UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS Escola de Medicina Veterinária Programa de Pós-graduação em Ciência Animal

Bárbara de Andrade Alves

ULTRASSONOGRAFIA TORÁCICA NO MONITORAMENTO DE DOENÇA RESPIRATÓRIA BOVINA EM BEZERRAS

| Bárbara de A | Andrade Alves |
|--|---|
| | |
| Ultrassonografia torácica no monitoramen | to de doença respiratória bovina em bezerras |
| | |
| | Dissertação apresentada ao Programa de Pós- Graduação em Ciência Animal da Universidade Federal de Minas Gerais como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal. |
| | Orientador: Prof. Dr. Antônio Último de Carvalho |
| | |
| | |

Alves, Bárbara de Andrade, 1994-

A474u

Ultrassonografia torácica no monitoramento de doença respiratória bovina em bezerras / Bárbara de Andrade Alves, - 2022.

55f..:il.

Orientador: Antônio Último de Carvalho

Dissertação (Mestrado) apresentada à Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais para obtenção do título de Mestre.

Bibliografia: f. 49 a 55.

1.Bezerro - Doenças - Teses - 2. Pulmões - Doenças - Teses - 3. Veterinária - Teses - I. Carvalho, Antônio Último de – II. Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Veterinária - III. Título.

CDD - 636.089

Bibliotecária responsável Cristiane Patrícia Gomes – CRB2569 Biblioteca da Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais



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

FOLHA DE APROVAÇÃO

BÁRBARA DE ANDRADE ALVES

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

Aprovado(a) em 28 de fevereiro de 2022, pela banca constituída pelos membros:

Dr.(a). Antonio Ultimo de Carvalho - Presidente - Orientador(a)

Dr.(a). Rodrigo Melo Meneses

Dr. (a) Elias Jorge Facury Filho

Dr.(a). Rodolfo José Cavalcanti Souto



Documento assinado eletronicamente por **Antonio Ultimo de Carvalho**, **Professor do Magistério Superior**, em 04/03/2022, às 04:38, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do <u>Decreto nº 10.543, de 13</u> de novembro de 2020.



Documento assinado eletronicamente por **Rodrigo Melo Meneses**, **Professor do Magistério Superior**, em 04/03/2022, às 04:40, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do <u>Decreto nº 10.543, de 13</u> de novembro de 2020.



Documento assinado eletronicamente por **Elias Jorge Facury Filho**, **Professor do Magistério Superior**, em 04/03/2022, às 04:46, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do <u>Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020</u>.



Documento assinado eletronicamente por **Rodolfo José Cavalcanti Souto**, **Usuário Externo**, em 04/03/2022, às 14:24, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do <u>Decreto nº 10.543, de 13 de novembro</u> de 2020.



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufmg.br/sei/controlador_externo.php? acesso_externo=0, informando o código verificador **1287042** e o código CRC **1A037661**.

Referência: Processo nº 23072.211636/2022-51

SEI nº 1287042

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, a quem confio o rumo da minha vida.

Aos meus pais Marileide e Erivan, e à minha irmã Rayssa, pelo apoio incondicional, confiança e amor. Por meio de seus ensinamentos e dedicação inigualáveis, pude me tornar quem sou. Obrigada por serem a base na qual construí e construo minha vida. Sem vocês, nada disso faria sentido.

Aos professores da Clínica de Ruminantes da UFMG: Elias Facury, Rodrigo Meneses e Tiago Facury, que contribuíram enormemente para minha formação com seus ensinamentos e exemplos de conduta. Concluo esta etapa com a consciência de meu grande crescimento, não apenas profissional, mas também pessoal. Em especial, agradeço ao meu orientador, Professor Antônio Último, pelo seu constante apoio e incentivo e por ser exemplo que carregarei comigo para sempre.

Ao Dr. Rodolfo Souto da Clínica de Bovinos de Garanhuns, que fez e faz parte da minha formação, por ter aceitado o convite para compor a banca de defesa deste trabalho e por suas contribuições.

A toda equipe da Clínica de Ruminantes por toda ajuda e companheirismo. Em especial àqueles que contribuíram de forma direta para o sucesso deste trabalho: Rayssa, Gustavo, Guilherme, João Pedro e Douglas.

Aos colaboradores da fazenda, por me receberem tão bem e não pouparem esforços para contribuir com as coletas e fazer da minha estada a melhor possível.

A alegria não chega apenas no encontro do achado, mas faz parte do processo da busca. E ensinar e aprender não pode dar-se fora da procura, fora da boniteza e da alegria.

Paulo Freire

Resumo

Diagnósticos tardios ou equivocados estão entre os principais entraves para o controle do complexo Doença Respiratória Bovina (cDRB) em bezerras a campo e estabelecer ferramentas de monitoramento pode ser a chave para driblar estes problemas. O objetivo deste trabalho foi avaliar a prevalência, o momento de maior risco para a ocorrência e a evolução de quadros de doença respiratória em bezerras de aptidão leiteira por meio da detecção e acompanhamento de lesões pulmonares através da ultrassonografia torácica (UST). Foram avaliadas 190 bezerras de 7 a 180 dias de idade através de UST, escores clínicos respiratórios de Wisconsin (WI) e da Califórnia (CA) e auscultação pulmonar para a detecção de DRB em estudo observacional transversal; e 33 bezerras, pelos mesmos métodos, semanalmente ao longo de 12 semanas a partir da segunda semana de vida em estudo observacional longitudinal. No estudo transversal observou-se 17,89% (34/190) das bezerras com lesões pulmonares identificadas via UST. Ao comparar os demais métodos diagnósticos utilizados com a UST, observou-se concordância razoável entre a UST e os escores de WI e da CA e moderada entre a UST e a auscultação pulmonar. No estudo longitudinal, das 33 bezerras avaliadas, 13 apresentaram lesões pulmonares durante o período de avaliação. Destas, 11 apresentaram resolução da lesão após tratamento implementado, com uma duração média da lesão de 5,8 dias. A idade mínima para o início das lesões foi de 29 dias. Os resultados apontam para uma maior capacidade de detecção de casos de pneumonia pela UST, além de apontar vantagens da utilização do método para a caracterização epidemiológica dos casos de pneumonia na fazenda, para o auxílio ao monitoramento contínuo das doenças respiratórias e para a avaliação da eficácia de tratamentos implementados. Contudo, a ultrassonografia torácica apresenta limitações que podem e devem ser supridas por outros métodos diagnósticos e deve ser associada a métodos de triagem eficientes.

Palavras-chave: broncopneumonia, ultrassonografía torácica, escore respiratório, lesão pulmonar.

Abstract

Late or mistaken diagnoses are among the main obstacles to the control of the Bovine Respiratory Disease (BRD) complex in calves on-farm and establishing monitoring tools can be the key to overcome these problems. The objective of this study was to evaluate the prevalence, the moment of greatest risk for the occurrence and the evolution of respiratory disease in dairy calves through the detection and monitoring of lung lesions through thoracic ultrasonography (TUS). A total of 190 heifer calves from 7 to 180 days of age were evaluated using TUS, Wisconsin (WI) and California (CA) respiratory clinical scores, and pulmonary auscultation for the detection of BRD in a cross-sectional observational study; and 33 heifer calves were evaluated by the same methods weekly over 12 weeks from the second week of life in a longitudinal observational study. In the cross-sectional study, 17.89% (34/190) of the calves were observed with lung lesions identified via TUS. When comparing the other diagnostic methods used with the TUS, a reasonable agreement was observed between the TUS and the WI and CA scores, and a moderate agreement between the TUS and pulmonary auscultation. In the longitudinal study, of the 33 calves evaluated, 13 had lung lesions during the evaluation period. Of these, 11 showed resolution of the lesions after treatment was implemented, with an average lesion duration of 5.8 days. The minimum age for the onset of lesions was 29 days. The results point to a greater ability to detect cases of pneumonia by TUS, in addition to pointing out the advantages of using the method for the epidemiological characterization of pneumonia cases on the farm, to assist in the continuous monitoring of respiratory diseases and to evaluate the effectiveness of treatments implemented. However, thoracic ultrasonography has limitations that can and should be compensated by other diagnostic methods and it must be associated with efficient screening methods.

Key-words: bronchopneumonia, thoracic ultrasonography, respiratory score, lung lesion.

LISTA DE FIGURAS

| Figura 1 — Baias individuais utilizadas para a adaptação das bezerras após o período na maternidade. A) bezerra alocada em baia individual com cama de feno. B) Detalhe dos |
|---|
| recipientes para fornecimento de água e ração peletizada |
| Figura 2 – Bezerreiro tropical. A) Visão geral das bezerras, mostrando a disposição das fileiras |
| com sombrite na faixa central e o corredor entre as fileiras para acesso de maquinário e |
| <u> </u> |
| funcionários para fornecimento de leite. B) Disposição de bebedouro e cocho, permitindo |
| acesso pelas bezerras presas por corda a arame. C) Detalhe do cocho com ração peletizada à |
| disposição das bezerras |
| Figura 3 –Visão interna de galpão do tipo compost barn, com bezerras separadas em grupos de |
| acordo com peso. |
| Figura 4 – Escore clínico respiratório de Wisconsin |
| Figura 5 – Escore clínico respiratório da Califórnia |
| Figura 6 – Escore de lesões pulmonares observadas via ultrassonografia torácica. A) Escore 0 |
| – parênquima pulmonar normal, ou com áreas de consolidação < 1 cm². B) Escore 1 − presença |
| de caudas de cometa de maneira difusa. C) Escore 2 – presença de consolidação lobular ≥ 1cm². |
| D) Escore 3 – presença de consolidação lobar em 1 lobo pulmonar. E) Escore 4 – presença de |
| consolidação lobar em 2 lobos pulmonares F) Escore 5 – presença de consolidação lobar em 3 |
| ou mais lobos pulmonares |
| Figura 7 – Imagens ultrassonográficas de pontos de referência ventrais nos espaços intercostais |
| avaliado na ultrassonografía torácica em bezerras. A) 9° EIC direito com diafragma (a) e figado |
| (b) à esquerda e imagem de reverberações, caracterizando presença de parênquima pulmonar |
| sem alterações à direita (seta). B) 9° EIC esquerdo com baço (a) e parede ruminal (b) sem |
| alterações. C) 5° EIC direito com junção costocondral (seta) e desvio pleural (pontas de seta). |
| D) 2° EIC esquerdo com coração em diástole (seta). E) 1° EIC direito com artéria e veia |
| torácicas internas (pontas de seta). |
| Figura 8 – Distribuição de novos casos de pneumonia (escore de US ≥ 2) em 33 bezerras da |
| raça Holandês, avaliadas em estudo longitudinal em uma fazenda de produção intensiva de leite |
| em Minas Gerais, em relação à idade (dias)45 |
| · , , |

LISTA DE TABELAS

| Tabela 1 – Pontos de referência ventrais para exame de ultrassonografia torácica do antímero direito em bezerros. |
|---|
| Tabela 2 – Pontos de referência ventrais para exame de ultrassonografia torácica do antímero |
| esquerdo em bezerros |
| Tabela 3 – Frequência de bezerras com doença respiratória nas avaliações de Ultrassonografia |
| Torácica, Auscultação Pulmonar, Escore de WI e Escore da CA, em 190 bezerras da raça |
| Holandês, de 7-180 dias de idade, avaliadas em estudo transversal em uma fazenda de produção |
| intensiva de leite em Minas Gerais37 |
| Tabela 4 – Análise de concordância (índice Kappa) entre os métodos para diagnóstico de doença |
| respiratória Ultrassonografía Torácica, Escore de WI, Escore da CA e Auscultação Pulmonar |
| em 190 bezerras da raça Holandês, de 7-180 dias de idade, avaliadas em estudo transversal em |
| uma fazenda de produção intensiva de leite em Minas Gerais39 |
| Tabela 5 – Correlação de postos de Spearman (rô de Spearman) entre ultrassonografia torácica |
| e escore de tosse e secreção nasal (escores de WI e da CA) e escore de padrão respiratório |
| (escore da CA) observados em 190 bezerras da raça Holandês, de 1-180 dias de idade, avaliadas |
| em estudo transversal em uma fazenda de produção intensiva de leite em Minas39 |
| Tabela 6 – Frequência de bezerras com doença respiratória nas avaliações de Ultrassonografia |
| Torácica, Auscultação Pulmonar, Escore de WI e Escore da CA, em 33 bezerras da raça |
| Holandês, de 7-88 dias de idade, avaliadas em estudo longitudinal em uma fazenda de produção |
| intensiva de leite em Minas Gerais43 |
| Tabela 7 - Frequência de avaliações positivas e negativas nos métodos de diagnóstico para |
| doença respiratória: Ultrassonografia Torácica, Auscultação Pulmonar, Escore de WI e Escore |
| da CA em 33 bezerras da raça Holandês, de 7-88 dias de idade, avaliadas em estudo longitudinal |
| em uma fazenda de produção intensiva de leite em Minas Gerais44 |

SUMÁRIO

| | ~ | |
|--------------|--|------|
| | INTRODUÇÃO | |
| | HIPÓTESE | |
| | OBJETIVOS | |
| 3.1 | OBJETIVO GERAL | |
| 3.2 | OBJETIVOS ESPECÍFICOS | |
| 4 | REFERENCIAL TEÓRICO | |
| 4.1 | DOENÇAS RESPIRATÓRIAS EM BOVINOS | |
| 4.1.1 | • | |
| 4.1.2 | CARACTERÍSTICAS EPIDEMIOLÓGICAS DA DRB EM BEZERRAS | 14 |
| 4.1.3 DRB | | A DE |
| 4.1.4 | BRONCOPNEUMONIA EM BEZERROS | 17 |
| 4.2 | MONITORAMENTO DE DRB | 19 |
| 4.2.1 | DIAGNÓSTICO CLÍNICO | 20 |
| 4.2.2 | ESCORES RESPIRATÓRIOS | 21 |
| 4.2.3 | ULTRASSONOGRAFIA TORÁCICA | 22 |
| 4.2.4 | PROGRAMA #WEANCLEAN TM | 24 |
| 5 | MATERIAL E MÉTODOS | 26 |
| 5.1 | LOCAL E PERÍODO | 26 |
| 5.2 | ANIMAIS AMOSTRAIS | 29 |
| 5.3 | AVALIAÇÕES | 30 |
| 5.3.1 | AUSCULTAÇÃO PULMONAR | 30 |
| 5.3.2 | ESCORES RESPIRATÓRIOS | 30 |
| 5.3.3 | ULTRASSONOGRAFIA TORÁCICA | 32 |
| 5.3.4 | EXAME FÍSICO | 35 |
| 5.3.5 | ESFREGAÇO SANGUÍNEO | 36 |
| 5.4 | TRATAMENTO | 36 |
| 5.5 | ANÁLISE ESTATÍSTICA | 36 |
| 6 | RESULTADOS E DISCUSSÃO | 37 |
| 6.1 | ESTUDO OBSERVACIONAL TRANSVERSAL | 37 |
| 6.2 | ESTUDO OBSERVACIONAL LONGITUDINAL | 42 |
| 7 | CONSIDERAÇÕES FINAIS | |
| | CONCLUSÕES | |
| | REFERÊNCIAS | 40 |

1 INTRODUÇÃO

O complexo doença respiratória bovina (DRB) está entre as principais causas de mortalidade em bezerras (USDA, 2014). Entender a dinâmica dessas enfermidades nos rebanhos nos auxilia a traçar planos de controle e prevenção que atendam as necessidades de cada fazenda, e isso passa pela implementação de programas de monitoramento eficazes.

Independentemente da categoria acometida, um dos grandes obstáculos para a diminuição da mortalidade das doenças respiratórias em bovinos está no diagnóstico tardio e/ou equivocado que é feito a campo (Noffsinger *et al.*, 2014). Além disso, um diagnóstico mais preciso permite um melhor direcionamento do tratamento para DRB no rebanho e diminui o uso indevido de antimicrobianos (Cuevas-Gómez *et al.*, 2021; Buczinski; Pardon, 2020). Considerando estes aspectos, o desenvolvimento e aprimoramento de métodos diagnósticos em rebanhos são uma poderosa ferramenta para melhoria da saúde no sistema e para economia. Em se tratando de DRB temos algumas opções já bem estabelecidas e outras ganhando cada vez mais espaço.

Métodos de diagnóstico baseados em observação visual dos animais, embora bastante difundidos, geralmente apresentam baixa sensibilidade e especificidade e não são capazes de detectar quadros subclínicos (Weary et al., 2009; Timsit et al., 2016). Os escores mais utilizados atualmente são o de Wisconsin (McGuirk, 2008) e da Califórnia (Love et al., 2014). Da mesma forma, o diagnóstico clínico por meio da auscultação pulmonar, em geral, apresenta baixa acurácia (Buczinski et al., 2015). Isso ocorre principalmente em função das características desses métodos, que dependem de avaliadores bem treinados e da presença de sinais clínicos, o que leva muitas vezes a detecção tardia e a perda da detecção de casos subclínicos, e que sofre com a subjetividade e inconsistência inerentes a métodos dependentes de avaliador.

Pensando nisso, e visto que não há um consenso em relação ao padrão-ouro no diagnóstico de DRB a campo, o uso de tecnologias que auxiliam na detecção dessas doenças vem se popularizando na última década tanto como métodos para confirmação de diagnósticos, quanto como ferramentas de monitoramento de DRB (Fulton; Confer, 2012; Ollivett; Buczinski, 2016).

Dentre as tecnologias disponíveis, o exame ultrassonográfico possui altas sensibilidade e especificidade (de até 94% e 100%, respectivamente) e sua implementação em propriedades, embora dependa de mão de obra especializada, se mostra bastante eficiente na detecção de casos subclínicos e confirmação do diagnóstico de casos clínicos de DRB em bezerras (Ollivett *et al.*, 2015). Mais do que isso, a ultrassonografia torácica permite a classificação do tipo e extensão de lesões pulmonares e acompanhamento do aparecimento e evolução de tais lesões, informações que podem ser utilizadas no monitoramento do rebanho em relação à eficiência de

diagnóstico e tratamento de DRB e para apontar possíveis momentos críticos para o aparecimento da doença durante o ciclo produtivo dos animais (Rademacher *et al.*, 2014; Ollivett *et al.*, 2015). Faltam no Brasil, entretanto, estudos acerca da aplicação da ultrassonografia torácica como ferramenta de monitoramento e acompanhamento de DRB.

A implementação de uma ou mais das ferramentas citadas tem grande potencial para a obtenção de diagnósticos mais precoces e precisos em fazendas, além de fornecer informações importantes sobre o status da doença respiratória bovina no rebanho, trazendo impactos positivos na produtividade e sobrevivência de bezerras leiteiras que se traduzem em maior bemestar para os animais e maior lucro para o produtor. Assim, estudos que investiguem métodos de monitoramento de doença respiratória bovina em rebanhos brasileiros podem resultar em estratégias melhores na prevenção e combate dessas enfermidades no país.

2 HIPÓTESE

A avaliação sistemática do sistema respiratório de bezerras via ultrassonografia torácica resulta em detecção precoce de lesões pulmonares em bezerras e, portanto, esta é uma ferramenta eficiente para o monitoramento, diagnóstico e melhora do prognóstico de pneumonia nesses animais.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Determinar prevalência, faixa etária de maior risco para ocorrência e evolução de quadros de pneumonia em bezerras de aptidão leiteira por meio da detecção e acompanhamento de lesões pulmonares através da ultrassonografia torácica.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar a concordância entre o diagnóstico de DRB em bezerras feito com a utilização de escores clínicos, ausculta pulmonar e ultrassonografia torácica.
- Determinar a prevalência de casos subclínicos de DRB em bezerras no rebanho.

- Determinar momentos críticos para a ocorrência de DRB durante o desenvolvimento de bezerras criadas em sistema intensivo.
- Avaliar fatores de risco associados à ocorrência de DRB em bezerras.
- Realizar o diagnóstico *post-mortem* dos animais que vierem a óbito durante o período experimental.
- Determinar a taxa de sucesso e duração do tratamento na posologia utilizada de bezerras diagnosticadas com DRB durante a fase de aleitamento.

4 REFERENCIAL TEÓRICO

4.1 DOENÇAS RESPIRATÓRIAS EM BOVINOS

O complexo Doença Respiratória Bovina (DRB) pode ser entendido como o conjunto de afecções do trato respiratório superior e inferior de bovinos, de etiologia infecciosa ou não. Dentre essas afecções, as de maior importância para bezerras são as broncopneumonias bacterianas. Entender a dinâmica dessas afecções, nos auxilia em seu controle e prevenção.

4.1.1 Definição de casos

O termo "Doença Respiratória Bovina" foi introduzido há quase cinquenta anos e, à época, foi importante na melhora da compreensão das doenças respiratórias de bovinos (Lillie, 1974; Buczinski; Pardon, 2020).

Hoje, a utilização de um termo muito amplo pode prejudicar a acurácia do diagnóstico de diferentes doenças respiratórias em bovinos, levando à implementação de protocolos de tratamento inadequados.

A campo, o termo é muitas vezes utilizado como sinônimo para pneumonias de origem infecciosa, mais especificamente causadas por bactérias. Considerar DRB como sinônimo para pneumonias infecciosas, entretanto, é um viés que ignora outras afecções respiratórias, como edema pulmonar agudo de bovinos, pneumonia intersticial atípica e difteria, e direciona o tratamento a protocolos voltados à abordagem de pneumonias bacterianas graves (antibioticoterapia de amplo espectro, anti-inflamatórios não-esteroidais e terapias de suporte), o que eleva o uso indevido de antimicrobianos a campo (Guterbock, 2014, Buczinski; Pardon, 2020). Essa situação é reforçada pelo uso de escores clínicos como método de diagnóstico de

pneumonias em bezerras, visto que os parâmetros utilizados na sua determinação não são capazes de distinguir de maneira definitiva entre afecções do trato respiratório superior e inferior, ou entre infecções bacterianas e virais.

Se considerarmos a crescente pressão mundial para a redução do uso de antimicrobianos na criação de bovinos, ferramentas de diagnóstico e monitoramento que consigam ser mais específicas na detecção de doenças respiratórias em bovinos é uma necessidade premente.

É interessante notar, também, que definições amplas como DRB estão presentes em animais de produção, entretanto na clínica de animais de companhia e equinos, bem como na medicina humana, denominações específicas para doenças infecciosas ou não do trato respiratório são utilizadas, ou ainda a distinção entre pneumonias estritamente virais ou bacterianas é feita. Seguindo este pensamento, já existem estudos que sugerem protocolos de tratamento que utilizam exclusivamente anti-inflamatórios para pneumonias em estágios iniciais em bovinos, levando em consideração a mensuração de biomarcadores sanguíneos, como haptoglobina sérica, na determinação da gravidade das pneumonias em bovinos (a exemplo da já bem estabelecida determinação da concentração de proteína C reativa em humanos) (Mahendran *et al.*, 2017; Moisá *et al.*, 2019).

De modo geral, podemos concluir que termos generalistas na definição de enfermidades devem ser utilizados com parcimônia e compreendendo-se as nuances que estas denominações podem carregar e, no caso específico da DRB, entender que os diagnósticos devem ir além do superficial, buscando uma precisão que nos dias de hoje não pode ser ignorada. No presente trabalho, o termo Doença Respiratória Bovina será utilizado, porém será dada preferência a definições mais precisas quando possível.

4.1.2 Características epidemiológicas da DRB em bezerras

DRB é uma das principais causas de morte de bezerras em criações leiteiras. Em levantamento realizado pela USDA (2014) em rebanhos leiteiros dos EUA, dentre as afecções que causaram mortes de bezerras, os problemas respiratórios foram a segunda principal causa em bezerras lactentes, representando 24% dessas mortes; e a principal causa após o desmame até a idade de novilhas, correspondendo a 58,9% das mortes nesta categoria. No Brasil, faltam dados similares com abrangência nacional, mas levantamentos existentes apontam a DRB como importante causa de perdas econômicas em rebanhos de várias regiões do país (Assis-Brasil *et al.*, 2013; Batista *et al.*, 2017; Magalhães *et al.*, 2017).

Dados de prevalência e incidência de DRB em bezerras variam muito entre estudos. Diferenças nos critérios para a definição de casos dificultam possíveis comparações entre resultados, além de criarem possíveis vieses de avaliação. Dubrovsky *et al.* (2020) realizaram um grande levantamento epidemiológico para DRB em bezerras que incluiu 11470 bezerras distribuídas em 6 fazendas na Califórnia (EUA) e obteve prevalência média de 22,8% e incidência média de 0,17 casos de DRB/bezerras em risco/mês levando em consideração os registros de tratamento das fazendas. Um critério mais preciso de definição de casos foi utilizado por Buczinski *et al.* (2018), que avaliaram de 6 a 12 bezerras por rebanho em 39 fazendas canadenses através da detecção de consolidação pulmonar via ultrassonografia torácica, considerando positivas as bezerras com áreas de consolidação maiores que 3 cm. A prevalência média de consolidações pulmonares nos rebanhos foi de 8% (0-22%) no verão e 15% (0-35%) no inverno.

De qualquer forma, as doenças respiratórias são destaque em fazendas quando pensamos em enfermidades que acometem o rebanho e, principalmente, nos desafios sanitários para a criação de bezerras.

Esse cenário vem com impactos negativos, tanto para o bem-estar animal quanto economicamente. Bezerros doentes não comem ou bebem adequadamente, consequentemente não se desenvolvem conforme o esperado e sofrem se não forem identificados precocemente e tratados corretamente. E além da óbvia perda econômica trazida pela mortalidade de bezerros, o tratamento para BRD representa custos para rebanhos leiteiros, bem como potencial perda de produtividade, tanto imediata quanto a longo prazo.

Um estudo de 2010 estimou uma perda média de US\$ 8,75 por bezerro que sobrevive até o final do ciclo produtivo, considerando que 10% foram acometidos por doenças respiratórias e uma mortalidade de 1% no rebanho (Stokka, 2010). Outro estudo, realizado na Holanda, utilizando uma metodologia de cálculo diferente, estimou custos que variam de US\$ 21,37 a US\$ 66,32 por bezerro afetado (Van Der Fels-Klerx *et al.*, 2001). Mais recentemente, um estudo que considerou diferentes cenários para criação e tratamento de bezerros com DRB, atingiu um custo médio de US\$ 42,15 por bezerro afetado (Dubrovsky *et al.*, 2020).

Esses estudos, no entanto, não consideram perdas associadas a prejuízos na produtividade futura de bezerros afetados pela DRB no início da vida, tornando as perdas reais ainda maiores do que as estimadas. Stanton *et al.* (2012) estimaram que bezerras que passaram por um episódio de doença respiratória apresentam menor ganho de peso diário e são, em média, 11kg mais leves aos 6 meses de idade do que bezerras que não tiveram DRB durante a fase de aleitamento e apresentam maior idade ao primeiro parto. Além disso, DRB no início da vida

pode resultar em menor produção de leite na primeira lactação (diminuição de 525kg, em média) e menor taxa de sobrevivência ao final da primeira lactação (Teixeira *et al.*, 2017; Dunn *et al.*, 2018).

4.1.3 Anatomia do sistema respiratório e o impacto na ocorrência de DRB

O sistema respiratório de bovinos pode ser dividido anatomicamente em trato respiratório superior, composto por cavidade nasal, faringe e laringe; e trato respiratório inferior, que compreende traqueia, brônquios, bronquíolos e parênquima pulmonar (Dyce *et al.*, 2010).

As estruturas do trato respiratório superior têm importante função no condicionamento de temperatura e umidade do ar aspirado, e servem como barreira física para a entrada de grandes partículas. Sua microbiota comensal é composta por bactérias patogênicas e não patogênicas que competem por substratos e sítios de ligação e, quando este ambiente está em equilíbrio, favorece bactérias não patogênicas (Ackerman *et al.*, 2010).

Quanto ao trato respiratório inferior, a árvore traqueobrônquica dos bovinos é relativamente longa e estreita, portanto, com uma maior quantidade de espaço morto e de turbilhonamento e suspensão de partículas quando comparado a outras espécies domésticas (Kirschvink, 2008). A maior quantidade de espaço morto afeta a quantidade de oxigênio que chega aos pulmões, além de significar uma maior área de superfície para a deposição de particulados e aumentar o tempo de circulação de gases e partículas pelo sistema respiratório (Coutinho, 2005; Ackerman *et al.*, 2010).

Os pulmões dos bovinos, por sua vez, são separados por septos de tecido conjuntivo em lobos. O pulmão esquerdo é composto pelos lobos cranial (dividido em porções cranial e caudal) e caudal; enquanto o pulmão direito é composto pelos lobos cranial (também dividido em porções cranial e caudal), lobo médio, lobo caudal e lobo acessório. O lobo cranial direito tem uma característica particular, é ventilado individualmente pelo brônquio traqueal, que tem origem cranialmente à bifurcação da traqueia, de onde partem os brônquios que ventilam os demais lobos pulmonares (Dyce *et al.*, 2010).

Os septos interlobulares limitam a interdependência entre os lobos, aumentam a resistência do parênquima e diminuem sua complacência. A ventilação colateral também está reduzida nos bovinos devido à falta de comunicação broncoalveolar (canais de Lambert), poros alveolares (poros de Kohn), e conecções interbronquiolares (canais de Martin), o que precipita

a atelectasia e dificulta a recuperação das áreas consolidadas. Já a presença de um brônquio específico para o lobo cranial direito influencia o trajeto de patógenos e a dinâmica de infecções bacterianas nos pulmões, que geralmente têm sua distribuição inicial neste lobo pulmonar (Ackerman *et al.*, 2010).

Além disso, alguns autores apontam a menor capacidade respiratória dos bovinos quando comparados a outras espécies domésticas como fator agravante para a manutenção da saúde e produtividade futura de animais acometidos por broncopneumonias na fase de aleitamento (Stanton *et al.*, 2012; Teixeira *et al.*, 2017; Dunn *et al.*, 2018). Com pulmões proporcionalmente pequenos em relação à massa corporal, aumentam os impactos decorrentes de quaisquer lesões que levem à perda de função de porções dos pulmões (processos de inflamação do parênquima pulmonar que evoluem para casos crônicos) (Ackerman *et al.*, 2010).

Considerando todos esses fatores desfavoráveis relacionados à anatomia do sistema respiratório bovino, podemos entender melhor a dificuldade na prevenção da ocorrência de doenças respiratórias nesta espécie e porque devemos sempre estar em busca de estratégias que diminuam sua incidência em rebanhos.

4.1.4 Broncopneumonia em bezerros

As pneumonias em bovinos podem ser classificadas de acordo com aspectos clínicos e patofisiológicos em: broncopneumonias (caracterizadas pela invasão de organismos patogênicos pelas vias aéreas), pneumonias intersticiais (geralmente associadas a doenças não infecciosas) e pneumonias metastáticas (originadas por embolos sépticos com origem em outros focos de infecção no corpo – sepse) (Woolums, 2015).

Em bezerras, a apresentação mais comum são as broncopneumonias. Os agentes etiológicos mais implicados são *Mannheimia haemolytica*, *Pasteurella multocida*, *Histophilus somni* e *Mycoplasma bovis*, bactérias comensais da nasofaringe dos bovinos e que se multiplicam e chegam aos pulmões por via descendente e estabelecem quadro infeccioso quando as condições normais do trato respiratório estão alteradas (López; Martinson, 2018).

Estas alterações no ambiente pulmonar decorrem de alguns fatores. A relação das infecções virais como fator predisponente de infecções bacterianas já é bem estabelecido há bastante tempo. Os principais vírus associados às infecções respiratórias em bovinos são herpesvirus bovino tipo 1 (BHV-1) (rinotraqueíte infecciosa bovina), vírus da parainfluenza 3 (PI3), vírus respiratório sincicial bovino (BRSV) e vírus da diarreia viral bovina (BVDV), e são

considerados patógenos respiratórios primários, sendo implicados na dinâmica das infecções respiratórias e no estabelecimento de broncopneumonias em bovinos (López; Martinson, 2018). Dois mecanismos principais são responsáveis para que isso ocorra: a alteração na superfície das mucosas, fazendo com que a adesão de bactérias seja facilitada em células infectadas por vírus; e a modificação dos sistemas imunes inato e adaptativo por meio da alteração da função de macrófagos, supressão da proliferação e da apoptose induzida de linfócitos, e modificação da liberação de citocinas e outros mediadores inflamatórios (Srikumaran *et al.*, 2007).

Outro fator associado a alterações funcionais e no mecanismo de defesa do trato respiratório inferior é a desidratação. Animais desidratados têm a produção de muco pelo epitélio respiratório comprometida. A diminuição da produção de muco prejudica o funcionamento do epitélio ciliar, cuja função de movimentação dos cílios é fator de proteção do sistema respiratório contra a invasão de patógenos (Ackerman *et al.*, 2010).

Além disso, fatores ambientais que promovam irritação das vias aéreas também devem ser considerados como motivos para alterar o equilíbrio do ambiente respiratório de bezerras (Ackerman *et al.*, 2010).

A forma mais comum de broncopneumonia em bezerras é a broncopneumonia supurativa (ou lobular), geralmente associada a infecções por *P. multocida* (Dabo *et al.*, 2007). Tem início com a colonização bacteriana dos brônquios causando bronquite supurativa, que se espalha pelas vias aéreas e resulta em lesões centradas em bronquíolos dentro de cada lobo pulmonar. Tem distribuição crânio-ventral e, em casos crônicos, há tendência de formação de áreas de bronquiectasia, de abcessos e há presença de fibrose interlobular e intralobular (Panciera; Confer, 2010).

Temos também a broncopneumonia fibrinosa (ou lobar), típica das infecções por *M. haemolytica* e, em menor grau, também relacionada a infecções por *H. somni* (Caswell; Williams, 2016). Ocorre quando há disseminação centrífuga do processo inflamatório a partir dos bronquíolos (local primário de colonização) e através dos lóbulos, com avanço da infecção entre lóbulos adjacentes. Credita-se a rápida disseminação de *M. haemolytica* entre lóbulos e lobos pulmonares aos efeitos de LPS na integridade vascular, aos efeitos citolíticos de leucotoxinas em leucócitos locais e da resposta inflamatória e aos efeitos de destruição de tecidos pela liberação de enzimas, radicais de oxigênio e mediadores inflamatórios durante o processo de infecção (Rice *et al.*, 2007). A broncopneumonia fibrinosa também tem distribuição crânio-ventral e é acompanhada por pleurite (Panciera; Confer, 2010).

Uma terceira forma de importância em bezerras é a broncopneumonia caseonecrótica, associada a infecção crônica por *Mycoplasma* spp. Apesar de comum, a presença de

Mycoplasma spp em animais com pneumonia ocorre em associação com outras bactérias em mais de 70% dos casos (Booker et al., 2008). Mycoplasma spp coloniza o epitélio ciliado do trato respiratório levando a bronquite mucopurulenta e bronquiolite e, através da infecção persistente, lesões pulmonares podem surgir e se desenvolver (Caswell e Archambault, 2007). Quando há infecção por M. bovis, espécie mais virulenta de Mycoplasma spp para os bovinos, as bezerras podem desenvolver áreas multifocais de necrose caseosa, lesões crônicas que caracterizam a broncopneumonia caseonecrótica nos lobos pulmonares craniais (Panciera; Confer, 2010).

Clinicamente, os animais acometidos por broncopneumonia podem apresentar sinais inespecíficos como febre, anorexia, depressão e desidratação, além de taquipneia, dispneia, tosse, descarga nasal e ocular (Woolums, 2015; Griffin *et al.*, 2010). Contudo, os sinais clínicos de DRB, além de variáveis e, por vezes, inespecíficos, em muitas ocasiões estão ausentes. A quantidade de casos subclínicos de pneumonia pode ser de duas a quatro vezes maior que a de casos clínicos e estima-se que pelo menos um terço de novos casos são subclínicos (Ollivett; Buczinski, 2016; Binversie *et al.*, 2020).

É por isso que pensar em estratégias de monitoramento é crucial para lidar bem com o problema da DRB em rebanhos e o sucesso passa pelo uso ferramentas com capacidade de detectar quadros subclínicos nas bezerras.

4.2 MONITORAMENTO DE DRB

Em revisão feita por Smith *et al.* (2020) que considerou trabalhos a partir de 1975, os autores identificaram que, apesar de ser clara a evolução dos conhecimentos acerca dos agentes etiológicos de DRB, de vacinas contra esses agentes e do uso de antimicrobianos no tratamento dessas doenças, pouco foi o ganho adquirido por esses conhecimentos no que tange a diminuição da mortalidade causada por DRB nos 45 anos avaliados.

Estes achados sugerem e os autores concluem que o foco na identificação de agentes etiológicos não é a melhor estratégia para diminuição da morbidade e mortalidade por DRB nos próximos anos. Além disso, embora as terapias com antimicrobianos tenham evoluído nos últimos anos e tenham claro valor no tratamento e controle dessas doenças, a identificação de isolados de *M. haemolytica*, *P. multocida* e *H. somni* multirresistentes a drogas nos últimos anos (Anholt *et al.*, 2017; Snyder; Credille, 2020) sugere que antimicrobianos podem não ser a ferramenta principal para o controle de DRB nos anos que virão (Smith *et al.*, 2020).

Estas observações apontam para caminhos que consideram a melhora na detecção de animais doentes de forma precoce, através da implementação de novas tecnologias no monitoramento de doenças (pecuária de precisão), e para o foco na mitigação de fatores de risco associados à ocorrência de DRB.

Alia-se a isso o fato de que um dos grandes obstáculos para a diminuição da mortalidade das doenças respiratórias em bovinos está no diagnóstico tardio e/ou equivocado que é feito a campo (Noffsinger *et al.*, 2014). Um diagnóstico mais preciso permite um melhor direcionamento do tratamento para DRB no rebanho e uma detecção mais precoce aumenta as chances de sucesso desses tratamentos (Binversie *et al.*, 2020). Ainda, a melhora no diagnóstico diminui a necessidade de implementação de terapia metafilática em rebanhos, que produzem resultados insatisfatórios quando analisamos o custo-benefício tanto financeiro quanto em relação ao impacto de uma terapia antimicrobiana massiva (notadamente o possível desenvolvimento de resistência antimicrobiana a médio e longo prazos no rebanho e seu impacto na saúde humana) (Baptiste; Kyvsgaard, 2017).

Considerando estes aspectos, o desenvolvimento e aprimoramento de métodos diagnósticos em rebanhos são uma poderosa ferramenta de melhoria da saúde no sistema e de economia. Em se tratando de DRB temos algumas opções já bem estabelecidas e outras ganhando cada vez mais espaço.

4.2.1 Diagnóstico clínico

O diagnóstico clínico consiste no exame físico com ausculta pulmonar do animal e, em geral, apresenta baixa acurácia (Buczinski *et al.*, 2015), com estudos anteriores apontando a sensibilidade da auscultação torácica para o diagnóstico de DRB entre 5,9% e 72,9% (Buczinski *et al.*, 2013; Buczinski *et al.*, 2016; Pardon *et al.*, 2019).

A auscultação pulmonar busca detectar a presença de ruídos patológicos compatíveis com alterações no funcionamento pulmonar. Assim, podemos apontar como principais alterações dos ruídos pulmonares em bovinos: o *silêncio pulmonar*, que correspondem a grandes áreas de consolidação pulmonar (portanto, não mais arejadas) ou com outras alterações que comprometam a função de grandes porções dos pulmões (como hidro ou pneumotórax); as *crepitações*, ruídos produzidos em consequência de obstruções intermitentes das vias respiratórias por secreção/exsudato ou por restrição das vias respiratórias por pressão exercida por tecidos adjacentes; e os *sibilos*, ruídos decorrentes de estreitamentos patológicos das vias

respiratórias, que aumentam a velocidade do ar que circula por elas e altera a frequência do som produzido (Dirksen *et al.*, 1983).

Entretanto, a auscultação pulmonar é uma avaliação subjetiva, dependente da habilidade e experiência do avaliador e prejudicada por sons ambientes (problema particularmente importante em fazendas) (Guterbock, 2014), o que explica sua baixa sensibilidade e limita sua aplicação como ferramenta de monitoramento para DRB.

4.2.2 Escores respiratórios

Ainda considerando uma avaliação clínica dos animais, métodos de diagnóstico baseados na classificação em escores respiratórios têm baixo custo e são relativamente fáceis de serem implementados na fazenda. Sua utilização em bovinos visa padronizar a observação clínica dos animais, identificando alterações comportamentais específicas e sintomas que indiquem a presença ou não da doença clínica.

Os escores mais utilizados atualmente são o de Wisconsin (McGuirk, 2008) e da Califórnia (Love *et al.*, 2014). Eles utilizam como parâmetros a serem observados a presença de tosse espontânea e/ou induzida, presença de secreção ocular e nasal, posicionamento da cabeça e orelhas, temperatura retal e, no escore da Califórnia, padrão respiratório (McGuirk, 2008; Love *et al.*, 2014; Aly *et al.*, 2014; Love *et al.*, 2016). A cada parâmetro avaliado são atribuídos pontos que, somados, indicarão a presença ou ausência de doença respiratória a partir de um valor mínimo obtido. Em um estudo mais recente, também foi proposto incluir uma avaliação de enoftalmia e da condição corporal (Maier *et al.*, 2019).

Entretanto, os escores geralmente apresentam baixa sensibilidade e especificidade e não são capazes de detectar quadros subclínicos. Isso ocorre principalmente em função das características desses métodos, que dependem de avaliadores bem treinados e da presença de sinais clínicos evidentes nos animais. Timsit *et al.* (2016) previram sensibilidade de 27% (1% - 96%) e especificidade de 92% (14% - 100%) para a doença clínica detectada durante ronda sanitária em bovinos de corte analisando estudos que compararam esses diagnósticos com lesões pulmonares *post-mortem* (visto que não há consenso sobre um método padrão-ouro para o diagnóstico de DRB *ante mortem*). A baixa sensibilidade pode ser explicada pela presença de casos subclínicos de DRB que escapam ao método dos escores respiratórios e devido ao comportamento natural de bovinos, que, sendo uma presa, podem mascarar sinais clínicos quando na presença de seres humanos (Weary *et al.*, 2009).

A principal desvantagem do uso de sistemas de escore respiratório, no entanto, permanece na subjetividade inerente às observações. Diferentes avaliadores podem ter interpretações diferentes, o que está relacionado ao nível de treinamento e experiência do avaliador com o uso desses sistemas (Portillo, 2014). De acordo com esta avaliação, a evolução dos sistemas de escore clínico busca a simplificação da classificação dos parâmetros qualitativos, sugerindo opções dicotômicas como presente/ausente ou normal/anormal, e visa ter uma implementação mais fácil das avaliações na rotina da fazenda, excluindo, por exemplo, a indução da tosse para diminuir a manipulação dos bezerros. Sistemas desenvolvidos mais recentemente até mesmo condicionam a necessidade de aferir a temperatura retal aos resultados das avaliações dos demais parâmetros, de modo que apenas bezerros com um escore já elevado, que sugere a presença de doença respiratória, são submetidos a este procedimento (Love *et al.*, 2014). Esses ajustes nos sistemas de escore tentam diminuir a influência representada pelo avaliador, mas nada pode exclui-la completamente, e esta sempre será um fator de viés nesses métodos.

Além disso, como discutido anteriormente, o aparecimento de sinais clínicos aparentes pode ocorrer quando a doença já evoluiu por alguns dias, fazendo com que o diagnóstico obtido com esses sistemas seja por vezes tardio, o que afeta diretamente o sucesso do tratamento.

Na intenção de driblar essas deficiências, e visto que não há um consenso em relação ao padrão-ouro no diagnóstico de DRB a campo, o uso de tecnologias que auxiliam na detecção dessas doenças vem se popularizando na última década tanto como métodos para confirmação de diagnósticos, quanto como ferramentas de monitoramento de DRB (Fulton; Confer, 2012; Ollivett; Buczinski, 2016).

4.2.3 Ultrassonografia torácica

Com uso crescente na clínica de ruminantes, a ultrassonografía tem ganhado maior destaque para além do seu já consolidado uso no manejo reprodutivo dessas espécies, com ênfase para o uso de exames de ultrassonografía torácica (Ollivett; Buczinski, 2016). É uma excelente ferramenta auxiliar no diagnóstico de doenças respiratórias em bovinos e que também permite a determinação de prognósticos mais precisos, já que permite a identificação do tipo e extensão das lesões pulmonares *ante mortem* (Berman *et al.*, 2019). Além disso, estudos têm sido conduzidos nos últimos anos em busca de correlações cada vez melhores entre lesões diagnosticadas por ultrassonografía torácica e a resposta de bezerras ao tratamento, além dos impactos dessas lesões na produtividade futura desses animais (Rademacher *et al.*, 2014; Ollivett *et al.*, 2015).

O uso de ultrassonografia requer veterinários devidamente treinados para utilizá-la, ou seja, nem todas as fazendas podem adotá-la como prática recorrente. No entanto, se os métodos de triagem para doenças respiratórias funcionarem bem na propriedade, a adição de uma tecnologia que melhore a precisão do diagnóstico e o prognóstico do rebanho acometido é bemvinda. Feito por profissionais treinados, o ultrassom pode ter sensibilidade e especificidade de até 94% e 100%, respectivamente (Ollivett *et al.*, 2015).

Um dos principais parâmetros avaliados na ultrassonografia torácica é a mensuração do grau de consolidação pulmonar. Quando se trata de determinar o prognóstico, a área de consolidação pulmonar é o parâmetro mais bem relacionado à possível evolução do quadro clínico (Rademacher *et al.*, 2014). Seu uso também é destacado por ser uma lesão de fácil avaliação e com grande concordância entre diferentes avaliadores. Em estudo comparando avaliadores com diferentes níveis de expertise, a concordância observada foi de moderada a quase perfeita, dependendo da experiência do examinador (k = 0,6-1,0) (Buczinski *et al.*, 2013). No entanto, embora a consolidação pulmonar possa representar áreas de inflamação ativa que afetam o parênquima do órgão (Ollivett; Buczinski, 2016), também é aparente em condições crônicas (Sartori; Tombesi, 2010) e não há estudos que determinem a precisão da diferenciação entre casos de pneumonia ativa ou casos crônicos com base em lesões identificadas por ultrassonografia torácica (Berman *et al.*, 2019). Assim, para seu uso como ferramenta diagnóstica, outros sinais de infecção ativa e o histórico do animal devem ser observados.

Por essa razão, a ultrassonografia torácica não deve ser usada como ferramenta única para o diagnóstico de doenças respiratórias, especialmente se este é feito de forma pontual na fazenda. Além disso, em um cenário de campo, é impraticável acomodar o exame de todos os bezerros à rotina da propriedade. Assim, a seleção de animais destinados a este tipo de exame deve ser feita e pode ser auxiliada pela utilização de outros métodos que direcionam o diagnóstico para doenças respiratórias, como o escore clínico ou, em fazendas que utilizam sistemas de monitoramento automatizados para triagem de doenças, o exame físico de animais com alterações de comportamento ou temperatura que, novamente, apresentem sinais compatíveis com pneumonia.

Outro fator a ser considerado na realização da ultrassonografia torácica em bovinos é a padronização do método de detecção e interpretação das lesões pulmonares. Diferentes estudos trazem diferentes métodos, desde a triagem do campo pulmonar completo até a avaliação de áreas selecionadas mais propensas à ocorrência de consolidação pulmonar (região crânioventral dos campos pulmonares) (Buczinski *et al.*, 2014; Ollivett, 2014; Buczinski *et al.*, 2015; Teixeira *et al.*, 2017). Como a ultrassonografia pode detectar outros tipos de lesões além da

consolidação que são aparentes em diferentes locais do campo pulmonar, exames mais completos podem apresentar resultados melhores na detecção de problemas respiratórios. Além disso, embora a consolidação seja mais frequentemente encontrada nos lobos pulmonares craniais, isso nem sempre é o caso.

Diferentes autores estimaram, ainda, a relação do grau de consolidação pulmonar a impactos na produtividade futura de novilhas, como diminuição da produção média de leite e aumento da idade ao primeiro parto (Ollivett, 2014; Teixeira *et al.*, 2017). Esse conhecimento é útil para determinar se o tratamento vale a pena, o que contribui para um uso mais racional dos antimicrobianos, além de evitar gastos desnecessários em tratamentos que não apresentariam resultados satisfatórios.

Diante disso, a ultrassonografia é uma ferramenta poderosa para confirmar o diagnóstico de doenças respiratórias e potencialmente determinar seu prognóstico, o que também pode melhorar os protocolos de tratamento e auxiliar na utilização racional de antimicrobianos. Mais estudos são necessários, no entanto, para padronizar o uso das técnicas de ultrassonografia torácica a campo e estabelecer parâmetros preditivos para a evolução das condições clínicas e impactos na produtividade futura de bezerras.

4.2.4 Programa #WeanCleanTM

Trata-se de um programa de monitoramento de doença respiratória em bezerras desenvolvido na Universidade de Wisconsin (EUA) e que traz como missão: "Usar ultrassom pulmonar para promover o gerenciamento da saúde do bezerro que maximize o potencial de cada bezerro para iniciar e fazer a transição pelo processo de desmame com pulmões limpos e saudáveis" (Ollivett, 2019).

Para isso, propõe-se uma estratégia de ultrassom em 4 pontos para mensurar doença pulmonar na desmama, determinar eficiência da detecção e do tratamento, e identificar faixas etárias de alto risco para acompanhamento. Os parâmetros ultrassonográficos utilizados seguem o sistema de escore proposto por Ollivett e Buczinski (2016), em que bezerras classificadas no escore 0 não apresentam lesões pulmonares; no escore 1 apresentam poucos artefatos de imagem (caudas de cometa); no escore 2 apresentam consolidações lobulares; no escore 3 apresentam consolidação lobar em 1 lobo; no escore 4 apresentam consolidação lobar em 2 lobos; e no escore 5 apresentam consolidação lobar em 3 ou mais lobos. Seguindo esta classificação, são consideradas bezerras com pneumonia aquelas com escore maior ou igual a

O programa propõe o exame ultrassonográfico em 4 momentos ao longo do período de aleitamento (4 pontos). São estes pontos:

Ponto 1: início da desmama – quantas bezerras tem pneumonia neste momento?

O objetivo é ter menos de 15% das bezerras com pneumonia nesse momento. Muitas bezerras sendo desmamadas com lesões pulmonares sugerem três possíveis problemas: as bezerras não foram tratadas (possivelmente não foram diagnosticadas corretamente); elas foram tratadas incorretamente; ou baixa imunidade inata atrasa a resposta ao tratamento.

Ponto 2: início do tratamento – quantas bezerras têm escore de ultrassom maior que 3 ou menor que 2 no momento do primeiro tratamento?

O objetivo é ter menos de 15% das bezerras com escores 0 ou 1 (bezerras com escore normal ou com alterações sem indicação de tratamento), bem como menos de 15% com escores 4 ou 5 (escores muito altos para o momento do início do tratamento). Novamente, podemos apontar três razões para resultados insatisfatórios nesse quesito: enfermidades não-respiratórias estão se manifestando como doença respiratória (por exemplo, sepse, toxemia, acidose); não estamos passando tempo suficiente observando as bezerras certas; ou falhamos no reconhecimento de sinais precoces de doença respiratória clínica.

Ponto 3: 7 a 10 dias após tratamento – quantas bezerras com escore de ultrassom maior que 2 neste momento?

O objetivo é ter menos de 15% das bezerras com escore maior que 2. Mais uma vez, há três razões que podem ser apontadas como causa para o insucesso do tratamento: uso da droga certa de maneira errada (tardiamente ou com posologia incorreta); uso da droga errada (classe errada, patógeno resistente); ou baixa imunidade inata atrasa a resposta.

Ponto 4: varredura 12x7 – com início aos 7 dias de idade, realizar ultrassonografía pulmonar em 12 bezerras a intervalos de 7 dias até a desmama para encontrar faixa etária de alto risco.

Esse tipo de varredura permite determinar a idade em que as doenças respiratórias começam a se manifestar nas bezerras, possibilitando o treinamento de colaboradores para focar nas bezerras certas, além de auxiliar no desenvolvimento de um programa de detecção e tratamento precoces (Ollivett, 2019).

Em suma, a estratégia em 4 pontos do programa #WeanCleanTM fornece um esquema de monitoramento de doença respiratória em bezerras na fase de aleitamento que nos permitem não só mapear a ocorrência dessas doenças na fazenda, mas também identificar pontos críticos dos métodos de diagnóstico e protocolos de tratamento adotados na propriedade. Implementar

esse programa pode significar uma mudança expressiva na forma de lidar com a DRB, com diminuição dos impactos negativos dessas enfermidades nos rebanhos.

5 MATERIAL E MÉTODOS

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 211/2021.

5.1 Local e período

O estudo foi realizado em fazenda de produção leiteira comercial na mesorregião metropolitana de Belo Horizonte no estado de Minas Gerais, durante o período de 21 de setembro de 2021 a 17 de janeiro de 2022.

A fazenda possuía aproximadamente 590 vacas da raça Holandês em lactação, com média diária de produção de leite de 31 kg/vaca. As vacas em lactação, as vacas secas e as novilhas prenhes eram mantidas em instalação do tipo *compost barn*, separadas por lotes que consideravam o estado fisiológico e a média de produção de leite destas fêmeas.

Em torno de 4 semanas antes da data prevista para o parto, as vacas e novilhas prenhes eram conduzidas à uma baia (pré-parto) onde eram observadas ao longo do dia e da noite para a detecção do início do parto. Com o início da fase de expulsão do feto, as fêmeas prenhes eram conduzidas a uma área separada das demais fêmeas da baia pré-parto, onde os nascimentos ocorriam. Esta área separada, denominada "baia maternidade" possuía uma área de cerca de 25 m², com cama de feno e tronco individual com conjunto de ordenha mecânica móvel localizado em seu interior. Ocorriam, em média, 40 partos por mês.

Após o nascimento e ainda na baia maternidade, era realizada a primeira cura de umbigo com solução de iodo a 10% e a colostragem das bezerras. As bezerras recebiam um volume de colostro correspondente a 10% de seu peso vivo em até 6 horas após o nascimento e preconizava-se o fornecimento do colostro materno. Caso o colostro materno não atingisse os requisitos mínimos de concentração de sólidos estabelecidos pela fazenda (24% de Brix), optava-se pelo fornecimento de colostro descongelado proveniente do banco de colostro da propriedade. Após as primeiras 6 horas de vida, as bezerras eram alimentadas com leite cru comercializável.

Com até dois dias de idade as bezerras eram transferidas para o setor de criação de bezerras, localizado há cerca de 2 quilômetros dos galpões principais da fazenda (onde ocorriam os nascimentos) e alocadas em baia individual de alvenaria e madeira, com cama de feno (Fig. 1). Nestas baias havia água e concentrado *ad libitum* para os animais e era feito o aleitamento com 6 litros de leite cru comercializável por dia, dividido em dois fornecimentos (manhã e tarde). As bezerras permaneciam neste local até completarem a cura de umbigo e estarem adaptadas à forma de aleitamento da fazenda (baldes individuais com bico), o que levava cerca de 15 dias.





Figura 1 — Baias individuais utilizadas para a adaptação das bezerras após o período na maternidade. **A)** bezerra alocada em baia individual com cama de feno. **B)** Detalhe dos recipientes para fornecimento de água e ração peletizada.

Fonte: arquivo pessoal

Após esse período, as bezerras eram alocadas em bezerreiro do tipo tropical durante toda a fase de aleitamento e período de desmama. O manejo alimentar permanecia o mesmo do período de adaptação ao longo da fase de aleitamento, com o fornecimento de 6L leite cru comercializável por dia em dois períodos (manhã e tarde), sendo reduzido o fornecimento de leite pela metade durante o período de adaptação para a desmama completa, que ocorria quando as bezerras atingiam entre 90 e 100 dias de idade. Mantinha-se no bezerreiro o fornecimento de água e concentrado *ad libitum* (Fig. 2).







Figura 2 – Bezerreiro tropical. **A)** Visão geral das bezerras, mostrando a disposição das fileiras com sombrite na faixa central e o corredor entre as fileiras para acesso de maquinário e funcionários para fornecimento de leite. **B)** Disposição de bebedouro e cocho, permitindo acesso pelas bezerras presas por corda a arame. **C)** Detalhe do cocho com ração peletizada à disposição das bezerras.

Fonte: arquivo pessoal

As bezerras desmamadas eram transferidas para baias coletivas em galpão do tipo *compost* barn, e alocadas em grupos de aproximadamente 30 animais (Fig. 3). Recebiam dieta composta por silagem de milho, farelo de milho, farelo de soja, cevada, núcleo mineral e água *ad libitum*.



Figura 3 –Visão interna de galpão do tipo *compost barn*, com bezerras separadas em grupos de acordo com peso.

Fonte: arquivo pessoal

As bezerras em aleitamento eram monitoradas para a ocorrência de enfermidades por meio de inspeção diária realizada por colaborador treinado, que observava mudanças de comportamento e presença de sinais clínicos (tosse, descarga nasal, apatia, falta de apetite, entre

outros) durante o fornecimento do leite. As bezerras em fase de recria eram inspecionadas 3 vezes por semana em curral de manejo, momento em que também era feita a aferição de temperatura retal para o monitoramento específico de Tristeza Parasitária Bovina. Bezerras com temperatura retal ≥ 39,3°C eram medicadas com diaceturato de diminazeno (3,5 mg/kg, dose única) e oxitetraciclina de longa ação (10 mg/kg, dose única).

5.2 Animais amostrais

Foram realizados dois estudos observacionais, um do tipo transversal e outro do tipo longitudinal.

No estudo transversal foram incluídas 190 bezerras de 7 a 180 dias de idade. Estas bezerras foram classificadas em dois grupos de acordo com o manejo alimentar: bezerras em aleitamento (111 animais) e bezerras desmamadas (79 animais). Das bezerras em aleitamento, 18 bezerras encontravam-se nas baias individuais e 93 no bezerreiro tropical, enquanto as bezerras desmamadas (79) estavam no *compost-barn* no momento da avaliação.

No estudo longitudinal foram incluídas 33 bezerras, que foram acompanhadas durante a fase de aleitamento, com avaliações que tiveram início com $8 (\pm 1)$ dias de idade e seguiram-se com frequência semanal até que as bezerras completassem $85 (\pm 1)$ dias de idade e totalizando, portanto, 12 avaliações semanais. Bezerras em que se detectou a presença de lesão pulmonar via ultrassonografia torácica em qualquer uma dessas avaliações semanais, foram submetidas a avaliações extras (uma avaliação a mais entre as avaliações semanais regulares) enquanto durassem as lesões, portanto alterando a periodicidade das avaliações para a cada 3 ou 4 dias.

Bezerras que morreram durante o período experimental foram submetidas a necropsia e dados de transferência de imunidade passiva e qualidade do colostro fornecido foram obtidos a partir dos registros da propriedade.

A avaliação da transferência de imunidade passiva era feita pelos colaboradores da fazenda por meio da mensuração da proteína sérica total com 24-48h de vida utilizando o método de refratometria óptica. De acordo com a concentração de proteína sérica total proveniente dos registros da fazenda, a transferência de imunidade passiva das bezerras foi classificada em ruim (< 5,1g/dL), razoável (5,1 - 5,7g/dL), boa (5,8 - 6,1 g/dL) ou ótima ($\ge 6,2g/dL$) (Godden *et al.*, 2019).

5.3 Avaliações

O diagnóstico de doença respiratória foi realizado por meio de auscultação pulmonar, Escore de Wisconsin, Escore da Califórnia e ultrassonografia torácica. Além disso, durante exame físico foram determinados: escore de fezes, escore de carrapatos, grau de desidratação, coloração de mucosas, frequências cardíaca e respiratória e, em bezerras com até 30 dias de idade, escore de umbigo. Ainda, nas bezerras com temperatura retal maior ou igual a 39,3°C foi feita a pesquisa de hemoparasitos.

5.3.1 Auscultação pulmonar

Auscultação foi realizada de forma sistemática por toda a extensão dos campos pulmonares esquerdo e direito por avaliador único. Os ruídos pulmonares foram avaliados de acordo com sua intensidade (oligopneia, normopneia ou polipneia) e foi detectada a possível presença de ruídos patológicos (áreas de silêncio, crepitação e sibilo) (Dirksen *et al.*, 1983).

5.3.2 Escores Respiratórios

O Escore Respiratório de Winsconsin (WI) (McGuirk, 2008), classifica os animais de acordo com a gravidade dos sinais clínicos em cinco categorias: temperatura retal, secreção nasal, tosse, secreção ocular e posicionamento das orelhas. Cada categoria recebe pontuação 0, 1, 2 ou 3 (normal, leve, moderada ou intensa, respectivamente). Animais com um somatório final das pontuações maior ou igual a cinco foram considerados como positivos (Fig. 4). O Escore Respiratório da Califórnia (CA) (Love *et al.*, 2014), por sua vez, classifica os animais de acordo com a gravidade dos sinais clínicos em seis categorias: 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°C, 2 pontos) e padrão respiratório (respiração anormal, 2 pontos). Foram consideradas positivas as bezerras com pontuação superior ou igual a 5 (Fig. 5).

Critério de escore de saúde de bezerra 0 3 1 Temperatura retal 38,9 - 39,3°C ≥ 39,4°C 37,7 - 38,2°C 38,3 - 38,8 °C Tosse Tosse induzida Tosse espontânea Tosse única induzida Ausente múltipla ou múltipla espontânea casual Secreção nasal Pequena quantidade Secreção opaca ou Grande quantidade de Secreção serosa mucosa excessiva secreção mucopurulenta de secreção opaca normal bilateral bilateral unilateral Escore ocular Moderada quantidade Grande quantidade de Pequena quantidade Normal de secreção bilateral secreção ocular de secreção ocular Escore de orelha Desvio de cabeça ou Tremor de orelha ou Discreta ptose de Normal ptose de orelha cabeça orelha unilateral bilateral

Figura 4 4 – Escore clínico respiratório de Wisconsin.

Fonte: adaptado de McGuirk (2008).

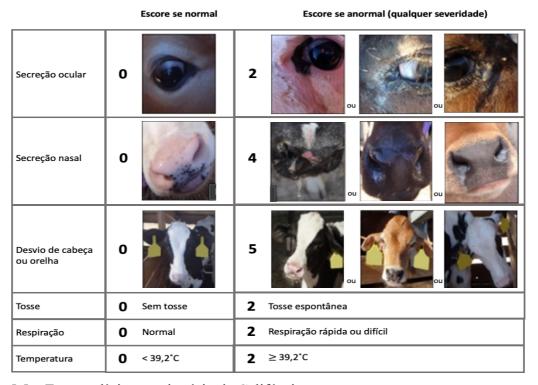


Figura 5 5 – Escore clínico respiratório da Califórnia.

Fonte: adaptado de Aly et al. (2014)

5.3.3 Ultrassonografia torácica

Para a ultrassonografia torácica, a área avaliada compreendeu os espaços intercostais 1 a 11 no antímero direito e 2 a 10 no antímero esquerdo. Foi utilizado Ultrassom Veterinário Portátil KX5100, com probe linear transrretal na frequência de 7,5 Mhz e profundidade ajustada para 9,0 cm. Álcool isopropílico 70% foi utilizado para favorecer a formação da imagem sem que houvesse necessidade de tricotomia dos animais. A classificação dos animais foi feita de acordo com a metodologia de Ollivett e Buczinski (2016), que estabelece um escore de 0 a 5, classificando o acometimento pulmonar de acordo com a quantidade e extensão de lesões pulmonares detectadas. O escore 0 corresponde a animais com parênquima pulmonar normal ou com áreas de consolidação < 1 cm²; animais com escore 1 apresentam artefatos de cauda de cometa distribuídos de maneira difusa pelo parênquima pulmonar; animais com escore 2 apresentam consolidação lobular ≥ 1 cm²; animais com escore 3 apresentam um lobo pulmonar consolidado; animais com escore 4 apresentam dois lobos pulmonares consolidados; e animais com escore 5 apresentam três ou mais lobos pulmonares consolidados (Fig. 6).

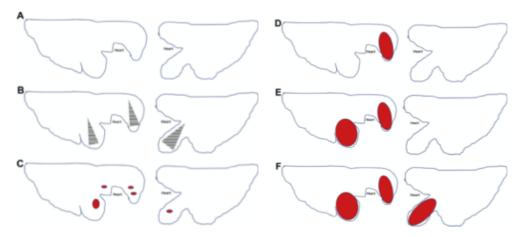


Figura 6 – Escore de lesões pulmonares observadas via ultrassonografia torácica. **A)** Escore 0 – parênquima pulmonar normal, ou com áreas de consolidação < 1 cm². **B)** Escore 1 – presença de caudas de cometa de maneira difusa. **C)** Escore 2 – presença de consolidação lobular ≥ 1 cm². **D)** Escore 3 – presença de consolidação lobar em 1 lobo pulmonar. **E)** Escore 4 – presença de consolidação lobar em 2 lobos pulmonares **F)** Escore 5 – presença de consolidação lobar em 3 ou mais lobos pulmonares.

Fonte: Ollivett e Buczinski (2016)

A determinação do local e extensão das lesões encontradas foi possível pela avaliação dos espaços intercostais (EIC) avaliados, aliado a pontos de referência detectáveis via ultrassonografia. Do 10° ao 6° EIC temos o diafragma demarcando o limite ventral do lobo caudal em ambos antímeros. O figado pode ser visto após o diafragma no antímero direito e baço e rúmen podem ser vistos nesta mesma posição no antímero esquerdo (Fig. 7A e Fig. 7B).

A porção caudal do lobo cranial esquerdo pode ser vista entre o 5° e 4° EIC esquerdos. A referência ventral desses espaços são as imagens de junção costocondral e desvio pleural (a imagem da pleura sofre uma curvatura na sua porção mais ventral) (Fig. 7C). No antímero direito, esses pontos de referência estão presentes no 5° EIC, espaço em que pode ser visualizado o lobo médio. A porção caudal do lobo cranial direito, por sua vez, pode ser vista entre o 4° e 3° EIC direitos e o coração é o ponto de referência ventral nesses espaços (Fig. 7D).

A porção cranial do lobo cranial esquerdo pode ser vista entre o 3° e 2° EIC esquerdos e o coração é o ponto de referência ventral nesses espaços. O exame do 1° EIC esquerdo não se faz estritamente necessário devido à pouca importância clínica da visualização deste espaço. Já a porção cranial do lobo cranial direito é vista entre o 2° e 1° EIC direitos. As veia e artéria torácicas internas são o ponto de referência para esses espaços (Fig. 7E) (Tabelas 1 e 2).

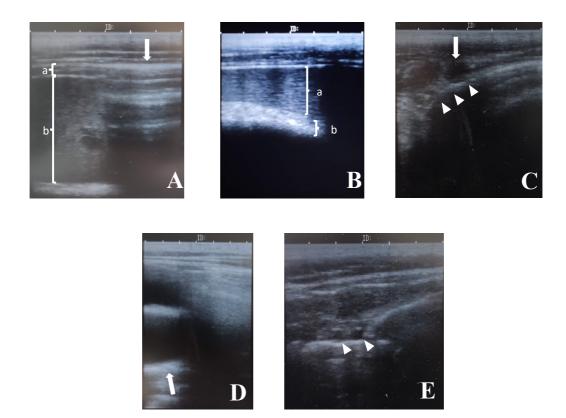


Figura 7 – Imagens ultrassonográficas de pontos de referência ventrais nos espaços intercostais avaliado na ultrassonografia torácica em bezerras. A) 9° EIC direito com diafragma (a) e figado (b) à esquerda e imagem de reverberações, caracterizando presença de parênquima pulmonar sem alterações à direita (seta). B) 9° EIC esquerdo com baço (a) e parede ruminal (b) sem alterações. C) 5° EIC direito com junção costocondral (seta) e desvio pleural (pontas de seta). D) 2° EIC esquerdo com coração em diástole (seta). E) 1° EIC direito com artéria e veia torácicas internas (pontas de seta).

Fonte: arquivo pessoal

Tabela 1 – Pontos de referência ventrais para exame de ultrassonografia torácica do antímero direito em bezerros.

| | Lobo pulmonar | | | | |
|---------------------|---------------|---------------------|------------------|--------------------|--|
| | | | Porção Caudal do | Porção Cranial do | |
| | Caudal | Médio | Lobo Cranial | Lobo Cranial | |
| EIC-D | 10-6 | 5 | 4-3 | 2-1 | |
| Pontos de | | Junção costocondral | | Veia e artéria | |
| referência ventrais | Diafragma | e desvio pleural | Coração | torácicas internas | |

Fonte: adaptado de Ollivett e Buczinski (2016).

Tabela 2 – Pontos de referência ventrais para exame de ultrassonografia torácica do antímero esquerdo em bezerros.

| | Lobo pulmonar | | | |
|---------------------|---------------|-------------------------------|--------------------------------|--|
| | Caudal | Porção Caudal do Lobo Cranial | Porção Cranial do Lobo Cranial | |
| EIC-E | 10-6 | 4-5 | 2-3 | |
| Pontos de | | Junção costocondral e desvio | | |
| referência ventrais | Diafragma | pleural | Coração | |

Fonte: adaptado de Ollivett e Buczinski (2016).

5.3.4 Exame físico

Durante o exame físico foram observadas a ocorrência de diarreia e a presença de carrapatos nas bezerras. Um sistema escore de acordo com avaliação visual da consistência das fezes foi utilizado: 1 (fezes normais), 2 (fezes pastosas), 3 (fezes aquosas) e 4 (diarreia profusa com fezes liquefeitas ou com presença de sangue). Deste modo, os escores 3 ou 4 serão considerados como diarreia. A quantidade de carrapatos também foi classificada em sistema de escore: ausência, infestação leve, moderada ou intensa.

O grau de desidratação foi estimado a partir de avaliação do turgor cutâneo e do grau de enoftalmia e classificado em: 0 (inaparente, <5%); 1 (leve, aproximadamente 5%); 2 (moderada, aproximadamente 8%); e 3 (grave, aproximadamente 10%) (Dirksen *et al.*, 1983).

As mucosas oculares foram avaliadas e classificadas de acordo com sua coloração em pálidas, rosadas ou congestas. Sinais de icterícia, cianose ou áreas de hemorragia também foram considerados na avaliação (Dirksen *et al.*, 1983).

Frequências cardíaca e respiratória foram aferidas via auscultação, tomando-se como parâmetros fisiológicos: 30 a 45 movimentos respiratórios por minuto para todas as bezerras; 90 a 110 batimentos cardíacos por minuto para bezerras lactentes; e 70 a 90 batimentos cardíacos por minuto para bezerras desmamadas (Dirksen *et al.*, 1983).

Bezerras com até 30 dias de idade tiveram a região umbilical examinada para a detecção de onfalites. Com a bezerra em decúbito lateral o umbigo externo e as estruturas internas (artérias, veia e úraco) foram palpadas e verificou-se diâmetro, consistência e dor à pressão dos cordões vasculares e do úraco (Dirksen *et al.*, 1993) e atribuiu-se escore 0 para os animais sem alteração, escore 1 para aqueles com alterações no umbigo externo e escore 2 quando havia alterações nas estruturas internas do umbigo.

5.3.5 Esfregaço sanguíneo

Nas bezerras que apresentaram temperatura retal acima de 39,3°C durante a avaliação foram realizados esfregaços de ponta cauda, após pequena perfuração com agulha estéril da ponta da cauda do animal. Os esfregaços foram corados com panótico rápido e lidos na própria fazenda para pesquisa de *Babesia bovis*, *Babesia bigemina* e *Anaplasma marginale*.

Bezerras com a presença de *Babesia* spp e aquelas com a presença de *A. marginale* no esfregaço sanguíneo foram medicadas com diaceturato de diminazeno (3,5 mg/kg, dose única) e oxitetraciclina de longa ação (20 mg/kg, dose única), respectivamente.

5.4 Tratamento

Bezerras classificadas com escore de US ≥ 2 foram consideradas positivas para pneumonia e, consequentemente, tratadas para tal. O protocolo inicial de tratamento consistiu na administração de meloxicam (0,5 mg/kg, IV), aplicação única, e três aplicações de florfenicol (20 mg/kg, IM, a cada 48h), totalizando 6 dias de ação antimicrobiana, com início do tratamento no dia do diagnóstico. De acordo com a observação da evolução das lesões pulmonares via ultrassonografia torácica, uma ou duas aplicações extras de florfenicol (mesma posologia) foram realizadas. Em caso de recidiva, o protocolo inicial foi repetido.

5.5 Análise estatística

Foi realizada análise descritiva das avaliações de Ultrassonografia Torácica, Escore de WI, Escore da CA e Auscultação Pulmonar, com determinação da frequência de animais e número de avaliações positivas por técnica.

O Teste Exato de Fisher foi utilizado para verificar relação entre casos positivos de pneumonia determinados pela Ultrassonografia Torácica com a idade das bezerras, a qualidade da transferência de imunidade passiva e a presença de comorbidades.

O método de *Kappa* descrito por Cohen (1960) foi utilizado para determinar a correlação entre as técnicas Ultrassonografia Torácica, Escore de WI, Escore da CA e Auscultação Pulmonar. Os valores do teste variam de 0 (concordância inexistente) a 1 (concordância perfeita). Foi utilizado o critério de classificação dos valores kappa (k) proposto por Landis e Koch (1977): $k \le 0$ sem concordância; $0 \le k \le 0.19$ concordância fraca; $0.20 \le K \le 0.39$

concordância leve; $0.40 \le k \le 0.59$, concordância moderada; $0.60 \le k \le 0.79$, concordância substancial; $0.80 \le k \le 1.00$, concordância perfeita.

Os cálculos dos testes estatísticos foram realizados no *software* estatístico IBM SPSS *statistics* versão 2021. Para todos os testes foi considerado o nível de significância de p < 0,05.

6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

As avaliações das 190 bezerras incluídas no estudo transversal e das 33 bezerras incluídas no estudo longitudinal por meio da ultrassonografia torácica (UST), de escores clínicos respiratórios de Wisconsin (WI) e da Califórnia (CA) e da auscultação pulmonar nos permitem entender a dinâmica dos casos de pneumonia na fazenda onde foram conduzidos os estudos, estabelecer comparações entre os métodos utilizados e projetar as melhores opções para serem implementadas a campo.

6.1 Estudo observacional transversal

No estudo transversal tivemos 17,89% (34/190) das bezerras positivas na avaliação ultrassonográfica (bezerras classificadas com escore de ultrassom ≥ 2); 12,11% (23/190) positivas na auscultação pulmonar (presença de ruídos patológicos); 7,37% (14/190) positivas no escore de WI (escore ≥ 5); e 10,33% (20/190) positivas no escore da CA (escore ≥ 5) (Tabela 3). A maior frequência de positivos observada na avaliação ultrassonográfica (p<0,05) é explicada pelas características da técnica, que pode identificar lesões pulmonares mesmo em animais que não apresentam sinais clínicos e/ou alterações à auscultação pulmonar (Ollivet, 2016).

Tabela 3 – Frequência de bezerras com doença respiratória nas avaliações de Ultrassonografia Torácica, Auscultação Pulmonar, Escore de WI e Escore da CA, em 190 bezerras da raça Holandês, de 7-180 dias de idade, avaliadas em estudo transversal em uma fazenda de produção intensiva de leite em Minas Gerais.

| | Ultrassonografia Torácica | Auscultação Pulmonar | Escore de WI | Escore da CA |
|-----------|------------------------------|-------------------------|-------------------|-------------------|
| Positivos | 17,89% (34/190)a | 12,11% (23/190)b | 7,37% (14/190)b | 10,53% (20/190)b |
| Negativos | 82,11% (156/190)a | 87,89% (167/190)b | 92,63% (176/190)b | 89,47% (170/190)b |
| Total | 100% (190/190) | | | |

p<0,05. a,b letras diferentes na mesma linha indicam diferença significativa

Das bezerras consideradas positivas na avaliação ultrassonográfica, 20 apresentaram escore de US 2 (58,82%, 20/34), 10 apresentaram escore de US 3 (29,41%, 10/34), uma apresentou escore de US 4 (2,94%, 1/34) e três apresentaram escore de US 5 (8,82%, 3/34). Das 14 bezerras em que foi identificada consolidação lobar (escore de US ≥ 3), 8 bezerras não apresentavam sinais clínicos durante a avaliação e duas possibilidades podem ser consideradas para esses casos. A primeira possibilidade é de tratar-se de casos subclínicos que não foram identificados no momento certo e puderam evoluir para lesões pulmonares mais graves. A segunda possibilidade, e a mais preocupante, é de tratar-se de casos crônicos, em que houve o tratamento desses animais, mas este não foi efetivo. Formas de definir qual possibilidade é a verdadeira em uma propriedade são a consulta do histórico de tratamento das bezerras e/ou a repetição da avaliação clínica e ultrassonográfica 7 a 10 dias após tratamento realizado quando da avaliação inicial (Ollivett, 2019). A fazenda em que foram conduzidos os estudos tinha o histórico de tratamento das bezerras apenas após a desmama das mesmas, impossibilitando este tipo de análise e devido as características do estudo (avaliação única), não foi possível realizar o acompanhamento dessas lesões.

Uma outra abordagem destes resultados pode ser feita a partir da análise de concordância entre os métodos utilizados (Tabela 4). Foram utilizados para essa análise apenas os resultados observados no estudo transversal, de modo a eliminar um possível viés decorrente da observação repetida de um mesmo animal. A UST teve concordância razoável com os escores de WI (k = 0,302) e da CA (k = 0,274) e moderada com a auscultação pulmonar (k = 0,405), segundo classificação proposta por Landis e Koch (1977). Novamente, em função das características dos métodos avaliados esses níveis de concordância são esperados. Além da UST ter a capacidade de detectar casos subclínicos ou crônicos, ou seja, casos que escapam aos outros métodos, os escores clínicos, pelos parâmetros utilizados em suas avaliações, podem identificar como positivos animais que não o são, visto que parâmetros como temperatura retal, padrão respiratório e secreção ocular estão presentes em outras enfermidades de bezerras.

Ainda no que tange a concordância entre os métodos, chama a atenção a concordância moderada entre os escores clínicos respiratórios de WI e da CA (k = 0,485) observada neste estudo. Este resultado foi inferior ao relatado por outros autores, que apontaram concordâncias substancial (k = 0,661) (Andrade, 2017) e perfeita (k = 0,850) (Aly *et al.*, 2014). Considerando que estes métodos têm propostas similares, níveis de concordância mais altos são esperados e a concordância observada em nosso estudo entre ambos os escores e a UST não auxilia na escolha de um deles para ser aplicado em detrimento de outro.

Tabela 4 – Análise de concordância (índice Kappa) entre os métodos para diagnóstico de doença respiratória Ultrassonografia Torácica, Escore de WI, Escore da CA e Auscultação Pulmonar em 190 bezerras da raça Holandês, de 7-180 dias de idade, avaliadas em estudo transversal em uma fazenda de produção intensiva de leite em Minas Gerais

| | Ultrassonografia torácica | Escore de WI | Escore da CA | Auscultação Pulmonar |
|------------------------------|------------------------------|--------------|--------------|-------------------------|
| Ultrassonografia torácica | 1,000 | 0,302 | 0,274 | 0,405 |
| Escore de WI | - | 1,000 | 0,485 | 0,316 |
| Escore da CA | - | - | 1,000 | 0,188 |
| Auscultação Pulmonar | - | - | - | 1,000 |

Nível de significância (p < 0,01)

Considerando a UST como o método que mais se aproxima de um padrão-ouro entre os métodos utilizados no estudo, realizou-se o teste de correlação de Spearman entre os casos positivos à UST e os parâmetros avaliados pelos escores respiratórios de WI e da CA. Foi observada correlação positiva fraca entre avaliações ultrassonográficas positivas e alguns parâmetros avaliados para a determinação dos escores respiratórios, segundo classificação proposta por Baba *et al.* (2014). Para as classificações de tosse e secreção nasal tanto do escore de WI quanto do escore da CA, esta correlação esteve presente, e na avaliação do padrão respiratório (exclusiva do Escore da CA) também (p < 0,01) (Tabela 5). Novamente, percebemos a limitação dos escores clínicos respiratórios na identificação de pneumonias. Mesmo sinais clínicos muito associados à ocorrência de pneumonias (tosse, secreção nasal e alterações no padrão respiratório) não estão presentes na maioria dos casos (casos subclínicos) (Ollivett; Buczinski, 2016; Binversie *et al.*, 2020).

Tabela 5 – Correlação de postos de Spearman (rô de Spearman) entre ultrassonografia torácica e escore de tosse e secreção nasal (escores de WI e da CA) e escore de padrão respiratório (escore da CA) observados em 190 bezerras da raça Holandês, de 1-180 dias de idade, avaliadas em estudo transversal em uma fazenda de produção intensiva de leite em Minas.

| | | Tosse WI | Secreção | Tosse CA | Secreção | Padrão |
|------------------|----------------|----------|----------|----------|----------|-----------------|
| | | Tosse WI | Nasal WI | Tosse CA | Nasal CA | Respiratório CA |
| Ultrassonografia | rô de Spearman | 0.385 | 0.211 | 0.365 | 0.201 | 0.330 |
| Torácica | valor de p | <.001 | 0.004 | <.001 | 0.005 | <.001 |

WI = escore respiratório de Wisconsin

CA = escore respiratório da Califórnia

Para além da concordância e possíveis correlações entre os métodos diagnósticos utilizados, foram realizadas análises acerca da idade e comorbidades presentes nas bezerras com e sem lesões pulmonares.

No presente estudo, realizou-se a comparação da frequência de bezerras em aleitamento (até aproximadamente 90 dias de idade) e bezerras desaleitadas (de aproximadamente 90 dias a 180 dias de idade) com e sem lesões pulmonares. Apesar das diferenças de manejo e condições apresentadas, não houve diferença entre a prevalência de lesões pulmonares na fase de aleitamento (19,82% [22/111]) e na fase pós-desmama (15,19% [12/79]) (p > 0,05). Comparar a prevalência de lesões observadas com outros estudos que fizeram avaliação similar não é simples, devido à variedade nas metodologias aplicadas (especialmente no que tange a definição de casos positivos e negativos) e porque a prevalência de lesões é um reflexo da situação de cada fazenda, tornando praticamente impossível traçar paralelos claros entre estudos diferentes, conduzidos em locais distintos em que diferem os fatores de risco presentes, como raças avaliadas, práticas de manejo empregadas, instalações utilizadas e clima.

Vários fatores ambientais e intrínsecos aos animais podem prejudicar a imunidade do trato respiratório e favorecer a ocorrência de pneumonias em bezerras, e estes fatores podem ou não estar associados à idade dos animais.

Dados acerca da transferência de imunidade passiva (TIP) das bezerras foram obtidos nos registros da fazenda. Seguindo classificação proposta por Godden *et al.* (2019), 5,1% (9/176) das bezerras avaliadas no estudo transversal tiveram TIP ruim, 11,9% (21/176) regular, 21,0% (37/176) boa, e 61,9% (109/176) ótima. Estas proporções estão dentro das recomendadas por Godden *et al.* (2019) para um rebanho e não houve relação entre a qualidade da TIP e os casos positivos de pneumonia definidos por avaliação ultrassonográfica. Por se tratar de um estudo seccional, não estão incluídos possíveis casos em que houve recuperação plena das bezerras antes que estas pudessem ser avaliadas e o acréscimo destes casos poderia alterar esta relação.

Em bezerras de até 30 dias de idade (40/190) foi realizada a avaliação da região umbilical por meio de palpação abdominal e do umbigo. Onfalite foi detectada em 7,5% (3/40) das bezerras avaliadas para tal (escore de umbigo \geq 1). Não foi detectada associação entre a ocorrência de lesões pulmonares e onfalite.

Por meio da classificação das fezes de acordo com sua consistência, 24,32% (27/111) das bezerras em aleitamento e 6,33% (5/79) das bezerras desmamadas apresentavam diarreia (escore de fezes ≥ 2). A proporção de diarreias entre bezerras em aleitamento foi maior do que a de bezerras desmamadas (p=0,001). Não houve, entretanto, associação entre a ocorrência de lesões pulmonares e diarreia.

Ainda, 30,63% (34/111) das bezerras em aleitamento e 27,84% (22/79) das bezerras desmamadas apresentavam algum grau de desidratação aparente (grau de desidratação ≥ 1); e 28,82% (32/111) das bezerras em aleitamento e 20,25% (16/79) das bezerras desmamadas apresentavam algum grau de infestação por carrapatos (escore de carrapatos ≥ 1). Entretanto, também não houve associação entre lesões pulmonares grau de desidratação e infestação por carrapatos.

Esses resultados são esperados, visto que, novamente, não é possível estabelecer uma relação de causa e efeito em eventos avaliados em momento único.

Outro parâmetro avaliado no presente estudo e que foi associado à ocorrência de DRB em estudos anteriores é a frequência respiratória (FR) (Dabo *et al.*, 2007; Griffin *et al.*, 2010; Gaeta *et al.*, 2018). Considerando os parâmetros definidos por Dirksen *et al.* (1983), 80,0% (152/190) das bezerras avaliadas no estudo transversal apresentaram taquipneia (FR > 40 mrpm). O número elevado de animais com taquipneia pode se dever ao fato de que os valores de referência utilizados foram definidos a partir da avaliação de animais criados em clima temperado. De toda forma, não houve correlação entre a FR e a presença ou não de lesão pulmonar nas bezerras (p > 0,05). Alterações significativas na FR foram associadas a quadros agudos de pneumonia por infecção experimental (Coutinho, 2005), o que difere dos casos diagnosticados neste estudo.

Optou-se ainda, em bezerras que apresentaram temperatura retal ≥ 39,3°C, por realizar a leitura de esfregaço sanguíneo de ponta de cauda para investigar a presença de hemoparasitos causadores do complexo Tristeza Parasitária Bovina (TPB). Buscar a detecção das doenças que formam esse complexo como um diagnóstico diferencial para pneumonias é justificado pelo fato de que, em ambos os casos, os animais acometidos têm como característica marcante a manifestação de hipertermia. Em Minas Gerais, a TPB é um dos principais desafios sanitários enfrentados na criação de bezerras (Gonçalves, 2000), e muitas fazendas, incluindo a propriedade em que o estudo foi conduzido (em bezerras pós-desmama), utilizam a aferição da temperatura retal como único parâmetro para a decisão de tratar ou não as bezerras para TPB. Dos animais incluídos no estudo transversal, 38,42% (73/190) apresentavam hipertermia no momento da avaliação, de acordo com o critério adotado, e destes, 10 (13,69%) foram identificados como positivos para *Anaplasma marginale* após leitura do esfregaço sanguíneo. Esses resultados indicam que a fazenda do estudo pode estar tratando bezerras para TPB de forma inadequada e a implementação da rotina de confecção de esfregaço sanguíneo para confirmação do diagnóstico de TPB e direcionamento do agente etiológico envolvido na

infecção (Souza *et al.*, 2021), bem como a utilização da ultrassonografia torácica como forma de verificar a pneumonia como um diagnóstico diferencial é aconselhável.

Por fim, foi realizada a necropsia de duas bezerras que foram avaliados no estudo transversal. Ambas apresentaram lesões macroscópicas correspondentes a quadros de broncopneumonia bacteriana. Uma delas teve lesões pulmonares identificadas à avaliação ultrassonográfica (escore de US 3) que corresponderam aos achados de necropsia (local e extensão da lesão similares). A outra bezerra não havia apresentado lesões pulmonares à avaliação ultrassonográfica, porém sua morte ocorreu 76 dias após a data de avaliação, sendo possível, portanto, que a lesão tenha se desenvolvido nesse ínterim. Considerando a implementação de estratégias de monitoramento, avaliações *post mortem* tem grande valor para a confirmação de diagnósticos *antemortem*, principalmente porque não há um consenso em relação a um método padrão-ouro *antemortem* para o diagnóstico de pneumonia em bovinos. Ollivett *et al.* (2013) observaram alta correlação (r = 0,92) entre a extensão de pulmão consolidado identificado na ultrassonografia torácica e ao exame macroscópico *post mortem* e, mais recentemente, Baruch *et al.* (2019) também identificou alta correlação entre ultrassonografia torácica e achados de necropsia.

Considerando estes resultados, podemos perceber que todos os métodos avaliados possuem limitações e possíveis vieses, bem como vantagens que devem ser exploradas. Além disso, vários são os fatores de risco a serem observados e mais estudos são necessários com enfoque na detecção destes fatores e determinação de seus impactos na ocorrência de pneumonias em bezerras.

6.2 Estudo observacional longitudinal

Com as avaliações realizadas no estudo longitudinal, é possível suprir parte das limitações apresentadas pelo estudo transversal e obter informações acerca do aparecimento e evolução dos casos de pneumonias na fazenda estudada.

No presente estudo, foram realizadas avaliações semanais em 33 bezerras a partir da primeira semana de vida durante um período de 12 semanas. Nesse período, 39,39% das bezerras apresentaram pelo menos um resultado positivo para pneumonia na avaliação ultrassonográfica (escore de US ≥ 2) (Tabela 6). Cramer e Ollivett (2019), utilizando o mesmo ponto de corte para a determinação de positivos, porém com avaliações restritas ao período entre 26 e 50 dias de idade, observaram 73% das bezerras avaliadas com pelo menos um resultado positivo. Dunn *et al.* (2018) realizaram avaliações semanais em bezerras até os 56

dias de vida utilizando como ponto corte para determinar casos positivos áreas de consolidação > 3 cm e observaram 57% (123/215) das bezerras avaliadas com pelo menos um resultado positivo. Novamente, diferenças na metodologia implementada (notadamente diferentes pontos de corte para determinação de casos positivos e duração do período de avaliação) dificultam possíveis comparações entre estudos. Outras possíveis razões para as diferenças encontradas são os fatores de risco de cada fazenda, que levam a prevalências e incidências diferentes de forma geral e ao longo do tempo.

A frequência de bezerras com doença respiratória de acordo com as avaliações de escores respiratórios (WI e CA) e auscultação pulmonar durante o período de observação do estudo longitudinal (entre 7 e 88 dias de idade) difere do padrão observado no estudo transversal. Das 33 bezerras avaliadas durante este período, 16 (48,48%) apresentaram pelo menos uma avaliação positiva no Escore da CA; 15 (45,45%) apresentaram pelo menos uma avaliação positiva na auscultação pulmonar; e 14 (42,43%) apresentaram pelo menos uma avaliação positiva no Escore de WI (Tabela 4). Uma possível explicação para esses resultados está na característica do estudo, que inclui a repetição das avaliações nos mesmos animais ao longo do tempo. Nesse modelo, a possibilidade de detecção de doenças do trato respiratório superior (animais positivos no escore respiratório e negativos na ultrassonografia torácica) ou de comorbidades associadas a determinadas faixas etárias e que podem resultar em resultados falso positivos (especialmente nos escores respiratórios) estarem presentes e coincidirem com o momento de alguma avaliação aumentam.

Tabela 6 – Frequência de bezerras com doença respiratória nas avaliações de Ultrassonografia Torácica, Auscultação Pulmonar, Escore de WI e Escore da CA, em 33 bezerras da raça Holandês, de 7-88 dias de idade, avaliadas em estudo longitudinal em uma fazenda de produção intensiva de leite em Minas Gerais.

| | Ultrassonografia Torácica | Auscultação Pulmonar | Escore de WI | Escore da CA |
|-----------|------------------------------|-------------------------|----------------|----------------|
| Positivos | 39,39% (13/33) | 45,45% (15/33) | 42,43% (14/33) | 48,48% (16/33) |
| Negativos | 60,61% (20/33) | 54,55% (18/33) | 57,57% (19/33) | 51,52% (17/33) |
| Total | 100% (33/33) | | | |

Com a avaliação contínua dos animais, entretanto, é possível detectar de forma mais consistente a ocorrência de casos subclínicos (positivos na ultrassonografia torácica e negativos nos escores respiratórios). Em 53,84% (7/13) das bezerras consideradas positivas na ultrassonografia torácica, a avaliação inicial que identificou a presença de consolidação

pulmonar não foi acompanhada de resultado positivo de nenhum dos escores respiratórios utilizados. A quantidade expressiva de casos subclínicos corrobora os achados de outros autores, embora estes tenham encontrado proporções superiores de casos subclínicos em relação a casos clínicos, na ordem de 2 a 4 casos subclínicos para cada caso clínico (Ollivett; Buczinski, 2016; Binversie *et al.*, 2020). Assim, os resultados do estudo atual corroboram com a importância da implementação de métodos de diagnóstico capazes de identificar casos subclínicos no rebanho.

Quando consideramos o total de avaliações feitas durante o período do estudo longitudinal, com as 12 avaliações regulares pelas quais todas as bezerras foram submetidas e as avaliações extras realizadas nas bezerras em que foram observadas lesões pulmonares, temos 431 avaliações. Destas, 11,83% (51/431) foram positivas na avaliação ultrassonográfica; 7,42% (32/431) foram positivas na avaliação do escore da CA; 6,73% (26/431) foram positivas na avaliação do escore de WI; e 6,03% (26/431) foram positivas na auscultação pulmonar (Tabela 7). Assim, ao considerarmos cada avaliação de forma separada, minimizando o efeito da repetição de avaliações no mesmo animal, temos a ordem das frequências observadas similar à do estudo transversal, com mais avaliações positivas na avaliação ultrassonográfica, mostrando mais uma vez a melhor capacidade da técnica de identificar doença pulmonar.

Tabela 7 - Frequência de avaliações positivas e negativas nos métodos de diagnóstico para doença respiratória: Ultrassonografía Torácica, Auscultação Pulmonar, Escore de WI e Escore da CA em 33 bezerras da raça Holandês, de 7-88 dias de idade, avaliadas em estudo longitudinal em uma fazenda de produção intensiva de leite em Minas Gerais.

| | Ultrassonografia Torácica | Auscultação Pulmonar | Escore de WI | Escore da CA |
|-----------|------------------------------|-------------------------|------------------|------------------|
| Positivos | 11,83% (51/431) | 6,03% (26/431) | 6,73% (29/431) | 7,42% (32/431) |
| Negativos | 88,17% (380/431) | 93,97% (405/431) | 93,27% (402/431) | 92,58% (399/431) |
| Total | 100% (431/431) | | | |

Ao pensar em monitoramento de qualquer enfermidade de rebanho, identificar momentos críticos para sua ocorrência é fundamental para otimização das ferramentas empregadas para seu funcionamento. No presente estudo, nenhuma lesão pulmonar foi detectada em bezerras até 23 dias de idade no estudo transversal e 28 dias de idade no estudo longitudinal. Diferentes autores apontam o início da ocorrência de pneumonias em bezerras a partir de 3 semanas de vida, em média (McGuirk; Peek, 2014; Mahendran, 2020), embora outros trabalhos relatem a

presença de lesões pulmonares identificadas por meio de ultrassonografia antes dessa idade (Binversie *et al.*, 2020; Buczinski *et al.*, 2013).

A avaliação do início dos casos de pneumonia, entretanto, é mais adequada a partir das observações feitas durante o estudo longitudinal. Das 13 bezerras que apresentaram lesões ao longo do estudo, 4 (30,76%) tiveram-nas detectadas pela primeira vez na quarta semana de vida (29 a 35 dias de idade). Se considerarmos também a quinta semana de vida (36-42d), temos um valor acumulado de 46,15% (6/13) de bezerras com lesões detectadas pela primeira vez nesse período (Fig. 8). Dessa forma, podemos considerar este como o momento crítico para ocorrência de pneumonias em bezerras nesta fazenda. Mahendran (2020) investigou a detecção de DRB em bezerras utilizando a aferição de temperatura de forma remota associada à confirmação com ultrassonografia torácica e obteve resultado similar, identificando 28 dias como a idade média da primeira ocorrência de febre relacionada à DRB.

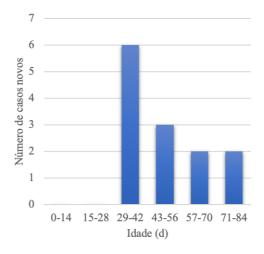


Figura 88 – Distribuição de novos casos de pneumonia (escore de US \geq 2) em 33 bezerras da raça Holandês, avaliadas em estudo longitudinal em uma fazenda de produção intensiva de leite em Minas Gerais, em relação à idade (dias).

Um dos fatores que explica o início da ocorrência de pneumonias nessa fase é a janela de susceptibilidade imunológica. Muitos componentes do sistema imune não estão funcionais até que o bezerro atinja pelo menos de 2 a 4 semanas de idade e podem continuar em desenvolvimento até a puberdade destes animais. Com a queda das concentrações séricas de imunoglobulinas absorvidas após a ingestão de colostro ocorrendo também neste período (2 a 4 semanas de idade), bezerros ficam mais susceptíveis a infecções nesta faixa etária (Chase *et al.*, 2008).

Entre as bezerras avaliadas no estudo longitudinal, 7,4% (2/27) apresentaram TIP ruim, 18,5% (5/27) regular, 11,1% (3/27) boa, e 63,0% (17/27) ótima. A proporção de bezerras em cada categoria está de acordo com o recomendado por Godden *et al.* (2019) e não houve relação entre a qualidade da TIP e os casos positivos de pneumonia definidos por avaliação ultrassonográfica.

Os resultados adequados de transferência de imunidade passiva da fazenda ajudam a explicar a não ocorrência de lesões pulmonares nas três primeiras semanas de vida das bezerras. Buczinski *et al.* (2013), por exemplo, identificou lesões em bezerras a partir dos 5 dias de idade e outros estudos também apontam lesões em bezerras com menos de 3 semanas de idade (Binversie *et al.*, 2020; Mahendran, 2020).

Outro fator de risco a ser observado nos primeiros 30 dias de vida das bezerras é a ocorrência de diarreia. A desidratação (principal sinal clínico associado à diarreia) prejudica a produção de muco pelo epitélio ciliar respiratório, comprometendo o acondicionamento e movimentação destes cílios, o que, como já mencionado, é uma das primeiras barreiras de proteção contra patógenos do trato respiratório inferior. Além disso, as diarreias promovem alterações no equilíbrio hidroeletrolítico e ácido-básico de bezerras, o que também pode prejudicar a função do epitélio mucociliar (Ackerman *et al.*, 2010) A frequência de bezerras do estudo longitudinal com pelo menos um caso de diarreia durante os primeiros 30 dias de vida foi de 90,91% (30/33), proporção que cai consideravelmente após este período, sendo de 21,21% (7/33) das bezerras acometidas entre 30 e 60 dias, e 27,27% (9/33) das bezerras acometidas entre 60-88 dias de idade (p < 0,01). Com a alta frequência de ocorrência de diarreia durante os primeiros 30 dias de vida, não foi observada associação entre diarreia neste período e a ocorrência de lesões pulmonares durante a fase de aleitamento, porém a ocorrência de pneumonias após este período pode estar relacionada a consequências fisiológicas das diarreias nas bezerras.

Em dias que os animais apresentaram febre (temperatura retal $\geq 39,3^{\circ}$ C) foram feitos esfregaços de ponta de cauda. Assim, durante o período de observação do estudo, 24,24% (8/33) das bezerras foram diagnosticadas com babesiose (*Babesia bigemina*) e 6,06% (2/33) foram diagnosticadas com anaplasmose (*Anaplasma marginale*). Nenhuma das bezerras apresentou co-infecção pelos agentes etiológicos mencionados e não houve relação entre animais com babesiose ou anaplasmose e com pneumonia (p>0,05).

Ainda, a partir das avaliações realizadas no estudo longitudinal foi possível observar a evolução das lesões pulmonares frente ao protocolo de tratamento utilizado. O protocolo adotado pela fazenda consistia na administração de duas aplicações de florfenicol (20 mg/kg,

IM, com intervalo de 48h), totalizando 4 dias de ação antimicrobiana. Por sua vez, os animais incluídos no estudo longitudinal foram tratados com um protocolo base que consistia na administração de aplicação única de meloxicam (0,5 mg/kg, IV) e três aplicações de florfenicol (20 mg/kg, IM, a cada 48h), totalizando 6 dias de ação antimicrobiana. De acordo com a avaliação ultrassonográfica individual, a administração de florfenicol foi estendida para quatro ou cinco aplicações (8 a 10 dias de ação antimicrobiana) em bezerras que não apresentaram resolução da lesão (escore de US < 2) após três aplicações. Assim, a duração média das lesões que tiveram resolução com o primeiro tratamento foi de 5,8 dias e a duração média dos tratamentos foi de 7,07 dias, com a maior parte dos tratamentos seguindo o preconizado inicialmente (seis dias) (61,53%, 8/13), seguido dos tratamentos com duração de oito dias (23,07%, 3/13) e dos tratamentos com duração de 10 dias (15,38%, 2/13). Esses resultados corroboram a indicação de monitoramento proposta pelo Programa #WeanCleanTM, de repetição do exame ultrassonográfico 7 a 10 dias após o início do tratamento (Ollivett, 2019). Mais do que isso, a repetição 7 dias após o início do tratamento parece ser a ideal, visto que alguns animais precisaram estender a duração do tratamento e esta avaliação é crucial para essa tomada de decisão. A duração do tratamento decorre do tempo de resposta necessário ao sistema imune para recuperação do parênquima pulmonar afetado. Com o início do tratamento, ocorre a redução do número de bactérias vivas no parênguima pulmonar e isto diminui o estímulo para a atração de neutrófilos para as vias aéreas. Neutrófilos nas vias aéreas sofrem apoptose 1 a 2 dias após sua chegada e debris celulares e fibrina são removidos das vias aéreas via tosse e outros mecanismos celulares dentro de 7 a 10 dias (Caswell; Williams, 2016). O acompanhamento via ultrassonografia torácica da evolução das lesões pulmonares durante esse período é possível e recomendado (Holschbach et al., 2019; Binversie et al., 2020; Ollivet, 2020).

A taxa de sucesso após o tratamento inicial foi de 76,92% (10/13). Um caso teve resolução após o segundo tratamento (recidiva) (7,70%, 1/13), ao passo que dois casos não tiveram resolução da lesão durante o período de avaliação das bezerras (15,38%, 2/13). Binversie *et al.* (2020) observaram que a terapia precoce com antimicrobianos limitou a progressão da consolidação pulmonar imediatamente após o tratamento e reduziu a probabilidade da necessidade de um novo tratamento até 7 dias após o primeiro. Os autores apontam, entretanto, que a taxa de repetição de tratamentos pode ser de duas a três vezes maior do que as relatadas na literatura (Binversie *et al.*, 2020) e isso pode estar associado à definição de resolução de casos a partir da observação clínica dos animais, forma mais comum de determinação de sucesso de tratamento a campo. Ainda, a definição de sucesso de tratamento por meio de

observação clínica é utilizada como forma de determinar a eficácia de muitas drogas recomendadas para o tratamento de doenças respiratórias (DeDonder; Apley, 2015; Ollivett, 2020) e, com isso, há animais com recuperação aparente, entretanto sem recuperação bacteriológica, após a utilização de protocolos de tratamento preconizados em bula, o que favorece a ocorrência de recidivas (Holschbach *et al.*, 2019). Ajustes na definição do sucesso de tratamentos e na duração deles se fazem necessárias e a utilização da ultrassonografia torácica tem muito a acrescentar nestes quesitos.

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Monitorar broncopneumonias em rebanhos bovinos ainda é um grande desafio para o produtor. A falta de uma estratégia adequada, a utilização de métodos ineficientes e a alta ocorrência de casos subclínicos são fatores determinantes para o insucesso na detecção correta e precoce dessas enfermidades a campo e ajuda a explicar por que elas permanecem relevantes quando mapeamos as causas de morbidade e mortalidade em bezerros.

Com base nos resultados obtidos na fazenda avaliada no estudo, podemos sugerir programa de monitoramento que consiste no foco para avaliação clínica (escores respiratórios) em bezerras a partir das 3 semanas de idade até o desaleitamento como ferramenta de triagem o uso da ultrassonografia torácica nesta fase para confirmação dos casos (condicionando o tratamento a partir desta confirmação); e a avaliação de bezerras no momento do desaleitamento e em torno dos 45 dias de idade para detecção de possíveis casos subclínicos que escaparam aos métodos de triagem. A UST também deveria ser utilizada em bezerras pós-desaleitamento como ferramenta para o diagnóstico diferencial de tristeza parasitária bovina. Por fim, aumentar o período de tratamento dos casos de pneumonia preconizando uma cobertura antibiótica de pelo menos 8 dias é aconselhável. Com essas medidas, espera-se melhorar a acurácia do diagnóstico de pneumonia e, consequentemente, aumentar a taxa de sucesso dos tratamentos e diminuir o uso indevido de antimicrobianos. Estas recomendações, embora se adequem à realidade do rebanho avaliado podem servir de base para outros rebanhos, feitas as devidas adaptações.

Outro aspecto determinante quando pensamos na redução da prevalência de enfermidades em geral, e das broncopneumonias em particular, e que não foram abordados com profundidade neste estudo, são os fatores de risco intrínsecos e extrínsecos associados à sua ocorrência. Estabelecer os fatores de risco presentes em cada fazenda também deve fazer parte do processo de desenvolvimento de um programa de monitoramento de DRB.

Por fim, considerando a facilidade do uso a campo e dos acréscimos apresentados pela utilização da ultrassonografia torácica no monitoramento de DRB em bezerras, adicionar esta técnica à rotina de diagnóstico de pneumonia e no direcionamento dos protocolos de tratamento a serem adotados é altamente recomendável e cada vez mais necessário se quisermos avançar na forma como lidamos com as pneumonias de bezerras nos próximos anos. Sua introdução, entretanto, não descarta a necessidade e importância de outros métodos de diagnóstico e monitoramento, seja para triagem de animais doentes (escores clínicos e auscultação pulmonar) ou para confirmação de diagnósticos (necropsia).

8 CONCLUSÕES

Na situação da fazenda estudada, a frequência de pneumonia nos bezerros é relativamente moderada, sem diferença na frequência entre bezerras em aleitamento e desmamadas e uma relação de um caso subclínico para cada caso clínico;

A avaliação ultrassonográfica identifica lesões pulmonares mais precocemente do que os métodos de avaliação de escore clínico e é capaz de detectar casos subclínicos de pneumonia;

A faixa etária de 4 a 5 semanas apresenta a maior frequência de primo-infecções de pneumonia e deve ser a principal categoria de bezerras a ser monitorada para a detecção de doenças respiratórias;

A ultrassonografia torácica pode ser utilizada para a avaliação de protocolos de tratamento para pneumonia e auxiliar na definição da duração dos tratamentos implementados;

A ultrassonografia torácica teve concordância razoável com os escores de WI (k=0,302) e da CA (k=0,274) e moderada com a auscultação pulmonar (k=405);

Todos os métodos avaliados apresentam limitações que podem ser supridas total ou parcialmente pelo uso em conjunto de métodos diferentes.

9 REFERÊNCIAS

ACKERMANN, M. R.; DERSCHEID, R.; ROTH, J. A. Innate immunology of bovine respiratory disease. **Veterinary Clinics of North America - Food Animal Practice**, v. 26, n. 2, p. 215–228, 2010.

ALY, S. S. et al. Agreement between bovine respiratory disease scoring systems for pre-weaned dairy calves. **Animal Health Research Reviews**, v. 15, n. 2, p. 148–150, 2014.

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

ANHOLT, R. M. et al. Antimicrobial susceptibility of bacteria that cause bovine respiratory disease complex in Alberta, Canada. **Frontiers in Veterinary Science**, v. 4, p. 207, 2017.

ASSIS-BRASIL, N. D. et al. Enfermidades diagnosticadas em bezerros na região sul do rio grande do Sul. **Pesquisa Veterinaria Brasileira**, v. 33, n. 4, p. 423–430, 2013.

BABA, R. K.; VAZ, M. S. M. G.; DA COSTA, J. Correção de dados agrometeorológicos utilizando métodos estatísticos. **Revista Brasileira de Meteorologia**, v. 29, n. 4, p. 515–526, 2014.

BAPTISTA, A. L. et al. Bovine respiratory disease complex associated mortality and morbidity rates in feedlot cattle from southeastern Brazil. **Journal of Infection in Developing Countries**, v. 11, n. 10, p. 791–799, 2017.

BAPTISTE, K. E.; KYVSGAARD, N. C. Do antimicrobial mass medications work? A systematic review and meta-analysis of randomised clinical trials investigating antimicrobial prophylaxis or metaphylaxis against naturally occurring bovine respiratory disease. **Pathogens and Disease**, v. 75, n. 7, 2017.

BARUCH, J. et al. Performance of multiple diagnostic methods in assessing the progression of bovine respiratory disease in calves challenged with infectious bovine rhinotracheitis virus and mannheimia haemolytica. **Journal of Animal Science**, v. 97, n. 6, p. 2357–2367, 2019.

BERMAN, J. et al. Bayesian estimation of sensitivity and specificity of systematic thoracic ultrasound exam for diagnosis of bovine respiratory disease in pre-weaned calves. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 162, p. 38–45, 2019.

BINVERSIE, E. S. 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. **Journal of Dairy Science**, v. 103, n. 12, p. 11723–11735, 2020.

BOOKER C.W. et al. Microbiological and histopathological findings in cases of fatal bovine respiratory disease of feedlot cattle in Western Canada. **Canadian Veterinary Journal**, v. 49, p. 473–481, 2008.

BUCZINSKI, S. et al. Inter-rater agreement and reliability of thoracic ultrasonographic findings in feedlot calves, with or without naturally occurring bronchopneumonia. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 32, n. 5, p. 1787–1792, 2018.

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. **Journal of Dairy Science**, v. 101, n. 3, p. 2423–2432, 2018.

- BUCZINSKI, S.; FORTE, G.; BELANGER, A.M. Short communication: ultrasonographic assessment of the thorax as a fast technique to assess pulmonary lesions in dairy calves with bovine respiratory disease. **Journal of Dairy** Science, v. 96, p. 4523–4528, 2013.
- BUCZINSKI, S.; FORTE, G.; FRANCOZ, D.; BELANGER, A.M. Comparison of thoracic auscultation, clinical score, and ultrasonography as indicators of bovine respiratory disease in preweaned dairy calves. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 28, p. 234–242, 2014.
- BUCZINSKI, S.; MÉNARD, J.; TIMSIT, E. Incremental Value (Bayesian Framework) of Thoracic Ultrasonography over Thoracic Auscultation for Diagnosis of Bronchopneumonia in Preweaned Dairy Calves. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 30, n. 4, 2016.
- BUCZINSKI, S.; PARDON, B. Bovine Respiratory Disease Diagnosis: What Progress Has Been Made in Clinical Diagnosis? **Veterinary Clinics of North America Food Animal Practice**, v. 36, n. 2, p. 399–423, 2020.
- CASWELL, J. L.; ARCHAMBAULT, M. Mycoplasma bovis pneumonia in cattle. **Animal Health Research Reviews**, v. 8, n. 2, p. 161–186, 2007.
- CASWELL, J.L., WILLIAMS K.J. Respiratory system. In: Maxie G, editor, Pathology of domestic animals, vol 2. St Louis (USA): Saunders; 2016. p. 465.
- CHASE, C. C. L.; HURLEY, D. J.; REBER, A. J. Neonatal immune development in the calf and its impact on vaccine response. **The Veterinary Clinics of North America Food Animal Practice**, v. 24, n. 1, p. 87–104, 2008.
- COUTINHO, A. S. Mannheimiose pneumônica experimentalmente induzida em bezerros pela Mannheimia (Pasteurella) haemolytica A1- cepa D153: achados do exame físico, hemograma e swabs nasal e nasofaringeano. 2004. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) -Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Botucatu, São Paulo, 2004.
- 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. **Journal of Dairy Science**, v. 102, n. 5, 2019.
- CUEVAS-GÓMEZ, I. et al. Association between clinical respiratory signs, lung lesions detected by thoracic ultrasonography and growth performance in pre-weaned dairy calves. **Irish Veterinary Journal**, v. 74, n. 1, 2021.
- DABO, S. M.; TAYLOR, J. D.; CONFER, A. W. Pasteurella multocida and bovine respiratory disease. **Animal health research reviews**, v. 8, n. 2, p. 129–150, 2007.
- 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. **The Veterinary Clinics of North America Food Animal Practice**, v. 31, n. 1, p. 97–111, 2015.
- DIRKSEN, G.; GRÜNDER, H. D.; STÖBER, M. Rosenberger: Exame clínico dos bovinos. 3 ed., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S.A., p. 139, 1993.

DUBROVSKY, S. A. et al. Preweaning cost of bovine respiratory disease (BRD) and costbenefit of implementation of preventative measures in calves on California dairies: The BRD 10K study. **Journal of Dairy Science**, v. 103, n. 2, p. 1583–1597, 2020.

DUNN, T. R. et al. The effect of lung consolidation, as determined by ultrasonography, on first-lactation milk production in Holstein dairy calves. **Journal of Dairy Science**, 2018.

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

FULTON, R. W.; CONFER, A. W. Laboratory test descriptions for bovine respiratory disease diagnosis and their strengths and weaknesses: gold standards for diagnosis, do they exist? **Canadian Veterinary Journal**, v. 53, n. 7, p. 754–761, 2012.

GAETA, N. C. et al. Deciphering upper respiratory tract microbiota complexity in healthy calves and calves that develop respiratory disease using shotgun metagenomics. **Journal of Dairy Science**, 2017.

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.

GRIFFIN, D. et al. Bacterial pathogens of the bovine respiratory disease complex. **Veterinary Clinics of North America - Food Animal Practice**, v. 26, n. 2, p. 381–394, 2010.

GUTERBOCK, W. M. The impact of BRD: the current dairy experience. **Animal Health Research Reviews**, v. 24, n. 6, p. 130–134, 2014.

KIRSCHVINK N. Respiratory function in cattle: impact of breed, heritability, and external factors. **Dtsch Tierartzl Wochenschr**, v. 115, p. 265–270, 2008.

LANDIS, J. R.; KOCH, G. G. The measurement of observer agreement for categorical data. **Biometrics**, v. 33, p. 159–174, 1977.

LILLIE, L. E. The bovine respiratory disease complex. **The Canadian Veterinary Journal**, v. 15, n. 9, p. 233–242, 1974.

LOPEZ A., MARTINSON S.A. Sistema respiratório, mediastino e pleuras. In: ZACHARI J.F. **Bases da Patologia em Veterinária**. 6^a ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2018. p. 471.

LOVE, W. J. 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, n. 1, 2014.

LOVE, W. J. et al. Sensitivity and specificity of on-farm scoring systems and nasal culture to detect bovine respiratory disease complex in preweaned dairy calves. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 28, n. 2, 2016.

MAGALHAES, L.Q. et al. Use of metaphylatic protocols based on the risk to develop bovine respiratory disease in feedlot cattle. **Ciência Rural**, v. 47, n. 8, 2017.

MAHENDRAN S. et al. Randomised positive control trial of NSAID and antimicrobial treatment for calf fever caused by pneumonia. **Veterinary Record**, v. 181, n. 2, 2017.

MAHENDRAN, S. A. Use of fever detection in combination with thoracic ultrasonography to identify respiratory disease, and compare treatments of antimicrobials and NSAID: a randomised study in dairy calves. **Veterinary Record Open**, v. 7, n. 1, 2020.

MAIER, G. et al. Development of a clinical scoring system for bovine respiratory disease in weaned dairy calves. **Journal of Dairy Science**, v. 102, n. 8, 2019.

MCGUIRK, S.M. Disease management of dairy calves and heifers. **Veterinary Clinics of North America - Food Animal Practice**, v. 24, 2008.

MOISÁ, S. J. et al. Association of plasma haptoglobin concentration and other biomarkers with bovine respiratory disease status in pre-weaned dairy calves. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 31, n. 1, p. 40–46, 2019.

NOFFSINGER, T. et al. Field results from Whisper® stethoscope studies. **Animal Health Research Reviews**, v. 73, n. 4, p. 142–144, 2014.

OLLIVETT, T. et al. Ultrasonographic progression of lung consolidation after experimental infection with *Mannheimia haemolytica* in Holstein calves. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 27, p. 673, 2013.

OLLIVETT, T. L. Brd treatment failure: Clinical and pathologic considerations. **Animal Health Research Reviews**, v. 21, n. 2, p. 175–176, 2020.

OLLIVETT, T. L. Calf Health Module – #WeanClean. In: The Dairyland Initiave: Calf Health Module. School of Veterinary Medicine – University of Wisconsin-Madison. Madison, 2019. Disponível em: https://thedairylandinitiative.vetmed.wisc.edu/home/calf-health-module/. Acesso em: 15 out. 2021.

OLLIVETT, T. L. et al. Thoracic Ultrasonography and Bronchoalveolar Lavage Fluid Analysis in Holstein Calves with Subclinical Lung Lesions. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 29, n. 6, p. 1728–1734, 2015.

OLLIVETT, T. L.; BUCZINSKI, S. On-Farm Use of Ultrasonography for Bovine Respiratory Disease. **Veterinary Clinics of North America - Food Animal Practice**, v. 32, n. 1, p. 19–35, 2016.

OLLIVETT, T.L. Understanding the Diagnosis and Risk Factors for Respiratory Disease in Dairy Calves. 2014. 137f. Tese (PhD) – Department of Population Medicine, University of Guelph, Guelph, 2014.

PANCIERA, R. J.; CONFER, A. W. Pathogenesis and pathology of bovine pneumonia. The Veterinary clinics of North America. Food animal practice, v. 26, n. 2, p. 191–214, 2010.

PARDON, B.; BUCZINSKI, S.; DEPREZ, P. R. Accuracy and inter-rater reliability of lung auscultation by bovine practitioners when compared with ultrasonographic findings. **Veterinary Record**, v. 185, n. 4, 2019.

PORTILLO, T. et al. Pen riding and evaluation of cattle in pens to identify compromised individuals. American Association of Bovine Practitioners Proceedings of the Annual Conference, p. 5–8, 2014.

RADEMACHER, R. D. et al. Systematic thoracic ultrasonography in acute bovine respiratory disease of feedlot steers: impact of lung consolidation on diagnosis and prognosis in a case-control study. **Bovine Practitioner**, v. 48, n. 1, p. 1–10, 2014.

RICE, J. A. et al. *Mannheimia haemolytica* and bovine respiratory disease. **Animal Health Research Reviews**, v. 8, n. 2, p. 117–128, 2007.

SARTORI, S.; TOMBESI, P. Emerging roles for transthoracic ultrasonography in pulmonary diseases. **World Journal of Radiology**, v. 2, n. 6, p. 203–14, 2010.

SMITH, R. A.; STEP, D. L.; WOOLUMS, A. R. Bovine Respiratory Disease: Looking Back and Looking Forward, What Do We See? **Veterinary Clinics of North America - Food Animal Practice**, v. 36, n. 2, p. 239–251, 2020.

SNYDER, E. et al. Prevalence of multi drug antimicrobial resistance in Mannheimia haemolytica isolated from high-risk stocker cattle at arrival and two weeks after processing1. **Journal of Animal Science**, v. 95, n. 3, p. 1124–1131, 2017.

SOUZA, R. S. et al. Monitoring bovine tick fever on a dairy farm: An economic proposal for rational use of medications. **Journal of Dairy Science**, v. 104, n. 5, p. 5643–5651, 2021.

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

STANTON, A. L. 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. **Journal of Dairy Science**, v. 95, n. 9, p. 4950–4960, 2012.

STOKKA, G.L. Prevention of respiratory disease in cow/calf operations. **Veterinary Clinics of North America - Food Animal Practice**, v. 26, n. 2, p. 229–241, 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. Journal of Dairy Science, v. 100, n. 4, p. 2985–2991, 2017.

TIMSIT, E. 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. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 135, p. 67–73, 2016.

USDA. Dairy 2014, Health and Management Practices on U.S. Dairy Operations. Fort Collins (CO): USDA: APHIS:VS, CEAH, 2014.

VAN DER FELS-KLERX, H.J. et al. An economic model to calculate farm-specific losses due to bovine respiratory disease in dairy heifers. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 51, p. 75-94, 2001.

WEARY, D. M.; HUZZEY, J. M.; VON KEYSERLINGK, M. A. G. Board-invited Review: Using behavior to predict and identify ill health in animals. **Journal of Animal Science**, v. 87, n. 2, p. 770–777, 2009.

WOOLUMS, A.R. Diseases of the Respiratory System. In: SMITH, B.P. Large Animal Internal Medicine. 5^a ed. Elsevier: St. Louis, 2015. p. 461.