casos de pneumonia (Ollivett e Buczinski, 2016; Buczinski et al., 2018; Binversie et al. 2020; Cramer e Ollivett, 2019).

O diagnóstico clínico da pneumonia, depende da identificação dos sinais clínicos, que podem ser de origem pulmonar e sistêmica. Já o exame ultrassonográfico, para ser positivo, depende apenas de uma porção pulmonar não aerada em contato com a pleura. Nas primeiras horas do processo de broncopneumonia, ocorre congestão e dilatação dos capilares dos septos alveolares (Caswell e Williams, 2016; Santos e Guedes, 2016). Neste momento, ainda existe ar dentro dos alvéolos e o animal poderá ser identificado apenas no escore de WI caso apresente sinais clínicos. Posteriormente, ocorre a fase de hepatização vermelha, que dura de 2 a 3 dias, e há uma grande quantidade de hemácias dentro dos alvéolos, leucócitos e fibrina. Nos próximos 4 a 5 dias, ocorre a hepatização cinzenta, quando há intensa presença de leucócitos, principalmente neutrófilos, nos alvéolos (Caswell e Williams, 2016, Santos e Guedes, 2016). Nesses dois momentos, o preenchimento dos alvéolos por conteúdo inflamatório permite sua visualização na ultrassonografia como uma área de consolidação pulmonar, se esta porção pulmonar afetada estiver em contato com a pleura.

A presença dos sinais clínicos, durante o processo de pneumonia podem ser decorrentes das lesões pulmonares e podem se manifestar na forma de tosse, taquipneia, estertores respiratórios e dificuldade respiratória. Os outros sinais são de manifestações sistêmica, devido a ação de citocinas e outros mediadores inflamatórios, produzidos no local da infecção pulmonar ou de forma sistêmica, na ocorrência de sepse ou endotoxemia (Bassel e Caswell, 2020). O animal pode apresentar mudanças no comportamento, redução no consumo de alimento, febre, hipotensão, hipercoagulabilidade, produção de proteínas de fase aguda no fígado, liberação de leucócitos na medula e caquexia nos casos crônicos (Caswell e Williams, 2016, Santos e Guedes, 2016). A presença desses sinais clínicos é mais inconstantes que a presença da consolidação pulmonar na ultrassonografia durante o processo de pneumonia, pois dependem da intensidade do estímulo inflamatório local e sistêmico, da capacidade individual do animal em regular essa resposta inflamatória e adaptar seu organismo a essas alterações. Isso pode estar relacionado a baixa capacidade dos escores em identificar animais com pneumonia. Além disso, o diagnóstico clínico depende da interpretação e geralmente da presença de um conjunto de sinais clínicos, como exemplo, no escore de WI é necessária a presença de pelo menos dois sinais clínicos.

A última fase do processo de pneumonia é a de resolução das lesões pulmonares. Nessa fase, os agentes patogênicos, o conteúdo presente nos alvéolos e a fibrina são eliminados, o epitélio alveolar se regenera e o pulmão volta à normalidade morfológica e funcional (Caswell e Williams, 2016, Santos e Guedes, 2016). Este tempo de resolução é variável e depende da natureza e da extensão das lesões. Como exemplo, uma broncopneumonia catarral purulenta discreta entra em fase de resolução entre sete e 10 dias e o pulmão volta ao normal em três a quatro semanas (Caswell e Williams, 2016; Santos e Guedes, 2016). Nesse momento de resolução, até que todas as áreas pulmonares próximas a pleura se tornem aeradas, o animal continua sendo positivo na ultrassonografia. Contudo, geralmente são assintomáticos, pois a infecção pulmonar foi eliminada e o processo inflamatório está reduzido, o que diminui as chances do animal apresentar sinal clínico de origem pulmonar ou sistêmica. Isso pode elevar o número de casos considerados como pneumonia subclínica.

O tempo de resolução ou período de permanência de uma porção pulmonar consolidada nos bovinos, comparado a outras espécies domésticas pode ser ainda maior. A presença de septos interalveolares, que impedem a ventilação colateral entre os alvéolos, dificulta a aeração pulmonar e a drenagem do conteúdo inflamatório, que frequentemente resulta em atelectasia e bronquite com bronquiectasia supurada crônica (Caswell e Williams, 2016; Santos e Guedes, 2016). Além disso, nos casos em que a fase de resolução não evolui de forma satisfatória, facilita a ocorrência de complicações não passíveis de resolução, como fibrose do parênquima pulmonar, necrose do tecido pulmonar e formação de abscessos (Santos e Guedes, 2016). Essas lesões, geram áreas não aeradas permanentes no tecido pulmonar ou que perduram por muito tempo e na maioria das vezes, quando não há grande área pulmonar comprometida e um estímulo inflamatório sistêmico, apresentam-se de forma subclínica, ou seja, são passíveis de serem identificadas na ultrassonografia se estiverem em contato com a pleura e não nos exames de escore clínico. Nesses processos de pneumonia crônica, o bovino pode parecer clinicamente saudável, mesmo apresentando mais de 30% do pulmão comprometido (Bassel et al., 2020).

Por outro lado, mesmo no seu quadro inicial, a pneumonia pode ser subclínica. Binversie et al. (2020) avaliaram um grupo de bezerros duas vezes por semana, a partir dos cinco dias de vida até o desaleitamento, através da ultrassonografia pulmonar e do escore WI. Dos 373 bezerros avaliados, 289 bezerros desenvolveram doença respiratória e no seu primeiro caso, 51,2% tiveram pneumonia subclínica, 29,4% doença do trato respiratório superior e 19,3% pneumonia clínica.

No presente estudo, as avaliações ultrassonográficas foram realizadas de acordo com a idade dos animais, em média a cada duas semanas de vida, por isso, muitos casos de doença respiratória classificados como pneumonia subclínica, foram decorrentes de um mesmo caso de pneumonia, que poderia estar na fase de resolução, momento em que a ultrassonografia é mais eficiente no diagnóstico, por depender apenas de uma porção pulmonar não aerada em contato com a pleura, comparado ao escore de WI, que depende da manifestação de sinais clínicos. Como o exame de ultrassonografia pulmonar, não permite diferenciar uma consolidação pulmonar, que apresenta um processo infeccioso ativo de uma fase de resolução, e essas também não podem ser diferenciadas de forma correta pelo tempo de ocorrência, por este ser variável, no presente estudo todos os casos positivos no ultrassom e negativos no escore de WI, foram considerados pneumonia subclínica e isso pode ter elevado o número de casos.

Outro fator que pode ter influenciado no número de casos de pneumonia subclínica no presente estudo, foram os tratamentos para pneumonia. Como as avaliações ultrassonográficas eram realizadas de acordo com a idade do animal, em alguns casos essas foram realizadas poucos dias após o tratamento para pneumonia. Neste momento, o antibiótico e o anti-inflamatório, estavam agindo diretamente no controle da infecção e da inflamação, o que provavelmente reduziu a manifestação dos sinais clínicos, tornando os animais negativos na avaliação do escore de WI, apesar da presença da lesão pulmonar identificada no exame ultrassonográfico. Até o momento, apenas o trabalho Holschbach et al. (2019), avaliou a relação do tratamento da pneumonia e da consolidação pulmonar diagnosticada por ultrassonografia. Nesse trabalho, após 24 horas da inoculação intratraqueal de *Pastereulla mutocida*, todos os bezerros desenvolveram consolidações pulmonares, destes metade foram tratados com ampicilina e os outros receberam placebo. O tratamento reduziu o número de bezerros com consolidações pulmonares na primeira semana, em relação ao controle, porém, muitos animais voltaram a apresentar consolidações após 14 dias. O escore respiratório de WI foi positivo pelo menos uma vez nos animais dos dois grupos, mas considerando o total de avaliações realizadas nas duas semanas de estudo, apenas 6% das avaliações do grupo tratado e 9% do grupo controle foram positivas. Novamente, um desencontro entre manifestação clínica e a lesão pulmonar, tanto em animais tratados quanto naqueles sem tratamento. No final do experimento, todos os animais do grupo controle e 70% do grupo tratamento tinham consolidações pulmonares. Assim, o antibiótico diminuiu as lesões pulmonares, mas houve recidivas, que foram identificadas apenas com o uso da ultrassonografia. Isso também pode ter ocorrido no presente estudo, já que muitos animais mantiveram consolidações pulmonares por longos períodos ou voltaram a apresentar

consolidações após o tratamento, sem serem positivos no escore de WI no momento da avaliação.

Os trabalhos com infecção pulmonar experimental, acompanhamento diário dos sintomas clínicos e das lesões pulmonares na ultrassonografia, trazem algumas informações no entendimento da relação do processo de pneumonia com essas ferramentas de diagnóstico. Após uma infecção pulmonar, em alguns casos, a ultrassonografia pode ser mais precoce para detectar uma lesão pulmonar do que o exame clínico e traz informações mais precisas sobre a evolução do quadro pulmonar. Ollivett (2014) observou que após duas horas de uma inoculação intratraqueal de uma cepa de *Mannheimia haemolytica*, todos os bezerros desenvolveram consolidações pulmonares após duas horas, que aumentaram até as 24 horas e permaneceram até o 5º dia, quando os animais foram eutanasiados. Já os sinais clínicos, foram mais tardios e não foram representativos da evolução da lesão pulmonar. A hipertermia ($>39,4^{\circ}\text{C}$) foi presente em todos os animais após seis horas, mas após 72 horas praticamente nenhum animal era febril. O escore de WI foi ainda mais inconstante, um animal não foi positivo em nenhum momento e a partir de 24 horas praticamente todos foram negativos. Assim, alguns animais diagnosticados com pneumonia subclínica no presente estudo, poderiam apresentar sinais clínicos nos próximos dias. Ao mesmo tempo, aqueles com pneumonia clínica, poderiam rapidamente se tornarem subclínicos.

Outras pesquisas, já mostram que alguns casos clínicos de pneumonia podem não ser identificados na ultrassonografia, num primeiro momento. Com isso, animais classificados como doença do trato respiratório superior (EWI+US-) no presente estudo, poderiam vir ser diagnosticados com pneumonia nos próximos dias, no exame ultrassonográfico. Ou até mesmo, poderia ser realmente uma doença trato respiratório superior que evolui para o trato respiratório inferior. Bassel et al (2020), em uma inoculação experimental de bezerros com *Mannheimia haemolytica*, relataram que após 12 horas, todos os animais apresentaram febre, a qual permaneceu até o dia final do estudo, 72 horas após inoculação. Já a ultrassonografia mostrou a primeira lesão após 24 horas. A temperatura retal foi um sinal clínico mais precoce que a ultrassonografia e isso pode estar relacionado, ao fato de que para ser identificada na ultrassonografia, a consolidação pulmonar precisa estar em contato com a pleura, na área mais externa do pulmão e como o processo infeccioso iniciou na porção mais interna do pulmão, os sinais clínicos foram mais precoces. Em outro estudo, no qual foram avaliados animais com infecções naturais, Jung e Bostedt (2004) observaram que os casos de broncopneumonia só foram visualizados na ultrassonografia nos quadros moderados e graves da doença.

Então, diferentes fatores podem ter contribuído para as características da doença respiratória no estudo. Logo, na rotina de uma fazenda, a realização do diagnóstico da doença respiratória deve conter informações do exame clínico, exame ultrassonográfico, histórico de tratamentos e de exames anteriores. Isso permite inferir se o animal apresenta doença respiratória do trato respiratório superior, broncopneumonia ou se há a suspeita de uma doença não respiratória, como exemplo a Salmonelose e a Tristeza Parasitária. No caso das pneumonias, os resultados de exames anteriores, podem ajudar a determinar se essa é um caso recente, se já havia sido diagnosticada no exame clínico, a sua gravidade e se essa está ou não respondendo ao tratamento. A partir disso, é possível estabelecer de forma mais assertiva o diagnóstico e o monitoramento de medidas de controle.

7.5 Número de casos tratados para pneumonia no período de bezerreiro e sua relação com a ultrassonografia e o escore respiratório de WI

Durante o estudo, 74% (142/193) das bezerras foram tratadas para pneumonia até o desaleitamento, sendo que 50,2% (97/193) dos animais tiveram um caso, 21,7% (42/193) dois casos e 1,5% (3/193) três casos. Entre as bezerras tratadas, 43,6% (62/142) passaram por apenas um protocolo de antibioticoterapia, 26,7 % (38/142) por dois, 14,8% (20/142) por três, 8,4% (12/142) por quatro e 7,7% (11/142) por cinco ou mais protocolos.

A alta incidência de casos tratados para pneumonia no estudo, foi relacionada ao maior número de dias em diarreia nas primeiras semanas de vida e nos animais que tiveram pior colostragem, representado por menores concentrações de proteína plasmática. Outros fatores, apesar de não terem sido mensurados, estavam presentes e podem ter contribuído. No período de aleitamento, as bezerras permaneceram num galpão, aberto nas laterais, com ventilação natural, em gaiolas individuais dispostas em quatro fileiras. Isto pode ter comprometido a circulação e a renovação do ar, principalmente nas duas fileiras do meio. Apesar da troca das camas terem sido realizadas a cada três dias, geralmente as camas das bezerras mais velhas, apresentavam alta umidade e acúmulo fezes, antes do dia da sua troca, o que provavelmente proporcionou um microambiente com maior produção de gases nocivos ao sistema respiratório. Na dieta líquida das bezerras era utilizado leite de descarte, que apesar de ter seu teor de matéria seca corrigido com a adição de sucedâneo, poderia apresentar menor qualidade nutricional. Por último, o estresse por calor ocorreu em vários momentos devido ao posicionamento do galpão no sentido Norte e Sul. Principalmente na parte da tarde, a maioria dos animais ficavam expostos ao sol e com visível aumento de frequência respiratória.

De acordo com associação americana “*Dairy Calf & Heifer Association*”, o índice de bezerros tratados para doença respiratória até a desmama não deve ser superior a 10% (Young e Rood, 2010). Dados de uma pesquisa realizada em 104 fazendas produtoras de leite nos Estados Unidos, mostram que 19,5% dos bezerros apresentaram doença respiratória antes do desaleitamento. No Brasil, um levantamento em fazendas leiteiras especializadas, encontrou média de 23,5% de doença respiratória em bezerros durante o aleitamento (Azevedo et al., 2020). Outras pesquisas mostram que a ocorrência de doença respiratória em bezerros pode variar de 2,5 a 49,2% (Sivula et al. 1996; Virtala et al., 1996; Gulliksen et al. 2009; Windeyer et al., 2014; Weiller et al. 2020). Esta discrepância entre os trabalhos pode ocorrer em função dos métodos utilizados para definir os casos de doença respiratória, que podem ser baseados na análise de sistemas de escore, observação de produtores, tratamentos para pneumonia, ausculta pulmonar ou ultrassonografia. Outro fato está relacionado ao rebanho avaliado, no qual a doença pode estar menos ou mais presente, dependendo da presença e da intensidade de diferentes fatores de risco.

O número de casos tratados para pneumonia variou ao longo do tempo (Figura 14). Notou-se um pico na 4ª semana de vida, com redução gradual da 6ª até a 12ª semana. Alguns fatores podem justificar esse comportamento. Dentre eles destaca-se a presença de diarreia, que afetou os bezerros principalmente a partir da segunda semana de vida. Outro fator pode estar relacionado ao alto desafio para doença respiratória no rebanho e a queda da imunidade passiva, que possui efeito imunológico protetivo por duas a quatro semanas de vida (Chase e Hurley, 2008; Hulbert e Moisés, 2016). Após esse período, o animal passa por um momento de maior susceptibilidade a infecções, chamada de “janela imunológica”, quando ocorre a queda da proteção da imunidade adquirida pela ingestão do colostro e o animal ainda está desenvolvendo uma resposta imunológica adquirida efetiva (Hulbert e Moisés, 2016).

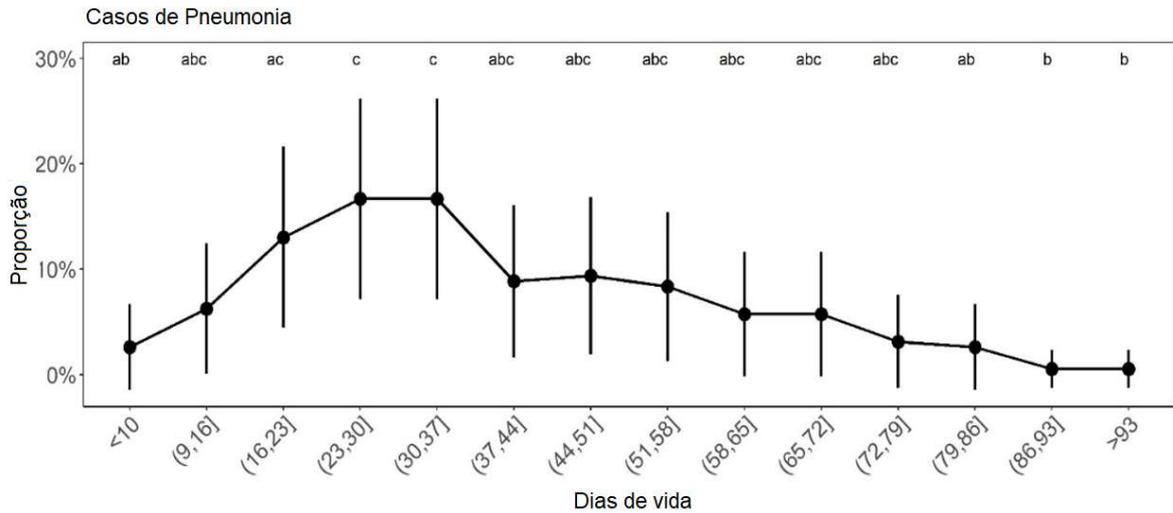


Figura 14: Frequência de casos tratados para pneumonia, diagnosticados pelo funcionário da fazenda, em um grupo de 193 bezerras Holandesas, avaliadas do nascimento ao desaleitamento, em uma fazenda de produção leiteira intensiva localizada no Centro-Oeste do Brasil. Letras minúsculas mostram diferenças entre os tempos para frequência de pneumonia. Grupos que compartilham pelo menos uma letra não são significativamente diferentes entre si ($P < 0,05$)

Além do número elevado de tratamentos para pneumonia, foi visto que 23,2% (45/193) das bezerras apresentaram pelo menos dois casos e 56,3% (80/142) receberam mais de um protocolo de antibioticoterapia no mesmo caso. Estes valores são altos e indica uma baixa eficiência dos protocolos de tratamentos utilizados. Uma provável causa que precisa ser investigada é resistência dos microrganismos às bases dos antibióticos, que são utilizadas a mais de um ano no rebanho estudado. Além disso, a duração do tratamento pode estar muito curta, pois garantiu no máximo quatro dias de ação antibiótica, com as duas aplicações de Amoxicilina e Florfenicol a cada 48 horas. Segundo Aplay (2015), ao revisar o uso de antimicrobianos no tratamento da doença respiratória, verificou que não existe consenso sobre o período mínimo ideal, mas a maioria dos trabalhos apontam melhor eficácia em protocolos que garantem sete dias de ação antibiótica. Outro fator pode ser a baixa capacidade de resposta dos animais ao tratamento e à infecção pulmonar, por estarem num ambiente com alto desafio e sem receber um tratamento de suporte adequado. Nestes casos, poderia ter sido utilizado hidratação oral, que evitaria a desidratação dos animais doentes, ajudaria no controle do equilíbrio ácido base e assim, melhoraria a capacidade de resposta imunológica.

Além disso, o próprio desenho do estudo pode ter influenciado no número de tratamentos para pneumonia, uma vez que a presença de um caso de consolidação pulmonar identificada na ultrassonografia, foi informada ao funcionário responsável pelos tratamentos e isso influenciou diretamente na sua tomada de decisão. Ainda, a ultrassonografia pode ter indicado o tratamento

de muitos animais que não seriam avaliados na rotina do funcionário, pois muitos eram subclínicos ou apresentavam sinais clínicos discretos. Binversie et al. (2020) observaram resultado semelhante, ao monitorar a saúde respiratória de um grupo de bezerras, em duas fazendas com alto desafio para doença respiratória, através da ultrassonografia e do escore de WI. Os autores observaram que até os 60 dias de vida, 80,5% das bezerras foram tratadas e a maioria receberam três protocolos de antibioticoterapia.

Para compreender a relação do tratamento para pneumonia realizado pela fazenda e o resultado do exame ultrassonográfico, foram analisados os exames de 109 bezerras. Estes animais foram selecionados, por serem os que passaram por todas as avaliações realizadas entre a 4^a a 12^a semana de vida. A avaliação da 12^a semana foi usada para verificar se o animal recuperou das lesões pulmonares, ou seja, não apresentou mais consolidação pulmonar no exame ultrassonográfico. Com isso, animais que apresentaram apenas uma avaliação positiva na ultrassonografia na 12^a de vida e que não tinham histórico de tratamento anterior a avaliação da 10^a semana de vida, foram excluídos dessa análise.

Como resultado, foi observado que 15% (17/109) das bezerras não recebeu nenhum tratamento para pneumonia (Figura 15). Porém, 47% (8/17) apresentaram consolidações pulmonares na ultrassonografia em pelo menos uma das avaliações e 25% (2/8) tiveram um escore ultrassonográfico 3, com isso nem sempre os animais positivos na ultrassonografia foram tratados. Provavelmente, isto ocorreu devido à ausência de sinais clínicos, já que apenas quatro destes animais foram positivos no escore de WI no dia que apresentaram consolidação pulmonar. Além disso, a ausência de sinais clínicos, pode estar relacionada ao fato de nenhuma animal ter apresentado escore ultrassonográfico 4 ou 5, que representam uma maior área de consolidação pulmonar e provavelmente quadros clínicos mais evidentes. Na última avaliação, 75% (6/8) das bezerras voltaram a ter uma avaliação negativa na ultrassonografia. Isso mostra, que pode ocorrer recuperação espontânea de uma consolidação pulmonar. DeDonder e Apley, 2015, relataram que a cura da doença respiratória, nem sempre ocorre devido à administração de antibióticos. É esperado, em alguns casos, que o sistema imunológico competente seja bem-sucedido na resposta contra algumas infecções.

Outras bezerras, 84,4% (92/109) foram tratadas para pneumonia. Destas, 65,2% (60/92) tiveram pelo menos uma avaliação positiva na ultrassonografia durante o período de tratamento e a recuperação foi observada em 45% (27/60) dos casos. No grupo de bezerras que recuperaram, 29,6% (8/27) tinham escore >3 no primeiro exame ultrassonográfico próximo ao dia do

tratamento, 44,4% (12/27) apresentaram pelo menos 3 exames positivos e 48,1% (13/27) passaram por pelo menos 2 protocolos de antibioticoterapia. Nos outros 55% (33/60) que não recuperaram, 42,4% (14/33) apresentaram escore ultrassonográfico >3 na primeira avaliação, 72,7% (24/33) receberam pelo menos 2 protocolos de antibioticoterapia e 93,9% (31/33) apresentaram pelo menos 3 exames positivos na ultrassonografia.

No geral, foi observado que apenas metade dos animais tratados apresentou melhora do quadro pulmonar até a 12ª semana de vida. No grupo de animais que não se recuperou, houve maior proporção de animais gravemente afetados na avaliação ultrassonográfica, mais próxima ao dia do tratamento (42,4% x 29,6%). A presença de lesões mais extensas no pulmão, pode ter aumentado o tempo de recuperação ou diminuído a chance de sucesso no tratamento, fazendo com que elas se tornassem crônicas. Nas pneumonias graves, há maior presença de exsudato, fibrina e redução do fluxo sanguíneo, que comprometem a ação do sistema imunológico, a difusão e a ação de antibióticos contra os patógenos envolvidos (Griffin et al., 2010; Lorenz et al., 2011; McGuirk e Peek, 2014), o que dificulta a resolução dos quadros. Na média, 36% dos bezerras apresentaram um escore ultrassonográfico >3 no primeiro dia de tratamento, ou seja, 2 ou mais lobos pulmonares estavam afetados. Isso mostra que no geral, o diagnóstico da pneumonia na fazenda não estava sendo realizado de forma precoce e isso pode ter influenciado negativamente na recuperação dos animais.

Outro ponto a ser destacado foi a persistência da consolidação pulmonar, por pelo menos seis semanas, em 93,9% (31/33) dos animais que não recuperaram e em 44,44% (12/27) dos que recuperaram. Isto mostra que as lesões pulmonares foram presentes por longos períodos, mesmo nos animais que tiveram sucesso no tratamento. Tais fatos, podem estar relacionados tanto à resistência antimicrobiana às drogas utilizadas, a duração do tratamento, ao diagnóstico inicial tardio, a baixa capacidade de resposta imune dos animais e a falta de um tratamento de suporte. Contudo, o tempo ideal para recuperação da consolidação pulmonar após um quadro de pneumonia ainda precisa ser estudado.

Por fim, 29,3% das bezerras (32/110) foram tratadas e não apresentaram avaliações positivas no exame ultrassonográfico, próximo ao dia do tratamento. Isto pode estar relacionado a erro de diagnóstico da pneumonia. Contudo, o dia do tratamento coincidiu apenas em cinco momentos com o exame ultrassonográfico, os outros foram realizados no intervalo entre as coletas. Possivelmente, nestes cinco casos houve fatores de confusão, seja com sinais clínicos de doença do trato respiratório superior ou, até mesmo erro na interpretação dos sinais clínicos

pelo funcionário, que tratou os animais erroneamente para pneumonia. Nos demais momentos isto não pode ser afirmado, pois o tempo de recuperação de uma consolidação pulmonar após tratamento é variável.

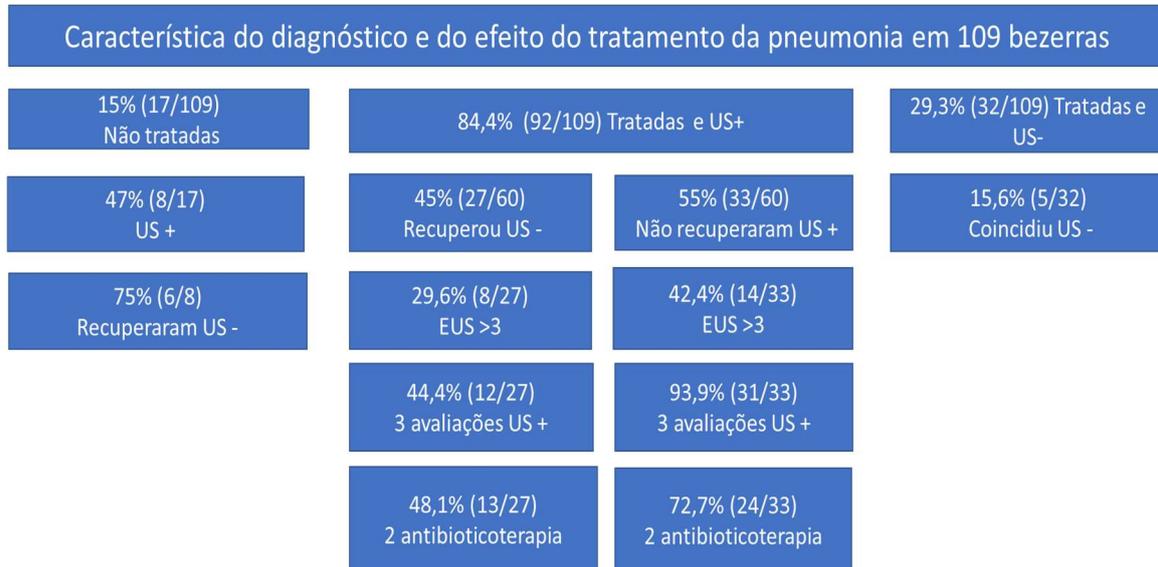


Figura 15: Comparação dos casos de animais não tratados e tratados para pneumonia, com o resultado dos exames de ultrassonografia pulmonar, realizados entre a 4ª e 12ª semana de vida, de 109 bezerras Holandês em uma fazenda de produção leiteira intensiva localizada no Centro-Oeste do Brasil. US+ Exame de ultrassonografia pulmonar positivo, US- Exame ultrassonografia pulmonar negativo, ESC>3 somatórios de exames ultrassonográficos com escore ultrassonográfico 4 e 5. Recuperaram US- voltou apresentar um exame ultrassonográfico negativo na 12ª semana de vida e US+ manteve o exame ultrassonográfico positivo

7.6 Relação do escore de WI com a ultrassonografia pulmonar

A concordância do escore de WI com a Ultrassonografia pulmonar foi muito baixa em todos os períodos de avaliação, índice *kappa* variou de 0,091 a 0,219 (Tabela 8). Isso foi provocado, principalmente, pela baixa capacidade do método de Escore WI identificar animais positivos na ultrassonografia. Tal fato fica evidente no resultado da sua sensibilidade, que variou de 20,2 a 39,2%, nos períodos de avaliação. Estes casos, positivos na ultrassonografia e não identificados no escore de WI, foram os considerados subclínicos e representaram 31% (356/1159) das avaliações durante o estudo.

A melhor relação dos dois métodos foi na fase inicial do bezerreiro (BI), nas avaliações da 1ª a 6ª semana de vida, com acurácia do escore de WI de 66,7%, sensibilidade de 39,1%, especificidade de 81,4% e concordância de 0,219. Isto ocorreu devido à dinâmica da distribuição dos casos de pneumonia clínica e subclínica no rebanho avaliado. Na fase BI ocorreram a maioria dos primeiros casos de pneumonia e provavelmente maior número de casos

agudos da doença, os quais foram identificados tanto pelo método de WI, devido a maior possibilidade de alterações clínicas, quanto na ultrassonografia, pela presença de consolidações pulmonares. Posteriormente, a relação entre os dois métodos diminuiu e isto se deu pelo aumento do número de casos de consolidações pulmonares subclínicas, oriundas de animais em fase de resolução da lesão pulmonar, após o tratamento, ou com lesões crônicas pouco relacionadas a manifestação de sintomas clínicos e até mesmo novos casos que se apresentaram como subclínicos.

Apesar da baixa sensibilidade, a especificidade do escore de WI foi alta em todos os períodos e variou de 81,4 a 88,9%. Com isso, o escore de WI falhou em identificar animais positivos na ultrassonografia, mas não indicou muitos falsos positivos. Estes poucos casos falsos positivos, foram considerados como doença do trato respiratório superior, 93 avaliações com escore de WI positivo e ultrassonografia negativa, como descrito na classificação da doença respiratória proposta por Olivett e Buczinski (2016). Apesar dessa sugestão, muitos destes podem ter sido provocados por outras doenças não respiratórias, que alteraram os sinais clínicos utilizados na avaliação do Escore de WI. Possivelmente isso ocorreu em 37,7% (35/93) das avaliações e foi provocado principalmente por tristeza parasitária bovina, já que em 26% (25/93) das vezes os animais apresentaram esfregaços positivos (15/25 Anaplasmose e 10/25 Babesiose) e em menor número, 6% (6/93), por outras enfermidades não respiratórias (3/Otite, 1/Onfalite, 2/Salmonelose).

Outros trabalhos, que avaliaram a relação do escore de WI com a ultrassonografia pulmonar, como no presente estudo, também encontraram valores de sensibilidade mais baixos que a especificidade. Love et al. (2015) observaram sensibilidade de 46,0% e especificidade de 87,4%, para identificar casos de pneumonia diagnosticada através da ultrassonografia e/ou auscultação pulmonar. O resultado foi bem próximo ao do presente trabalho, mas o uso da auscultação pulmonar para definir um caso positivo pode ter elevado a sensibilidade de escore WI, porque animais com estertor pulmonar, possuem pneumonia clínica e provavelmente mais chance de apresentarem outros sinais clínicos. No trabalho de Andrade (2017), utilizando apenas a ultrassonografia pulmonar como diagnóstico da pneumonia, observou sensibilidade do escore de WI de 33% e especificidade de 92%. Porém a região cranial do pulmão não foi avaliada na ultrassonografia e provavelmente houve falhas em identificar alguns casos positivos. No entanto, o autor comparou os resultados do escore do WI com a radiografia torácica, que avaliou toda a região pulmonar e as lesões iniciais mais internas, possivelmente não vistas na ultrassonografia, e observou sensibilidade de 25% e especificidade de 94%,

demonstrando, que o método de escore de WI teve eficácia semelhante frente a ultrassonografia e à radiografia. Já Buczinski et al. (2014), que também não avaliaram a região cranial do pulmão na ultrassonografia, o escore de WI apresentou sensibilidade de 55% e uma especificidade de 58%, ao avaliar 106 bezerras no período de aleitamento, de 13 fazendas leiteiras no Canadá.

No geral, o escore de WI apresenta menor sensibilidade e maior especificidade, contudo podem ocorrer variações consideráveis. Por isso, antes da utilização do método é importante entender a dinâmica da doença no rebanho avaliado e determinar qual a real eficácia do escore de WI. Por exemplo, se houver muitos animais com consolidações pulmonares assintomáticas a sensibilidade vai ser baixa. Por outro lado, se o rebanho avaliado tiver muitos animais com doença do trato respiratório superior e/ou outras doenças ou fatores, que provoquem alterações nos parâmetros avaliados no sistema de escore de WI, os resultados de especificidade serão mais baixos. Assim, o resultado do escore de WI e ultrassonográficos, devem ser avaliados em conjunto para que seja entendido a real dinâmica da doença respiratória no rebanho.

O escore de WI foi desenvolvido para ser utilizado em bezerros no período de aleitamento. Além disso, todos os trabalhos publicados até o momento, avaliaram sua eficácia em rebanhos que apresentavam a doença respiratória, como principal enfermidade. No presente trabalho a sua eficácia foi avaliada no período de recria, 12^a a 24^a semana, quando a principal doença era a Tristeza Parasitária e sua eficácia foi muito semelhante ao período de aleitamento. Com isso, os fatores presentes na recria, como um menor controle da temperatura ambiente, infestação de carrapatos, maior presença de moscas e a Tristeza Parasitária, que poderiam provocar alterações na apresentação dos parâmetros avaliados no sistema de escore de WI, pouco interferiram na sua eficácia comparado ao período de bezerreiro.

Tabela 8: Análises de Acurácia, Sensibilidade, Especificidade e Concordância (índice *Kappa*) do escore de WI em relação à ultrassonografia pulmonar, de acordo com o período de avaliação, em um estudo com 193 bezerras Holandesas, avaliadas da primeira a 24ª semana de vida, em fazenda de exploração leiteira intensiva localizada no Centro-Oeste do Brasil

Período	Acurácia	Sensibilidade	Especificidade	Kappa
Bezerreiro inicial (BI)	66,70%	39,10%	81,40%	0,219
Bezerreiro final (BF)	56,80%	20,20%	88,50%	0,091
Bezerreiro (BG)	62,60%	26,30%	84,90%	0,125
Total de coletas (TA)	61,60%	25,10%	86,30%	0,125
Recria (RC)	64,50%	21,20%	88,70%	0,113

7.7 Distribuição das consolidações pulmonares de acordo com o lobo pulmonar

Nas 466 avaliações ultrassonográficas que apresentaram consolidações pulmonares, 25,5% (119/466) apresentaram consolidações em ambos os pulmões, 72,7% (339/466) apenas no pulmão direito e 1,7% (8/466) apenas no pulmão esquerdo. Através da ultrassonografia de ambos os pulmões, foi possível realizar a classificação correta no sistema de escore ultrassonográfico e obter informações sobre a gravidade do processo. Contudo, de acordo com a distribuição das consolidações observadas no estudo, a não avaliação do pulmão esquerdo não seria um grande problema, se a opção fosse apenas detectar casos positivos ou negativos. Buczinsk et al (2014) também encontraram menores proporções de lesões somente no pulmão esquerdo, em 15,1% do total, mas não foi avaliaram a região mais cranial do pulmão direito, o que pode ter interferido no resultado.

Na localização das consolidações pulmonares, por lobo pulmonar, a porção cranial do lobo cranial direito foi a mais afetada. Das avaliações ultrassonográficas positivas, 88% (410/466) apresentavam consolidações pulmonares neste lobo e quase metade, 43% (201/466), se restringiam a essa região. Isso mostra a importância da avaliação dessa região, para evitar exames falso negativos na ultrassonografia. Assim, o uso de transdutores lineares, largamente

utilizados para avaliações reprodutivas, permitem a avaliação dos dois primeiros espaços intercostais, aumentando a sensibilidade do diagnóstico ultrassonográfico. A maior ocorrência de lesões nessa porção pulmonar pode estar ligada a origem das pneumonias em bovinos, que na sua maioria são por via aerógena e os primeiros lobos afetados são os craniais, principalmente a porção cranial do lobo cranial direito, fato também observado por outros autores (Ollivett 2014; Ollivett e Buczinski, 2016). Ollivett et al. (2015), observaram que quatro de cinco bezerros com pneumonia subclínica, após uma infecção intratraqueal experimental com *Mannheimia haemolytica*, as consolidações ocorreram apenas na porção cranial do lobo cranial direito.

A localização mais cranial do lobo cranial direito, faz com que este lobo se torne o primeiro ponto de parada dos patógenos vindo das vias aéreas superiores. Além disso, sua aeração é realizada pelo brônquio traqueal, que se encontra cranial à bifurcação da traqueia, na posição ventro-lateral e possui um diâmetro relativamente pequeno, com aproximadamente 5 mm, podendo ser ainda menor nos bezerros (Dyce et al., 2010; Dagleish et al 2010). Este diâmetro reduzido e sua posição em um plano vertical, em comparação aos brônquios principais, torna sua depuração mucociliar mais difícil, por não ser auxiliada pela gravidade. Além disso, o muco depurado dos outros lobos pode entrar no brônquio traqueal, pois são transportados na direção da traqueia (Dagleish et al 2010), favorecendo a instalação de pneumonias nessa região.

Nos bezerros antes do desaleitamento, o exame ultrassonográfico da porção cranial do lobo pulmonar cranial direito foi fácil. Com o avançar da idade e o desenvolvimento da musculatura do membro torácico, o acesso da probe ficou mais difícil e aos seis meses de vida ainda foi possível, mas com maior dificuldade. Estes resultados estão de acordo com o limite de idade para avaliação desta região, relatada por Ollivett e Buczinski (2016).

O segundo lobo pulmonar mais afetado por consolidação, foi a porção caudal do lobo cranial direito com 39% (182/466) das lesões, seguido pelo lobo médio 23% (105/466), parte caudal do lobo cranial esquerdo 19% (88/466), parte cranial do lobo cranial esquerdo 16% (74/466) e por último os lobos caudais, esquerdo 5% (23/466) e direito 4% (21/466). Os lobos caudais foram os menos afetados e apenas 1,0% (5/466) das avaliações apresentaram lesões exclusivas nestes lobos. Nos outros casos as lesões começaram nos lobos craniais e se estenderam até os lobos caudais. Assim, num exame simples para critério de rastrear a categoria mais acometida por consolidação, o lobo caudal poderia ser excluído da análise, para dar mais agilidade ao exame. Contudo, no exame individual, sua avaliação é necessária, principalmente em animais

com baixo desempenho, pois permite identificar se as lesões dos lobos craniais evoluíram até o lobo caudal ou se há lesões crônicas neste lobo, que caracterizam um pior prognóstico. Além disso, a sua avaliação deve ser feita em casos de suspeita de verminose pulmonar, cujas consolidações começam na porção caudal do pulmão. Essa distribuição das consolidações observadas neste estudo foi diferente da relatada por Ollivett e Buczinski (2016), em que o lobo médio foi o segundo mais afetado, seguido pela parte caudal do lobo cranial esquerdo, aspecto caudal do lobo cranial direito e raramente no aspecto cranial dos lobos cranianos esquerdos e nos lobos pulmonares caudais.

7.8 Relação da doença respiratória até 24^a semanas de idade com o ganho de peso e índices reprodutivos até os 19 meses de vida.

O ganho de peso médio diário foi associado negativamente com o aumento do número de espaços intercostais com lesões >1cm no período de BI ($y=0,63-0,044x$; $R^2=0,05$, $P=0,002$), BG ($y=0,85-0,038x$; $R^2=0,027$; $P=0,011$), RC ($y=0,86-0,055x$; $R^2=0,02$; $P=0,02$) e TA ($y=0,86-0,04x$; $R^2=0,025$; $P=0,001$). O escore de WI positivo, foi associado ao menor ganho de peso no período BG ($y=0,84-0,15x$; $R^2=0,02$; $P=0,015$) e TA ($y=0,84-0,14x$; $R^2=0,016$; $P=0,004$) (Figura 16). No geral, animais positivos nos dois métodos de diagnóstico foram associados a menor ganho de peso, o que mostra efeito negativo da doença respiratória sobre o desempenho dos animais.

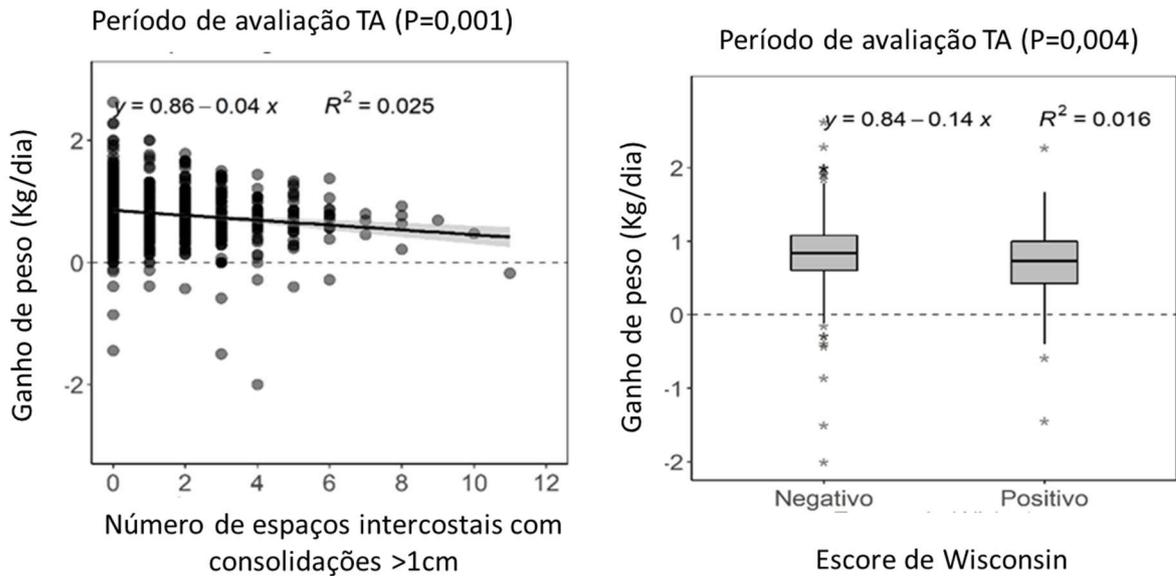


Figura 16: Relação do número médio de espaços intercostais com consolidações pulmonares >1cm, avaliadas através da ultrassonografia pulmonar, e de ser positivo ou negativo no escore de Wisconsin, com o ganho de peso (Kg/dia) durante o período de avaliações TA (primeira a 24ª semana de vida), de um grupo de 193 bezerras Holandês em uma fazenda de exploração leiteira intensiva localizada no Centro-Oeste do Brasil

Este efeito já foi relatado por outros autores, utilizando como critério de avaliação o número de tratamentos para doença respiratória realizada por produtores (Donovan et al., 1998), exames clínicos padronizados em sistemas de escore (Virtala et al, 1996; Stanton *et al.* 2012) e no diagnóstico ultrassonográfico (Cramer e Olivett, 2019). Contudo, diferente do que foi publicado até o momento, o presente estudo evidenciou que existe uma relação da gravidade da lesão pulmonar sobre o ganho de peso, pois quanto maior foi número de espaços intercostais com consolidações pulmonares na ultrassonografia, menor foi o ganho de peso. O número de espaços intercostais com lesões >1cm teve efeito positivo no tempo até atingir o peso de 370Kg (R^2 0,12; $P=0,001$) (Figura 17). Então foi observado que os animais com lesões pulmonares ganharam menos peso nos primeiros seis meses de vida e não ocorreu ganho compensatório posterior. Isto significou maior chance de atraso na entrada desses animais na reprodução, pois um dos critérios adotados na fazenda era o peso mínimo de 370 kg.

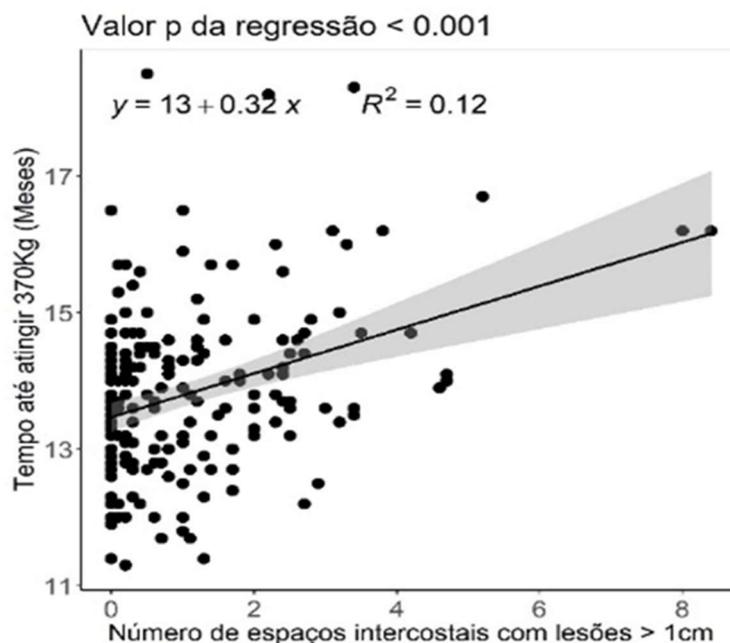


Figura 17: Relação do número médio de espaços intercostais com consolidações pulmonares >1cm, avaliadas através da ultrassonografia pulmonar da primeira a 24ª semana de vida, e o tempo até atingir 370 kg, de um grupo 193 bezerras Holandesas em uma fazenda de exploração leiteira intensiva localizada no Centro-Oeste do Brasil

Outro efeito investigado foi a relação da doença respiratória nos primeiros seis meses de vida sobre concepção. Para isso, foram avaliados os dados de 119 novilhas, que estavam prenhes na última coleta de informações do rebanho, e em média, foram necessárias 1,98 inseminações (1-6; DP 1,17) para se tornarem prenhes. Não foram encontradas evidências de relação entre o número médio de espaços intercostais com consolidações >1cm ($P=0,613$), valores médios no escore de WI ($P=0,32$) ou número de casos de pneumonia no período de bezerreiro ($P=0,471$), com a concepção da primeira prenhez. Este efeito pode não ter sido observado, pela padronização realizada pela fazenda de peso mínimo de 370Kg para entrada na reprodução. Neste momento, os animais são semelhantes e já podem ter se recuperado dos efeitos negativos da doença respiratória, ocorrida nos primeiros meses de vida. Além disso, os animais gravemente afetados podem não ter sobrevivido até primeira inseminação.

Diferente do presente trabalho, Teixeira et al. (2017) realizaram uma avaliação ultrassonográfica pontual, aos dois meses de vida, em 613 bezerras Holandesas e observaram menor risco de prenhez (HR = 0,7, IC 95% = 0,6 a 0,8; $P = 0,006$) nos animais que apresentaram consolidação pulmonar >1 cm. A diferença deste resultado com o observado no presente estudo é que esses autores, realizaram apenas uma avaliação e provavelmente estes animais poderiam

ter tido outros momentos com consolidações pulmonares ao longo dos seis meses de vida, o que não foi avaliado.

8 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O diagnóstico da doença respiratória em rebanhos bovinos é um desafio, devido sua sintomatologia variada e inespecífica. Com isso, métodos de diagnóstico baseados apenas na avaliação física do animal, estão sujeitos a erros interpretativos e na maioria das vezes permite apenas classificá-la de forma genérica, por não ser possível diferenciar de forma clara, uma afecção do trato respiratório superior de uma do trato respiratório inferior. Isso causa erros na caracterização da doença na fazenda ou na tomada de decisões, já que doenças do trato respiratório superior geralmente são autolimitantes.

Não há um método diagnóstico capaz de trazer todas as respostas e, por isso, é necessária a associação de métodos com características diferentes. Assim, o uso do escore de WI e da ultrassonografia pulmonar são uma opção e ambos são de fácil execução. O método de escore de WI, pode indicar a presença de uma doença respiratória clínica e a ultrassonografia pode diferenciar se esta é do trato respiratório superior ou uma pneumonia clínica. Além disso, por não depender da apresentação de sinais clínicos, como o método de escore, a ultrassonografia pode identificar pneumonias subclínicas.

Nesse sentido, o diagnóstico da pneumonia no rebanho fica mais preciso, já que a pneumonia subclínica pode representar a maioria dos casos, destacando a importância do diagnóstico ultrassonográfico. O uso sistemático dessa ferramenta permite identificar com mais exatidão a intensidade dos problemas em um rebanho, qual a categoria mais afetada, além de ajudar a monitorar a recuperação dos animais doentes, a gravidade das lesões pulmonares e a resposta ao tratamento. Mas, para isso, a avaliação ultrassonográfica deve ser acompanhada de informações adicionais e do exame físico do animal, que pode ser realizado através do escore de WI e da CA.

A presença de uma pneumonia subclínica, caso positivo na ultrassonografia e negativo no escore de WI, deve ser interpretada juntamente com histórico de tratamento ou dos diagnósticos anteriores do animal. Isso permite caracterizar a alteração pulmonar, que pode ser uma pneumonia subclínica, por influência de um tratamento recente, pode ser uma lesão crônica ou mesmo um caso recente subclínico, já que o ultrassom mostra apenas a presença de uma lesão pulmonar e cabe ao veterinário interpretar o motivo da sua ocorrência.

Ainda faltam pesquisas para esclarecer algumas dúvidas sobre o uso da ultrassonografia. O tempo de recuperação de uma consolidação pulmonar, observada no exame ultrassonográfico foi bem variado no presente estudo e muitas vezes permaneceu por período superior a quatro semanas. Contudo, pelas pesquisas realizadas até o momento ainda não está bem estabelecido se isso é algo realmente preocupante. Com isso, a realização de trabalhos em diferentes situações, para estabelecer um padrão de normalidade poderia ajudar nesse entendimento e isso também forneceria informações para que se estabeleça metas para proporção de animais acometidos por consolidação pulmonar nas diferentes categorias.

A ultrassonografia, pode auxiliar no diagnóstico diferencial de algumas doenças que causam distúrbios respiratórios. No presente estudo, isso ficou evidente nos casos de Salmonelose septicêmica, que diferente de um caso de broncopneumonia, caracterizado pela presença de consolidações pulmonares, os animais apresentaram caudas de cometa difusas, em mais de um lobo pulmonar, evidenciando edema intersticial. Isso permite iniciar um tratamento mais específico e identificar casos suspeitos de forma precoce nas fazendas.

Além do diagnóstico, outro desafio na doença respiratória é identificar os fatores de risco envolvidos, devido seu caráter multifatorial. Como observado neste estudo, houve uma relação significativa da transferência de imunidade passiva e dos dias em diarreia com a doença, contudo essa relação foi baixa. Isso significa que há vários fatores envolvidos e que ainda precisam ser verificados.

Por exemplo, no galpão onde as bezerras permaneciam na fase de aleitamento, era percebido odor forte, que quando se aproximava da cama das bezerras. A preocupação com a qualidade do ar, é dada principalmente em sistemas de criação de galpões fechados nos países subtropicais. Contudo, pesquisas devem ser realizadas para verificar qual a real qualidade do ar nos nossos sistemas de criação e da necessidade de implementar um sistema de ventilação.

9 CONCLUSÕES

- O uso da ultrassonografia pulmonar e associada aos métodos de escore permitem caracterizar e quantificar a doença respiratória em bezerras. Destacando o número de animais acometidos por doença respiratória do trato respiratório superior, pneumonia clínica e pneumonia subclínica, de maior ocorrência.

- A doença respiratória possui caráter multifatorial e sua frequência, apresenta relação discreta com a piora na eficiência na transferência de imunidade passiva e com o aumento no número de dias em diarreia.
- O menor ganho de peso até aos seis meses de idade e maior chance de mortalidade está associada a presença da doença respiratória no rebanho.
- Durante o exame ultrassonográfico do pulmão de bezerros é importante a avaliação de toda a área pulmonar, principalmente a parte cranial do lobo cranial direito por ser a mais afetada.

10 REFERÊNCIAS

ABUTARBUSH, S. M.; POLLOCK, C. M.; WILDMAN, B. K.; et al. Evaluation of the diagnostic and prognostic utility of ultrasonography at first diagnosis of presumptive bovine respiratory disease Résumé Study facilities. v. 2, p. 23–32, 2012.

ACKERMANN, M. R.; DERSCHEID, R.; ROTH, J. A. Innate immunology of bovine respiratory disease. *Vet. Clin. North Am. - Food Anim. Pract.*, v. 26, n. 2, p. 215–228, 2010.

ADAMS, E. A.; BUCZINSKI, S. Short communication: Ultrasonographic assessment of lung consolidation postweaning and survival to the first lactation in dairy heifers. *J. Dairy Sci.*, v. 99, n. 2, p. 1465–1470, 2016.

ADAMS, E. A.; BUCZINSKI, S. Short communication: Ultrasonographic assessment of lung consolidation postweaning and survival to the first lactation in dairy heifers. *J. Dairy Sci.*, p. 1–6, 2016.

ALY, S. S.; LOVE, W. J.; WILLIAMS, D. R.; et al. Agreement between bovine respiratory disease scoring systems for pre-weaned dairy calves. *Anim. Heal. Res. Rev.*, v. 15, n. 2, p. 148–150, 2014.

AMARAL, B. C. DO; CONNOR, E. E.; TAO, S.; et al. Heat stress abatement during the dry period influences metabolic gene expression and improves immune status in the transition period of dairy cows. *J. Dairy Sci.*, v. 94, n. 1, p. 86–96, 2011.

ANDRADE, J. P. *Métodos de diagnóstico na avaliação pulmonar de bezerros*. 76f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) -Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2017.

APLEY, M. Treatment of Calves with Bovine Respiratory Disease Duration of Therapy and Posttreatment Intervals. *Vet. Clin. North Am. - Food Anim. Pract.*, v. 31, n. 3, p. 415–453, 2015.

ARMENGOL, R.; FRAILE, L. Colostrum and milk pasteurization improve health status and decrease mortality in neonatal calves receiving appropriate colostrum ingestion. *J. Dairy Sci.*, v. 99, n. 6, p. 4718–4725, 2016.

ASSIS BRASIL, N. D.; HINNAH, F. L.; FISS, L.; et al. Doenças respiratórias em bezerros na região sul do Rio Grande do Sul: Estudo retrospectivo de 33 surtos. *Pesqui. Vet. Bras.*, v. 33, n. 6, p. 745–751, 2013.

AZEVEDO, R. A.; Teixeira, A, M.; Bittar, C. M.M. et al. Padrão ouro de criação de bezerras leiteiras. 1ª ed, Minas Gerais-Uberaba, 30 p., 2020.

BABKINE, M.; BLOND, L. Ultrasonography of the Bovine Respiratory System and Its Practical Application. *Vet. Clin. North Am. - Food Anim. Pract.*, v. 25, n. 3, p. 633–649, 2009.

BABU, L. K.; PANDEY, H.; PATRA, R. C.; et al. Hemato-biochemical changes, disease incidence and live weight gain in individual versus group reared calves fed on different levels of milk and skim milk. *Anim. Sci. J.*, v. 80, n. 2, p. 149–156, 2009.

BACH, A. Associations between several aspects of heifer development and dairy cow survivability to second lactation. *J. Dairy Sci.*, v. 94, n. 2, p. 1052–1057, 2011. a

BACH, A.; TEJERO, C.; AHEDO, J. Effects of group composition on the incidence of respiratory afflictions in group-housed calves after weaning. *J. Dairy Sci.*, v. 94, n. 4, p. 2001–2006, 2011. b

BARRY, J.; BOKKERS, E. A. M.; BERRY, D. P.; et al. Associations between colostrum management, passive immunity, calf-related hygiene practices, and rates of mortality in preweaning dairy calves. *J. Dairy Sci.*, v. 102, n. 11, p. 10266–10276, 2019.

BASKERVILLE, A. Mechanisms of infection in the respiratory tract. *N. Z. Vet. J.*, v. 29, n. 12, p. 235–238, 1981.

BASSEL, L. L.; TABATABAEI, S.; CASWELL, J. L. Host Tolerance to Infection with the Bacteria that Cause Bovine Respiratory Disease. *Vet Clin North Am Food Anim Pract.*, v. 32, n 2, p. 349-359, 2020.

BERMAN, J.; FRANCOZ, D.; DUFOUR, S.; et al. Bayesian estimation of sensitivity and specificity of systematic thoracic ultrasound exam for diagnosis of bovine respiratory disease in pre-weaned calves. *Prev. Vet. Med.*, v. 162, 2019.

BINVERSIE, E. S.; RUEGG, P. L.; COMBS, D. K.; et al. Randomized clinical trial to assess the effect of antibiotic therapy on health and growth of preweaned dairy calves diagnosed with respiratory disease using respiratory scoring and lung ultrasound. *J. Dairy Sci.*, v. 103, n. 12, p. 11723–11735, 2020.

BLOND, L.; BUCZINSKI, S. Basis of Ultrasound Imaging and the Main Artifacts in Bovine Medicine. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.*, v. 25, n. 3, p. 553–565, 2009.

BORDERAS, T., A. DE PASSILLÉ, A.; RUSHEN, J. Behavior of dairy calves after a low dose of bacterial endotoxin. *J. Anim. Sci.* v. 86, p.2920-2927, 2008.

BRAUN, U.; PUSTERLA, N.; FLÜCKIGER, M. Ultrasonographic findings in cattle with pleuropneumonia. *Vet. Rec.*, v. 141, n. 1, p. 12–7, 1997.

BREEZE, R. Structure, function, and metabolism in the lung. *Vet Clin North Am Food Anim Pr.*, v. 1, n. 2, p. 219–235, 1985.

BUCZINSKI, S.; BORRIS, M. E.; DUBUC, J. Herd-level prevalence of the ultrasonographic lung lesions associated with bovine respiratory disease and related environmental risk factors. *J. Dairy Sci.*, v. 101, n. 3, p. 2423–2432, 2018. a

BUCZINSKI, S.; BUATHIER, C.; BÉLANGER, A. M.; et al. Inter-rater agreement and reliability of thoracic ultrasonographic findings in feedlot calves, with or without naturally occurring bronchopneumonia. *J. Vet. Intern. Med.*, v. 32, n. 5, p. 1787–1792, 2018. b

BUCZINSKI, S.; FORTÉ, G.; FRANCOZ, D.; et al. Comparison of thoracic auscultation, clinical score, and ultrasonography as indicators of bovine respiratory disease in preweaned dairy calves. *J. Vet. Intern. Med.*, v. 28, n. 1, p. 234–242, 2014.

BUCZINSKI, S.; L OLLIVETT, T.; DENDUKURI, N. Bayesian estimation of the accuracy of the calf respiratory scoring chart and ultrasonography for the diagnosis of bovine respiratory disease in pre-weaned dairy calves. *Prev. Vet. Med.*, v. 119, n. 3–4, p. 227–231, 2015.

BUCZINSKI, S.; MÉNARD, J.; TIMSIT, E. Incremental Value (Bayesian Framework) of Thoracic Ultrasonography over Thoracic Auscultation for Diagnosis of Bronchopneumonia in Preweaned Dairy Calves. *J. Vet. Intern. Med.*, v. 30, n. 4, p. 1396–1401, 2016.

BUCZINSKI, S.; PARDON, B. Bovine Respiratory Disease Diagnosis: What Progress Has Been Made in Clinical Diagnosis? *Vet. Clin. North Am. - Food Anim. Pract.*, v. 36, n. 2, p. 399–423, 2020.

BUHMAN, M. J.; PERINO, L. J.; GALYEAN, M. L.; et al. Association between changes in eating and drinking behaviors and respiratory tract disease in newly arrived calves at a feedlot. *Am. J. Vet. Res.*, v. 61, n. 10, p. 1163–1168, 2000.

CALDERÓN-AMOR, J.; GALLO, C. Dairy calf welfare and factors associated with diarrhea and respiratory disease among chilean dairy farms. *Animals*, v. 10, n. 7, p. 1–16, 2020.

CALLAN, R. J.; GARRY, F. B. Biosecurity and bovine respiratory disease. *Vet. Clin. Food. Anim.*, v. 18, n. January 2015, p. 57–77, 2002.

CALVO-LORENZO, M. S.; HULBERT, L. E.; FOWLER, A. L.; et al. Wooden hutch space allowance influences male Holstein calf health, performance, daily lying time, and respiratory immunity. *J. Dairy Sci.*, v. 99, n. 6, p. 4678–4692, 2016.

CARLSON, G. P. E; BRUSS, M. Fluid, electrolyte and acid-base balance, p.529-559. In: Kaneko J.J. Ed. *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*. 6^a ed. Academic Press, San Diego, 2008.

CARPENTER, G. A. Dust in Livestock Buildings-Review of Some Aspects. *J. agric. Engng Res.*, v. 33, p. 227-24, 1986.

CARVALHO, A. H. O.; SILVA, F. A.; DAHER, D. O.; et al. Efeito do sistema de produção de leite sobre a estabilidade enzoótica para *Anaplasma marginale* e *Babesia bovis* em bezerras na região do Campo das Vertentes de Minas Gerais, Brasil. *Semin. Agrar.*, v. 33, n. 1, p. 323–332, 2012.

CASWELL, J. L.; HEWSON, J.; SLAVIĆ, D.; et al. Laboratory and Postmortem Diagnosis of Bovine Respiratory Disease. *Vet. Clin. North Am. - Food Anim. Pract.*, v. 28, n. 3, p. 419–441, 2012.

CASWELL, J. L.; WILLIAMS, K. J. Respiratory System. in Pathology of domestic animals. 6 ed. Ontário, Elsevier, vol. 2, p 486-485, 2015.

CHASE, C. C. L.; HURLEY, D. J.; REBER, A. J. Neonatal Immune Development in the Calf and Its Impact on Vaccine Response. *Vet. Clin. North Am. - Food Anim. Pract.*, v. 24, n. 1, p. 87–104, 2008.

COELHO, L. C. T. Dissertação apresentada à Escola de Veterinária da UFMG como requisito parcial para a obtenção de grau de Mestre em Medicina Veterinária. Área de Concentração : Clínica e Cirurgia Veterinárias Orientador : Antônio Último de Carvalho Belo Horizonte Escola. 2007. 65 f. Universidade Federal de Minas Gerais, 2007.

COELHO, S. G. Caderno técnico Criação de bezerras. v. 53, n. 81, p. 1689–1699, 2016.

COELHO, S. G. Criação De Bezerros. *II Simpósio Mineiro Buiatria.*, p. 1–16, 2005.

COOPER, V. L.; BRODERSEN, B. W. Respiratory disease diagnostics of cattle. *Vet. Clin. North Am. - Food Anim. Pract.*, v. 26, n. 2, p. 409–416, 2010.

COSTA, J. H. C.; KEYSERLINGK, M. A. G. VON; WEARY, D. M. Invited review: Effects of group housing of dairy calves on behavior, cognition, performance, and health. *J. Dairy Sci.*, v. 99, n. 4, p. 2453–2467, 2016.

COUTINHO, A. D. E. S. Mannheimiose pneumônica experimentalmente induzida em bezerros pela *Mannheimia (Pasteurella) haemolytica* A1- cepa D153: achados do exame físico, hemograma e swabs nasal e nasofaríngeo. 2004. 186f. Dissertação de Mestrado, Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

COUTINHO, A. DE S.; OLIVEIRA FILHO, J. P. DE; SILVA, D. P. G. DA; et al. Mannheimiose pulmonar experimental em bezerros: swab nasal e nasofaríngeo como auxílio diagnóstico. *Pesqui. Vet. Bras.*, v. 29, n. 1, p. 83–88, 2009.

COUTINHO, A. S. Complexo das doenças respiratórias de bezerros, p. 1–19, 2005.

COX, D. R. Regression models and lifetables. *Journal of the Royal Statistical Society: Series B (Methodological)*, v.34, n.2, p. 187-202, 1972

CRAMER, M. C.; OLLIVETT, T. L. Growth of preweaned, group-housed dairy calves diagnosed with respiratory disease using clinical respiratory scoring and thoracic ultrasound—A cohort study. *J. Dairy Sci.*, v. 102, n. 5, p. 4322–4331, 2019.

CURTIS, C. R.; SCARLETT, J. M.; ERB, H. N. et al. Path model of individual-calf risk factors for calthood morbidity and mortality in New York Holstein herds. *Prev. Vet. Med.*, v. 6, n. 1, p. 43–62, 1988.

CUTTANCE, E. L.; MASON, W. A.; LAVEN, R. A. et al. The relationship between failure of passive transfer and mortality, farmer-recorded animal health events and body weights of calves

from birth until 12 months of age on pasture-based, seasonal calving dairy farms in New Zealand. *Vet. J.* v. 236, p. 4–11, 2018.

DAGLEISH, M. P.; FINLAYSON, J.; BAYNE, C.; et al. Characterization and time course of pulmonary lesions in calves after intratracheal infection with *Pasteurella multocida* A:3. *J. Comp. Pathol.*, v. 142, n. 2–3, p. 157–169, 2010.

DAVIS, C. L.; DRACKLEY, J. K. The development, nutrition, and management of young calf: Iowa: State University, p. 339, 1998.

DEDONDER, K. D.; APLEY, M. D. A Review of the Expected Effects of Antimicrobials in Bovine Respiratory Disease Treatment and Control Using Outcomes from Published Randomized Clinical Trials with Negative Controls. *Vet. Clin. North Am. - Food Anim. Pract.*, v. 31, n. 1, p. 97–111, 2015.

DEXHEIMER NETO, F. L.; DALCIN, P. T. R.; CASSIANO, T.; et al. Ultrassom pulmonar em pacientes críticos: uma nova ferramenta diagnóstica. *J Bras Pneumol*, v. 38, n. 2, p. 246–256, 2012.

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

DONOVAN, G. A.; DOHOO, I. R.; MONTGOMERY, D. M.; et al. Associations between passive immunity and morbidity and mortality in dairy heifers in Florida, USA. *Devel. and Comp. Immunol.* v. 34, p. 31–46, 1998.

DRACKLEY, J. K. Calf Nutrition from Birth to Breeding. *Vet. Clin. North Am. - Food Anim. Pract.*, v. 24, n. 1, p. 55–86, 2008.

DRIESSCHE VAN, L.; VALGAEREN, B. R.; GILLE, L.; et al. A Deep Nasopharyngeal Swab Versus Nonendoscopic Bronchoalveolar Lavage for Isolation of Bacterial Pathogens from Preweaned Calves With Respiratory Disease. *J. Vet. Intern. Med.*, v. 31, n. 3, p. 946–953, 2017.

DROST, W. T. Physics of Ultrasound Imaging, p.38 - 49. In: Thrall D.E. (Ed.), *Textbook of veterinary diagnostic radiology*. 6 ed. Saunders Elsevier, Philadelphia, p.847, 2013.

DUBROVSKY, S. A.; EENENNAAM, A. L. VAN; KARLE, B. M.; et al. Bovine respiratory disease (BRD) cause-specific and overall mortality in preweaned calves on California dairies: The BRD 10K study. *J. Dairy Sci.*, v. 102, n. 8, p. 7320–7328, 2019.

DUNN, T. R.; OLLIVETT, T. L.; RENAUD, D. L.; et al. The effect of lung consolidation, as determined by ultrasonography, on first-lactation milk production in Holstein dairy calves. *J. Dairy Sci.*, v. 101, n. 6, p. 5404–5410, 2018.

DYCE, K. M.; WENSING, C. J. G.; SACK, W. O. **Tratado de anatomia veterinária**. 4 ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2010.

EARLEY, B.; BUCKHAM SPORER, K.; GUPTA, S. Invited review: Relationship between cattle transport, immunity and respiratory disease. *Animal*, v. 11, n. 3, p. 486–492, 2017.

ELSOHABY, I.; MCCLURE, J. T.; WAITE, L. A.; et al. Using serum and plasma samples to assess failure of transfer of passive immunity in dairy calves. *J. Dairy Sci.*, v. 102, n. 1, p. 567–577, 2019.

ENGEN, N. K. VAN; COETZEE, J. F. Effects of transportation on cattle health and production: A review. *Anim. Heal. Res. Rev.*, v. 19, n. 2, p. 142–154, 2018.

FARROW, C. S. Bovine pneumonia. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.*, v. 15, n. 2, p. 301–358, 1999.

FERREIRA, L. O. *Perfil bioquímico e eletrolítico, equilíbrio ácido-base e transferência de imunidade passiva de bezerras oriundas de partos eutócicos e distócicos*. 80f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) -Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2012.

FERREIRA, L. Perfil Bioquímico E Eletrolítico, Equilíbrio Ácido-Base E Transferência De Imunidade.2012. 80f. Dissertação ade Mestrado, Escola de Veterinária, Universidade de Minas Gerais, Belo Horizonte.

FLÖCK, M. Diagnostic ultrasonography in cattle with thoracic disease. *Vet. J.*, v. 167, n. 3, p. 272–280, 2004.

FRANCOZ, D.; BUCZINSKI, S.; BÉLANGER, A. M.; et al. Respiratory Pathogens in Quebec Dairy Calves and Their Relationship with Clinical Status, Lung Consolidation, and Average Daily Gain. *J. Vet. Intern. Med.*, v. 29, n. 1, p. 381–387, 2015.

FREITAS, M.D. *Avaliação dos parâmetros clínicos e laboratoriais de bezerras com diarreia neonatal naturalmente adquiridas*. 2009. 85 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2009.

GAETA, N. C.; LIMA, S. F.; TEIXEIRA, A. G.; et al. Deciphering upper respiratory tract microbiota complexity in healthy calves and calves that develop respiratory disease using shotgun metagenomics. *J. Dairy Sci.*, p. 1–14, 2017.

GODDEN, S. M.; FETROW, J. P.; FEIRTAG, J. M.; et al. Economic analysis of feeding pasteurized nonsaleable milk versus conventional milk replacer to dairy calves. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, v. 226, n. 9, p. 1547–1554, 2005.

GODOY, C. L. B.; PELLEGRINI, L. C.; SANTAROSA, I. M. et al. Medicina veterinária. Caderno didático, Santa Maria : Ed. da Universidade Federal de Santa Maria, p. 130, 2007.

GONÇALVES, P. M. Epidemiologia e controle da tristeza parasitária bovina na região sudeste do Brasil. *Ciência Rural*, v. 30, n. 1, p. 187–194, 2000.

GONÇALVES, R. C. O Sistema Respiratório Na Sanidade De Bezerros. *Ciência Anim. Bras.*, v. 1, p. 1–18, 2009.

GONÇALVES, R. C.; KUCHEMUCK, M. R. G.; CURI, P. R.; et al. Diferenciação Clínica da Broncopneumonia Moderada e Grave em Bezerros. *Ciênc. Rural*, v. 31, n. 2, p. 263–269, 2001.

GONÇALVES, R. C.; LISBÔA, J. A. N.; SOUSA, M. V. DE; et al. Aspectos clínicos e epidemiológicos da broncopneumonia dos bezerros em Botucatu, SP. *Rev. Bras. Ciência Veterinária*, v. 7, n. 3, p. 144–147, 2000.

GONÇALVES, R.C. *Semiologia do sistema respiratório*. In: FEITOSA, F.L.F. *Semiologia veterinária: a arte do diagnóstico*. São Paulo: Roca, 2004. cap.7, p.313-331.

GORDEN, P. J.; PLUMMER, P. Control, management, and prevention of bovine respiratory disease in dairy calves and cows. *Vet. Clin. North Am. - Food Anim. Pract.*, v. 26, n. 2, p. 243–259, 2010.

GOUDA, S. M. Ultrasonography as a decision-making tool for respiratory affected calves. *J. Anim. Heal. Prod.*, v. 3, n. 2, p. 43–47, 2015.

GRIFFIN, D.; CHENGAPPA, M. M.; KUSZAK, J.; et al. Bacterial pathogens of the bovine respiratory disease complex. *Vet. Clin. North Am. - Food Anim. Pract.*, v. 26, n. 2, p. 381–394, 2010.

GUIMARÃES, L. S. P. e HIRAKATA, V. N. Uso do Modelo de Equações de Estimativas Generalizadas na análise de dados longitudinais. *Revista HCPA*, v. 32, n. 4, p. 503-511, 2012.

GUTERBOCK, W. M. The impact of BRD: The current dairy experience. *Anim. Heal. Res. Rev.*, v. 24, n. 6, 2014.

HOLSCHBACH, C. L.; RAABIS, S. M.; OLLIVETT, T. L. Effect of antibiotic treatment in preweaned Holstein calves after experimental bacterial challenge with *Pasteurella multocida*. *J. Dairy Sci.*, v. 102, n 12, p. 11359–11369, 2019.

HOLT, S. D. Ambient Temperature, Calf Intakes, and Weight Gains on Preweaned Dairy Calves. 2014.38f. Dissertação de Mestrado, Utah State University, Utah.

HULBERT, L. E.; MOISÁ, S. J. Stress, immunity, and the management of calves. *J. Dairy Sci.*, v. 99, n. 4, p. 3199–3216, 2016.

JACKSON, P. G. G.; COCKCROFT, P. D. *Clinical examination of farm animals*. Ed. Blackwell Science, ed1 p. 65-80, 2002.

JENSEN, M. B.; LARSEN, L. E. Effects of level of social contact on dairy calf behavior and health. *J. Dairy Sci.*, v. 97, n. 8, p. 5035–5044, 2014.

JUNG, C.; BOSTEDT, H. Thoracic ultrasonography technique in newborn calves and description of normal and pathological findings. *Vet. Radiol. Ultrasound*, v. 45, n. 4, p. 331–335, 2004.

KAPLAN, E. L. e MEIER, P. Nonparametric estimation from incomplete observations. *Journal of the American statistical association*, v. 53, n. 282, p. 457-481, 1958.

KARLE, B. M.; MAIER, G. U.; LOVE, W. J.; et al. Regional management practices and prevalence of bovine respiratory disease in California's preweaned dairy calves. *J. Dairy Sci.*, v. 102, n. 8, p. 7583–7596, 2019.

KAUFMAN, J.; LININGTON, M.; OSBORNE, V. R.; *et al.* COmmunication Brève : Étude de terrain des concentrations d'ammoniac dans l'air des micro-environnements d'hébergement des veaux laitiers de l'Ontario. *Can. J. Anim. Sci.*, v. 95, n. 4, p. 539–542, 2015.

KELLER A, *et al.* Empirical statistical model to estimate the accuracy of peptide identifications made by MS/MS and database search. *Anal Chem* 2002;74: 5383e92.

KESSLER, R.H. ; SCHENK., M.A.M.. Carrapato, tristeza parasitária e tripanossomose dos bovinos. Campo Grande : EMBRAPA- CNPGC , . 157p. 1985.

LAGO, A.; MCGUIRK, S. M.; BENNETT, T. B.; *et al.* Calf Respiratory Disease and Pen Microenvironments in Naturally Ventilated Calf Barns in Winter. *J. Dairy Sci.*, v. 89, n. 10, p. 4014–4025, 2006.

LANGONI, H.; LINHARES, A. C.; AVILA, F. A. *et al.* Contribuição ao estudo da etiologia da diarreia em bezerros recém-nascidos leiteiros no Estado de São Paulo, Brasil. *Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.*, V.41, p.313-319, 2004.

LARSON, M. M. Ultrasound of the Thorax (Noncardiac). *Vet. Clin. North Am. - Small Anim. Pract.*, v. 39, n. 4, p. 733–745, 2009.

LIU, S.; MA, J.; LI, J.; *et al.* Effects of pair versus individual housing on performance, health, and behavior of dairy calves. *Animals*, v. 10, n. 1, 2020.

LOMBARD, J. E.; GARRY, F. B.; TOMLINSON, S. M.; *et al.* Impacts of dystocia on health and survival of dairy calves. *J. Dairy Sci.*, v. 90, n. 4, p. 1751–1760, 2007.

LORD, P. F. Alveolar lung diseases in small animals and their radiographic diagnosis. *J. of Small Anim. Pract.*, v. 17, n. 5, p. 283–303, 1976.

LORENZ, I.; EARLEY, B.; GILMORE, J.; *et al.* Calf health from birth to weaning. III. housing and management of calf pneumonia. *Ir. Vet. J.*, v. 64, n. 1, p. 14, 2011.

LOUIE, A. P.; ROWE, J. D.; LOVE, W. J.; *et al.* Effect of the environment on the risk of respiratory disease in preweaning dairy calves during summer months. *J. Dairy Sci.*, v. 101, n. 11, p. 10230–10247, 2018.

LOVE, W. J.; LEHENBAUER, T. W.; KASS, P. H.; *et al.* Development of a novel clinical scoring system for on-farm diagnosis of bovine respiratory disease in pre-weaned dairy calves. *PeerJ*, v. 2, p. e238, 2014.

LUNDBORG, G. K.; OLTENACU, P. A.; MAIZON, D. O.; *et al.* Dam-related effects on heart girth at birth, morbidity and growth rate from birth to 90 days of age in Swedish dairy calves. *Prev. Vet. Med.*, v. 60, n. 2, p. 175–190, 2003.

LUNDBORG, G. K.; SVENSSON, E. C.; OLTENACU, P. A. Herd-level risk factors for infectious diseases in Swedish dairy calves aged 0-90 days. *Prev. Vet. Med.*, v. 68, n. 2–4, p. 123–143, 2005.

LYNCH, E. M.; MCGEE, M.; DOYLE, S.; *et al.* Effect of post-weaning management practices on physiological and immunological responses of weaned beef calves. *Irish J. Agric. Food Res.*, v. 50, n. 2, p. 161–174, 2011.

- MACHADO NETO, R.; FARONI, C. E.; PAULETTI, P.; et al. Levantamento do manejo de bovinos leiteiros recém-nascidos: desempenho e aquisição de proteção passiva. *Rev. Bras. Zootec.*, v. 33, n. 6, p. 2323–2329, 2004.
- MAC-VEAN, D. W.; FRANZEN, D.K.; KEEFE, T.J. et al. Airborne particle concentration and meteorologic conditions associated with pneumonia incidence in feedlot cattle. *Am. J. Vet. Res.*, v.47, p.2676–2682, 1986.
- MAHENDRAN, S. A.; BOOTH, R.; BURGE, M.; et al. Randomised positive control trial of NSAID and antimicrobial treatment for calf fever caused by pneumonia. *Vet. Rec.*, v. 181, n. 2, p. 45, 2017.
- MAIER, G. U.; LOVE, W. J.; KARLE, B. M.; et al. Management factors associated with bovine respiratory disease in preweaned calves on California dairies: The BRD 100 study. *J. Dairy Sci.*, v. 102, n. 8, p. 7288–7305, 2019.a
- MAIER, G. U.; ROWE, J. D.; LEHENBAUER, T. W.; et al. Development of a clinical scoring system for bovine respiratory disease in weaned dairy calves. *J. Dairy Sci.*, v. 102, n. 8, p. 7329–7344, 2019. b
- MANG, A. V.; BUCZINSKI, S.; BOOKER, C. W.; et al. Evaluation of a computer-aided lung auscultation system for diagnosis of bovine respiratory disease in feedlot cattle. *J. Vet. Intern. Med.*, v. 29, n. 4, p. 1112–1116, 2015.
- MASSEAU, I.; FECTEAU, G.; BRETON, L. *et al.* Radiographic detection of thoracic lesions in adult cows: A retrospective study of 42 cases (1995-2002). *Canadian Vet. J.*, v. 49, n. 3, p. 261–267, 2008.
- MASSELLI, I. B. *Manual básico de ultrassonografia*. Departamento de Diagnóstico por Imagem da UNIFESP, p. 1–39, 2013.
- MATKOVIC, K.; VUCEMILO, M.; VINKOVIC, B.; et al. Effect of microclimate on bacterial count and airborne emission from dairy barns on the environment. *Ann. Agric. Environ. Med.*, v. 13, n. 2, p. 349–354, 2006.
- MCCONNELL, C. S.; NELSON, D. D.; BURBICK, C. R.; et al. Clarifying dairy calf mortality phenotypes through postmortem analysis. *J. Dairy Sci.*, v. 102, n. 5, p. 4415–4426, 2019.
- MCGAVIN, M. D.; ZACHARY, J. F. *Pathologic Basis of Veterinary Disease*. ed. 4, Mosby, p. 1476, 2007.
- MCGUIRK E PEEK. Timely diagnosis of dairy calf respiratory disease using a standardized scoring system. *Anim. Heal. Res. Rev.*, v. 15, n. 2, p. 145–147, 2014.
- MCGUIRK, S. M. Disease Management of Dairy Calves and Heifers. *Vet. Clin. North Am. - Food Anim. Pract.*, v. 24, n. 1, p. 139–153, 2008.
- MEE, J. F. Newborn dairy calf management. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.*, v. 24, n. 1, p. 1–17, 2008.

- MELO, I. O. *Perfil laboratorial longitudinal de bezeros com anaplasnose experimental*. 2018. 86f. Dissertação de Mestrado, Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.
- MELO, V. S. P.; PASSOS, L. M. F.; FACURY FILHO, E. et al. Natural infection of calves by *Anaplasma marginale* in dairy herds of the Metalúrgica Region, Minas Gerais. *Pes. Vet. Bras.*, v.21, p.146-150, 2001.
- MENDONÇA, C. L. DE; VIEIRA, D.; KOHAYAGAWA, A.; et al. Avaliação clínica e hematológica em bezeros Nelore infectados experimentalmente com isolados de *Babesia bigemina* das regiões Sudeste, Nordeste e Norte do Brasil. *Pesqui. Veterinária Bras.*, v. 23, n. 2, p. 52–60, 2003.
- MIOT, H. A. Tamanho da amostra em estudos clínicos e experimentais. *Jornal Vascular brasileiro*, v.10, n.4, 2011
- MURRAY, C. F.; LESLIE, K. E. Newborn calf vitality: Risk factors, characteristics, assessment, resulting outcomes and strategies for improvement. *Vet. J.*, v. 198, n. 2, p. 322–328, 2013.
- NAYLOR, J.M. A retrospective study of the relationship between clinical signs and severity of acidosis in diarrheic calves. *Can. J. Vet. Res.*, v.30, n.9, p.577-580, 1989.
- ODORE, R.; D'ANGELO, A.; BADINO, P.; et al. Road transportation affects blood hormone levels and lymphocyte glucocorticoid and β -adrenergic receptor concentrations in calves. *Vet. J.*, v. 168, n. 3, p. 297–303, 2004.
- OLLIVETT, T. L. How Does Housing Influence Bovine Respiratory Disease in Dairy and Veal Calves? *Vet. Clin. North Am. - Food Anim. Pract.*, v. 36, n. 2, p. 385–398, 2020.
- OLLIVETT, T. L. Understanding the diagnosis and risk factors for respiratory disease in dairy calves, 2014 153f. PhD Thesis. University of Guelph, Guelph, ON, Canada.
- OLLIVETT, T. L.; BUCZINSKI, S. On-Farm Use of Ultrasonography for Bovine Respiratory Disease. *Vet. Clin. North Am. - Food Anim. Pract.*, v. 32, n. 1, p. 19–35, 2016.
- OLLIVETT, T. L.; CASWELL, J. L.; NYDAM, D. V.; et al. Thoracic Ultrasonography and Bronchoalveolar Lavage Fluid Analysis in Holstein Calves with Subclinical Lung Lesions. *J. Vet. Intern. Med.*, v. 29, n. 6, p. 1728–1734, 2015.
- OUELLET, V.; LAPORTA, J.; DAHL, G. E. Late gestation heat stress in dairy cows: Effects on dam and daughter. *Theriogenology*, v. 150, p. 471–479, 2020.
- PANCIERA, R. J.; CONFER, A. W. Pathogenesis and pathology of bovine pneumonia. *Vet. Clin. North Am. - Food Anim. Pract.*, v. 26, n. 2, p. 191–214, 2010.
- PARDON, B.; BUCZINSKI, S. Bovine Respiratory Disease Diagnosis: What Progress Has Been Made in Infectious Diagnosis? *Vet. Clin. North Am. - Food Anim. Pract.*, v. 36, n. 2, p. 425–444, 2020.

- PARDON, B.; BUCZINSKI, S.; DEPREZ, P. R. Accuracy and inter-rater reliability of lung auscultation by bovine practitioners when compared with ultrasonographic findings. *Vet. Rec.*, v. 185, n. 4, p. 820, 2019.
- PARDON, B.; CALLENS, J. M.; ALLAIS, W. V. P.; et al. Pathogen-specific risk factors in acute outbreaks of respiratory disease in calves. *J. Dairy Sci.*, v. 103, n. January, p. 2556–2566, 2020.
- PEÑA, G.; RISCO, C.; KUNIHIRO, E.; et al. Effect of housing type on health and performance of preweaned dairy calves during summer in Florida. *J. Dairy Sci.*, v. 99, n. 2, p. 1655–1662, 2016.
- PEREZ, E.; NOORDHUIZEN, J. P. T. M.; WUIJKHUISE, L. A. VAN; et al. Management factors related to calf morbidity and mortality rates. *Livest. Prod. Sci.*, v. 25, n. 1–2, p. 79–93, 1990.
- PHILLIPS, C. J. C.; PINES, M. K.; LATTE, M.; et al. The physiological and behavioral responses of steers to gaseous ammonia in simulated long-distance transport by ship. *J. Anim. Sci.*, v. 88, n. 11, p. 3579–3589, 2010.
- PLESSERS, E.; WYNS, H.; WATTEYN, A.; et al. Characterization of an intravenous lipopolysaccharide inflammation model in calves with respect to the acute-phase response. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, v. 163, n. 1–2, p. 46–56, 2015.
- POPESKO, Peter. Atlas de anatomia topográfica dos animais domésticos. 5. ed. ed. Barueri: Manole, p. 605, 2012.
- R CORE TEAM. 2019. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.
- RABELING, B.; REHAGE, J.; DÖPFER, D.; et al. Ultrasonographic findings in calves with respiratory disease. *Vet. Rec.*, v. 143, n. 17, p. 468–71, 1998.
- RADOSTITS, O.M.; GAY, C.C.; HINCHCLIFF, K.W.; et al. *Veterinary Medicine: A textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs and goats*. 10 ed. Oxford, UK, Saunders Elsevier, 2007, 1737p.
- REGEV-SHOSHANI, G.; VIMALANATHAN, S.; PREMA, D. et al. Safety, Bioavailability and Mechanism of Action of Nitric Oxide to Control Bovine Respiratory Disease Complex in Calves Entering a Feedlot. *Res. Vet. Sci.*, v. 96, n. 2, p. 328–337, 2014.
- REINHOLD, P.; RABELING, B.; GÜNTHER, H.; et al. Comparative evaluation of ultrasonography and lung function testing with the clinical signs and pathology of calves inoculated experimentally with *Pasteurella multocida*. *Vet. Rec.*, v. 150, n. 4, p. 109–14, 2002.
- ROSSINI, K.; MCGILLIARD, M.; JAMES, R.; et al. Effects of CalfhooD Respiratory and Digestive Disease on CalfhooD Morbidity and First Lactation Production and Survival Rates. p. 69, 2004.
- SACCO, A. M. S. Controle/Profilaxia da Tristeza Parasitária Bovina. *Comun. Técnicos Embrapa*, v. 38, p. 1–3, 2001.

SANTOS, R.M.; GUEDES, R. M. C. Sistema respiratório. *In* Patologia veterinária. 2. ed. Rio de Janeiro: Roca, 856p. 2016.

SCHAEFER, A. L.; COOK, N. J.; BENCH, C.; et al. The non-invasive and automated detection of bovine respiratory disease onset in receiver calves using infrared thermography. *Res. Vet. Sci.*, v. 93, n. 2, p. 928–935, 2012.

SCHAEFER, A. L.; COOK, N. J.; CHURCH, J. S.; et al. The use of infrared thermography as an early indicator of bovine respiratory disease complex in calves. *Res. Vet. Sci.*, v. 83, n. 3, p. 376–384, 2007.

SCOTT, P. R. Clinical presentation, auscultation recordings, ultrasonographic findings and treatment response of 12 adult cattle with chronic suppurative pneumonia: case study. *Ir. Vet. J.*, v. 66, n. 1, p. 5, 2013.

SHIVLEY, C. B.; LOMBARD, J. E.; URIE, N. J.; et al. Preweaned heifer management on US dairy operations: Part II. Factors associated with colostrum quality and passive transfer status of dairy heifer calves. *J. Dairy Sci.*, v. 101, n. 10, p. 9185–9198, 2018.

SIVULA, N. J.; AMES, T. R.; MARSH, W. E.; et al. Descriptive epidemiology of morbidity and mortality in Minnesota dairy heifer calves. *Prev. Vet. Med.*, v. 27, n. 95, p. 15–171, 1996.

SOBSEY, M. D.; MESCHKE, J. S. Virus survival in the environment with special attention to survival in sewage droplets and other environmental of fecal or respiratory origin. *Rep. World Heal. Organ. Geneva, Switz.*, p. 70 pages, 2003.

SRIKUMARAN, S.; KELLING, C. L.; AMBAGALA, A. Immune evasion by pathogens of bovine respiratory disease complex. *Anim. Health Res. Rev.*, v. 8, n. 2, p. 215–229, 2007.

STANTON, A. L.; KELTON, D. F.; LEBLANC, S. J.; et al. The effect of respiratory disease and a preventative antibiotic treatment on growth, survival, age at first calving, and milk production of dairy heifers. *J. Dairy Sci.*, v. 95, n. 9, p. 4950–4960, 2012.

STOKKA, G. L. Prevention of respiratory disease in cow/calf operations. *Vet. Clin. North Am. - Food Anim. Pract.*, v. 26, n. 2, p. 229–241, 2010.

STREETER, R. N.; STEP, D. L. Diagnostic Ultrasonography in Ruminants. *Vet. Clin. North Am. - Food Anim. Pract.*, v. 23, n. 3, p. 541–574, 2007.

STULL, C. L.; MC, V. M. L. L.; COLLAR, C. A.; et al. Precipitation and temperature effects on mortality and lactation parameters of dairy cattle in California. *J Dairy Sci*, v. 91, n. 12, p. 4579–4591, 2008.

SVENSSON, C.; LUNDBORG, K.; EMANUELSON, U.; et al. Morbidity in Swedish dairy calves from birth to 90 days of age and individual calf-level risk factors for infectious diseases. *Prev. Vet. Med.*, v. 58, n. 3–4, p. 179–197, 2003.

TAO, S.; BUBOLZ, J. W.; AMARAL, B. C. DO; et al. Effect of heat stress during the dry period on mammary gland development. *J. Dairy Sci.*, v. 94, n. 12, p. 5976–5986, 2011.

TAO, S.; DAHL, G. E. Invited review: Heat stress effects during late gestation on dry cows and their calves. *J. Dairy Sci.*, v. 96, n. 7, p. 4079–4093, 2013.

- TAO, S.; MONTEIRO, A. P. A.; THOMPSON, I. M.; et al. Effect of late-gestation maternal heat stress on growth and immune function of dairy calves. *J. Dairy Sci.*, v. 95, n. 12, p. 7128–7136, 2012.
- TAYLOR, J. D.; FULTON, R. W.; LEHENBAUER, T. W.; et al. The epidemiology of bovine respiratory disease: What is the evidence for predisposing factors? *Can. Vet. J.*, v. 51, n. 3, p. 1095–102, 2010.
- TEIXEIRA, A. G. V.; MCART, J. A. A.; BICALHO, R. C. Thoracic ultrasound assessment of lung consolidation at weaning in Holstein dairy heifers: Reproductive performance and survival. *J. Dairy Sci.*, v. 100, n. 4, p. 2985–2991, 2017.
- THEURER, M. E.; ANDERSON, D. E.; WHITE, B. J.; et al. Effect of *Mannheimia haemolytica* pneumonia on behavior and physiologic responses of calves during high ambient environmental temperatures. *J. Anim. Sci.*, v. 91, n. 8, p. 3917–3929, 2013.
- THRALL, D. E. *The Canine and Feline Lung* p. 608-632 In: Thrall D.E. (Ed.), *Textbook of veterinary diagnostic radiology*. 6^a ed. Saunders Elsevier, Philadelphia, p.847, 2013.
- TIDWELL, A. S. Ultrasonography of the Thorax (Excluding the Heart). *Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.*, v. 28, n. 4, p. 993–1015, 1998.
- TIMSIT, E.; ASSIÉ, S.; QUINIOU, R.; et al. Early detection of bovine respiratory disease in young bulls using reticulo-rumen temperature boluses. *Vet. J.*, v. 190, n. 1, p. 136–142, 2011.
- TIMSIT, E.; DENDUKURI, N.; SCHILLER, I.; et al. Diagnostic accuracy of clinical illness for bovine respiratory disease (BRD) diagnosis in beef cattle placed in feedlots: A systematic literature review and hierarchical Bayesian latent-class meta-analysis. *Prev. Vet. Med.*, v. 135, p. 67–73, 2016.
- TIMSIT, E.; WORKENTINE, M.; MEER, F. VAN DER; et al. Distinct bacterial metacommunities inhabit the upper and lower respiratory tracts of healthy feedlot cattle and those diagnosed with bronchopneumonia. *Vet. Microbiol.*, v. 221, n. June, p. 105–113, 2018.
- TYLER, J. W.; HANCOCK, D. D.; PARISH, S.M. et al. Evaluation of 3 assays for failure of passive transfer calves. *J. Vet. Intern. Med.*, v.10, p. 304–307, 1996.
- USDA. Dairy 2014. *Heal. Manag. Pract.* U.S. Dairy Oper. 2014, n. August, 2018.
- VANDERMEULEN, J.; BAHR, C.; JOHNSTON, D.; et al. Early recognition of bovine respiratory disease in calves using automated continuous monitoring of cough sounds. *Comput. Electron. Agric.*, v. 129, p. 15–26, 2016.
- VERSCHOOTEN, F.; OYAERT, W.; DRUBBEL, R. Radiographic Diagnosis of Lung Diseases in Cattle. v. 15, p.49-59, 1974.
- VERVLOET, L. A.; CAMARGOS, P. A. M.; SOARES, D. R. F. et al. Clinical, radiographic and hematological characteristics of *Mycoplasma pneumoniae* pneumonia. *J. Pediatr.*, v. 86, n. 6, p. 480–487, 2010.

VIRTALA, A. M., G. D.; MECHOR, Y. T.; GROHN et al. Epidemiologic and pathologic characteristics of respiratory tract disease in dairy heifers during the first three months of life. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* v. 208, p. 2035–2042, 1996.

VIRTALA, A.-M. K.; MECHOR, G. D.; GRÖHN, Y. T.; et al. The Effect of Calthood Diseases on Growth of Female Dairy Calves During the First 3 Months of Life in New York State. *J. Dairy Sci.*, v. 79, n. 6, p. 1040–1049, 1996.

WALTNER-TOEWS, D.; MARTIN, S. W.; MEEK, A. H. The effect of early calthood health status on survivorship and age at first calving. *Can. J. Vet. Res.*, v. 50, n. 3, p. 314–317, 1986.

WARRISS, P. D.; BROWN, S. N.; KNOWLES, T. G.; et al. Effects on cattle of transport by road for up to 15 hours. *Vet. Rec.*, v. 136, n. 13, p. 319–323, 1995.

WATHES, C.M.; JONES, C. D. R.; WEBSTER, A. J. F.. Ventilation, air hygiene and animal health. *Vet. Rec.*, v.113, p. 554-559, 1983.

WEILLER, M. A. A.; MOREIRA, D. A.; BRAGANÇA, L. F.; et al. The occurrence of diseases and their relationship with passive immune transfer in Holstein dairy calves submitted to individual management in southern Brazil. *Arq. Bras. Med. Vet. e Zootec.*, v. 72, n. 4, p. 1075–1084, 2020.

WINDEYER, M. C.; LESLIE, K. E.; GODDEN, S. M.; et al. Factors associated with morbidity, mortality, and growth of dairy heifer calves up to 3 months of age. *Prev. Vet. Med.*, v. 113, n. 2, p. 231–240, 2014.

WOLFGER, B.; SCHWARTZKOPF-GENSWEIN, K. S.; BARKEMA, H. W.; et al. Feeding behavior as an early predictor of bovine respiratory disease in North American feedlot systems. *J. Anim. Sci.*, v. 93, n. 1, p. 377–385, 2015.

YOUNG, A.; ROOD, K. A. Dairy heifer raising “gold standards”. *Western Dairy News*. v. 10, p.111-112. Disponível em:
<http://www.cvmb.colostate.edu/ilm/proinfo/wdn/2010/August%202010%20WDN.pdf>.
Acessado em: 15 de Novembro de 2019.

ZEINELDIN, M. M.; GHANEM, M. M.; ABD EL-RAOF, Y. M.; et al. Lung Ultrasonography and Computer-Aided Scoring System as a Diagnostic Aid for Bovine Respiratory Disease in Feedlot Cattle. *Glob. Vet.*, v. 17, n. 6, p. 588–594, 2016.

11 ANEXOS

Anexo 1: Método de Escore Respiratório de Wisconsin para avaliação da saúde pulmonar, segundo McGuirkc (2008)

Escore de saúde respiratória de bezerros			
0	1	2	3
Temperatura			
37,7 - 38,2	38,3 - 38,8	38,9 - 39,3	≥ 39,4
Escore de Tosse			
Ausente	Presente e única, quando estimulada	Presente e repetidas, quando estimulada, ou ocasionais quando espontâneas	Presente, repetidas e espontâneas
Escore de Narinas			
Unilateral serosa	Pequeno acúmulo unilateral, menos seroso	Bilateral, excessiva e mucosa	Bilateral mucopurulenta
			
Escore ocular			
Normal	Pequena quantidade de descarga ocular	Descarga moderada bilateral	Secreção em grande quantidade
			
Escore de orelha			
Normal	Balançar de orelha movimentos curtos	Leve queda unilateral	Queda bilateral de orelhas e ou cabeça inclinada
			

Adaptado de McGuirkc (2008).

Anexo 2: Método de Escore da Califórnia para avaliação da saúde pulmonar de bezerros, segundo Love *et al.* (2014)

Escore normal	Escore das alterações		
Secreção ocular			
0		2	  ou 
Secreção nasal			
0		4	 ou  ou 
Posicionamento de cabeça /orelha			
0		5	 ou  ou 
Tosse	0 Ausente	2 Espontânea	
Padrão respiratório	0 Normal	2 Dispneia	
Temperatura	0 >39,2 °C	2 ≥39,2 °C	

Adaptado de Aly *et al.* (2014)

Anexo 3: Aprovação comitê de ética



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

CEUA
COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

CERTIFICADO

Certificamos que o projeto intitulado " Avaliação clínica e ultrassonográfica da saúde pulmonar de bezerras leiteiras e os fatores de risco relacionados.", protocolo do CEUA: 358/2019 sob a responsabilidade de Antonio Ultimo de Carvalho que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem) para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899 de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS, em reunião de 16/03/2020.

Vigência da Autorização	16/03/2020 a 15/03/2025
Finalidade	Pesquisa
*Espécie/linhagem	Bovino / Holandesa
Nº de animais	195
Peso/Idade	45kg / 1(dias)
Sexo	feminino
Origem	Fazenda particular

Considerações posteriores:

16/03/2020	Aprovado na reunião do dia 16/03/2020. Validade: 16/03/2020 à 15/03/2025.
------------	---------------------------------------------------------------------------

Belo Horizonte, 18/02/2022.

Atenciosamente,

Sistema Solicite CEUA UFMG
https://aplicativos.ufmg.br/solicite_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) 3409-4516
www.ufmg.br/bioetica/ceua - cetea@prpq.ufmg.br