

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

MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO NA AVALIAÇÃO PULMONAR DE BEZERROS

JOÃO PAULO ANDRADE

**Belo Horizonte
Escola de Veterinária – UFMG
2017**

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

MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO NA AVALIAÇÃO PULMONAR DE BEZERROS

JOÃO PAULO ANDRADE

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

Área de concentração: Medicina e Cirurgia Veterinárias

Orientador: Antônio Último de Carvalho

Co-orientadora: Anelise Carvalho Nepomuceno

**Belo Horizonte
Escola de Veterinária – UFMG
2017**

A553m Andrade, João Paulo, 1990-
Métodos de diagnóstico na avaliação pulmonar de bezerros / João Paulo Andrade. –
2017.
76 p. : il.

Orientador: Antônio Último de Carvalho
Co-orientadora: Anelise Carvalho Nepomuceno
Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Minas Gerais. Escola de Veterinária
Inclui bibliografia

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

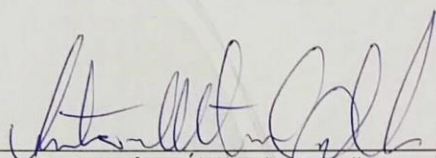
CDD – 636.208 96

FOLHA DE APROVAÇÃO

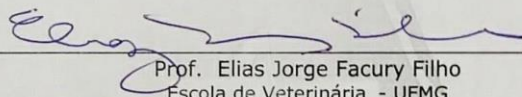
JOÃO PAULO ANDRADE

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 VETERINÁRIAS.

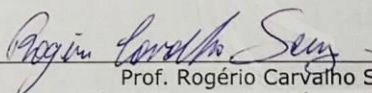
Aprovada em 07 de Fevereiro de 2017, pela banca constituída pelos membros:



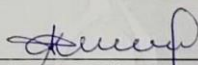
Prof. Antônio Último de Carvalho
Presidente - Orientador



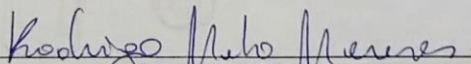
Prof. Elias Jorge Facury Filho
Escola de Veterinária - UFMG



Prof. Rogério Carvalho Souza
Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais - PUC - Minas



Profª. Anelise Carvalho Nepomuceno
Escola de Veterinária - UFMG



Prof. Rodrigo Melo Meneses
Escola de Veterinária - UFMG



Dedicatória

*Dedico este trabalho a Deus por me guiar,
e a todos, pela orientação, incentivo e apoio,
que ajudaram a transformar
os obstáculos em vitórias*

Agradecimentos

A Deus por me guiar e iluminar bons caminhos na minha vida.

Aos meus pais João e Cleonice, minha irmã Maria Cecília que sempre me apoiam e sem eles nada seria possível.

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

A Layanne por me fazer feliz em todos os momentos.

Aos professores da PUC-Betim, Rogério, Isabella, Hudson e Maria Isabel por todos os ensinamentos.

Aos meus orientadores, Professor Último, Professor Elias, e Professora Anelise por todo conhecimento compartilhado, disponibilidade e contribuição para realização deste trabalho. Os Professores Rodrigo, Professor Gustavo e Professor Lívio que sempre estão disponíveis em ajudar e aconselhar.

A Professora Fabíola, Professor Paulo, Professor Rafael pela contribuição em disponibilizar laboratórios e equipamentos que permitiram realização deste trabalho.

A todos que trabalharam diretamente para realização desse trabalho Layanne, Filipe, Rafael, Luana, Markus, Thaís, Jerusa, Isabela, Raquel.

Agradeço a toda família da Clínica de Ruminantes, doutorandos, mestrandos, residentes e alunos de iniciação científica pelo apoio.

SUMÁRIO

RESUMO.....	12
ABSTRACT.....	13
1. INTRODUÇÃO	14
2. OBJETIVOS	15
2.1 Objetivo Geral.....	15
2.2 Objetivos Específicos	15
3. REVISÃO DE LITERATURA	16
3.1. Sistema respiratório dos bovinos e fatores de risco para doença respiratória.....	16
3.2 Métodos de diagnóstico da doença pulmonar	19
3.2.1 Auscultação Pulmonar.....	19
3.2.2 Métodos de Escore Respiratório	21
3.2.3 Ultrassonografia Pulmonar	22
3.2.4 Radiografia Torácica	26
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	30
4.1 Local do experimento	30
4.2 Utilização dos Animais	31
4.3 Coletas de dados.....	31
4.3.1 Exame Físico	31
4.3.2 Escore Respiratório de Wisconsin	32
4.3.3 Escore Respiratório da Califórnia.....	33
4.3.4 Auscultação Pulmonar	33
4.3.5 Ultrassonografia Pulmonar	33
4.3.6 Radiografia Torácica	34
4.3.7 Coleta de sangue para avaliação laboratorial.....	34
4.3.8 Avaliação da temperatura e umidade ambiente	35
4.4 Avaliações laboratoriais	38
4.5 Tratamentos dos animais	39
4.6 Análise estatística	39
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	40
5. 1 Frequência de animais positivos para doença pulmonar	40

5. 2 Análise de concordância das técnicas de avaliação.	44
5. 3 Nível de eficiência das técnicas considerando a Radiografia Torácica como “padrão ouro” no diagnóstico da doença pulmonar	47
5. 4 Nível de eficiência das técnicas considerando a Ultrassonografia Pulmonar como “padrão ouro” no diagnóstico da doença pulmonar	52
5. 5 Casos de pneumonia clínica comparados quanto a sua identificação nas técnicas de avaliação	55
5. 6 Parâmetros clínicos e laboratoriais no diagnóstico da doença respiratória	58
5. 7 Avaliação <i>post mortem</i> e sua relação com as técnicas de diagnóstico	61
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS	63
7. CONCLUSÕES	63
8. REFERÊNCIAS	64
9. ANEXOS	73

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Descrição anatômica do pulmão bovino A- Pulmão esquerdo 1-Lobo cranial, 1a- Porção cranial, 1b- Porção caudal 2-Lobo caudal; B- Pulmão direito 3 - Lobo cranial, 3a- Porção cranial, 3b- Porção caudal, 4- lobo médio, 5- Lobo caudal.....	17
Figura 2	Figura 2 – A - Instalações dos animais no Galpão da Clínica de Ruminantes em sistema de criação em baias na primeira semana de vida B – Instalações após a primeira semana de vida em sistema de <i>tie stall</i> ; C- Escore de fezes D- Exame de Radiografia Torácica dos animais E- Posicionamento do Bezerro para exame de Ultrassonografia Pulmonar e marcação para descrever o local das alterações F- Realização do exame de Ultrassonografia Pulmonar.....	36
Figura 3	Figura 3 – Imagens do exame de Ultrassonografia Pulmonar: A- Pulmão normal, musculatura ({), Pleuras (⇨), Linhas A do artefato de reverberação (⇐); B – Pulmão com artefatos de Linhas B ou Artefato de “Cauda de Cometa” (⇨); C – Pulmão com a presença de “Caudas de Cometa” incontáveis (Grau 1)(⇨) D- Consolidação pulmonar (Grau 3) (⌋) E- Consolidação pulmonar (Grau 4) (⌋) ; F- Consolidação Pulmonar (Grau 5) (⌋)	37
Figura 4	Figura 4 - Imagens do exame de Radiografia Torácica A- Pulmão com padrão normal; B – com Padrão Intersticial; C - Padrão bronquial (espessamento dos brônquios indicados pelas setas); D – com Padrão alveolar.....	38
Figura 5	Figura 5: Distribuição dos Índices de Temperatura e Umidade (ITU), referente a temperatura e umidade máximas (ITU máx.) e mínimas (ITU mín.), observados durante o período do experimento, segundo classificação de Filder e VanDevender (2002)	43
Figura 6	Figura 6 - Fatores de risco para doença pulmonar A- Bezerros com diarreia nas duas primeiras semanas de vida B- Onfalopatias,(bezerro com espessamento do umbigo externo e arqueado devido a dor provocada pela inflamação no umbigo); C- Bezerros em baias coletivas, D- Limpeza do galpão com água sobre pressão.....	44
Figura 7	Figura 7: Distribuição do total de casos positivos por técnica nos 7 momentos de avaliação de acordo com a idade dos bezerros	45
Figura 8	Figura 8 - Distribuição das médias de temperatura retal e frequência respiratória, 10 dias antes e 10 dias após o tratamento para pneumonia clínica. *Os ♦ na linha indicam os momentos em que os valores médios passaram a ser diferentes (p<0,05)	58
Figura 9	Figura 9- Figura 9- Necropsia do bezerro B19. A- Dissecção da musculatura para visualização da área examinável a ultrassonografia; B - Imagem radiográfica pulmonar apresentando alta radiopacidade pulmonar; C - Retirada das costelas e visualização das lesões pulmonares sobre todo lobo	

pulmonar cranial esquerdo e parte do caudal; D - Imagem de Ultrassonografia Pulmonar, mostrando grande porção de pulmão consolidado, o local correspondente à imagem está indicado pela seta na figura C e D. 62

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Parâmetros para determinação do Escore Respiratório de Wisconsi (WI), segundo McGuirk (2008)	33
Tabela 2	Frequência de bezerras com doença pulmonar nas avaliações de Ultrassonografia Pulmonar, Radiografia Torácica, Auscultação Pulmonar, Escore de WI e Escore da CA, dos 39 bezerras avaliados dos três aos 59 dias de vida.....	30
Tabela 3	Frequência de avaliações positivas e negativas nos métodos de diagnóstico para doença pulmonar: Ultrassonografia Pulmonar, Radiografia Torácica, Auscultação Pulmonar e Escore respiratório de WI e da CA, em bezerras até 59 dias de idade.....	45
Tabela 4	Análise de concordância entre os métodos de diagnóstico para doença pulmonar, Ultrassonografia Pulmonar, Radiografia Torácica, Auscultação Pulmonar, Escore respiratório de WI e da CA, em bezerras de três aos 59 dias de vida.....	46
Tabela 5	Sensibilidade (Se), Especificidade (Es), Valor Preditivo Positivo (VPP) e Valor Preditivo Negativo (VPN) da Ultrassonografia Pulmonar, Auscultação Pulmonar, Escore de WI e Escore da CA, comparadas as avaliações a Radiografia Torácica, realizados em bezerras de três aos 59 dias de vida.....	47
Tabela 6	Número de avaliações positivas à Radiografia Torácica classificadas nos Padrões Intersticiais/Bronquiais e Alveolares e correspondência destes nas técnicas de Ultrassonografia Pulmonar, Auscultação Pulmonar, Escore de WI e Escore da CA e as médias de Frequência Respiratória (FR) e Temperatura Retal (TR) nos dois padrões.....	48
Tabela 7	Sensibilidade (Se), Especificidade (Es), Valor Preditivo Positivo (VPP) e Negativo (VPN) da Radiografia Torácica, Auscultação Pulmonar, Escore WI e Escore CA comparadas aos casos positivos e negativos a Ultrassonografia Pulmonar, observados nas 237 avaliações realizadas em 39 bezerras, dos 3 aos 59 dias de vida.....	52
Tabela 8	Apresentação das 237 avaliações a Ultrassonografia Pulmonar divididas em Graus (0 a 5) e os respectivos casos que foram positivos nas técnicas de Radiografia Torácica, Auscultação Pulmonar, Escore de Wisconsi e Escore da Califórnia.....	53
Tabela 9	Avaliação dos casos de pneumonia clínica em bezerras anterior e posterior ao tratamento: Ultrassonografia Pulmonar (UL), Radiografia Torácica (RX), Auscultação Pulmonar (AU), Escore Respiratório de Wisconsi (WI) e Escore Respiratório da Califórnia (CA).....	56

Tabela 10	Resultado dos exames de Auscultação Pulmonar (AU), Escore de Wisconsin (WI) e Escore da Califórnia (CA), até 7 dias antes do diagnóstico dos 11 casos de pneumonia clínica em bezerros avaliados no período de três aos 59 dias de vida.....	57
Tabela 11	Valores médios de Fibrinogênio, Leucócitos Totais, Frequência Cardíaca, Frequência Respiratória e Temperatura Retal, dos casos positivo e negativos a avaliação de Ultrassonografia Pulmonar, Radiografia Torácica, Auscultação Pulmonar, Escore de Wisconsin e Escore da Califórnia, idade entre 3 e 59 dias de vida.....	59
Tabela 12	Resultado da avaliação de Auscultação Pulmonar (AU), Escore de WI (EWI), Escore da CA (ECA), Ultrassonografia Pulmonar (UL) e Radiografia Torácica (RX) de oito bezerros anterior ao óbito.....	61

LISTA DE ABREVIATURAS

AU	Auscultação Pulmonar
CA	Escore da Califórnia
Cl	Cloro
CRB	Complexo da Doença Respiratória Bovina.
DFF	Distância foco-filme
Es	Especificidade
Escore da CA	Escore da Califórnia
Escore de WI	Escore de Wisconsin
FR	Frequência Respiratória
Hz	Hertz
ITU	Índice de Temperatura e Umidade
<i>K</i>	Índice <i>Kappa</i>
kVp	Quilovoltagem
L	Litro
mA	Miliampères
mA/s	Miliampères/segundo
MHz	Mega-hertz
ml	Mililitros
mm	Milímetros
mMol/L	Milimol/litro
mrpm	Movimentos respiratórios por minuto
PA	Padrão alveolar
PB	Padrão Bronquial
PCR	Reação em Cadeia da Polimerase
RX	Radiografia Torácica
Se	Sensibilidade
T	Temperatura
UL	Ultrassonografia Pulmonar
UR	Umidade relativa do ar
VPN	Valor preditivo negativo
VVP	Valor preditivo positivo
WI	Escore de Wisconsin

RESUMO

Objetivou-se avaliar a aplicação de métodos de diagnóstico na avaliação da saúde pulmonar em bovinos. Foram utilizados 39 bezerros da raça Holandez x Gir (1/2H/G a 31/32H/G), avaliados dos três aos 60 dias de vida, através de exame físico diário, com avaliação da frequência cardíaca, respiratória, temperatura retal e escore de fezes. Em sete momentos pré-estabelecidos aos 3-5, 10-12, 17-18, 24-25, 31-34, 45-46 e 59-60 dias de vida, ou em qualquer período do experimento que o animal apresentou um quadro de pneumonia no exame clínico diário foi realizada técnicas de avaliação de Auscultação Pulmonar, Escore de Wisconsin (WI), Escore da Califórnia (CA), Radiografia Torácica, Ultrassonografia Pulmonar e coleta de sangue para avaliação laboratorial. Ao avaliar o resultado em conjunto das cinco técnicas empregadas 79,49% (31/39) dos animais apresentaram-se positivos em, pelo menos, uma avaliação em alguma das 5 técnicas e 25,65% (10/39) dos animais foram tratados, pelo menos uma vez, para pneumonia durante o estudo. Foram realizadas 237 avaliações, dessas 23,63% foram positivas à Radiografia Torácica, 16,48% à Ultrassonografia Pulmonar, 9,70% à Auscultação Pulmonar, 12,22% no Escore da CA e 11,82% no Escore de WI. Na análise de concordância (k) entre as técnicas houve concordância moderada entre as técnicas de Radiografia Torácica e Ultrassonografia Pulmonar ($k=0,507$) e entre Auscultação Pulmonar e métodos de Escore de WI ($k=0,583$) e CA ($k=0,482$), e substancial entre os dois métodos de Escore WI e CA ($k=0,661$). Considerando a radiografia torácica como padrão para o diagnóstico de doença pulmonar, a sensibilidade do exame de Ultrassonografia Pulmonar foi de 52%, 25% à Auscultação Pulmonar, 25% ao Escore de WI e 18% no Escore da CA. Nas avaliações à Ultrassonografia Pulmonar, 40 avaliações evidenciaram áreas pulmonares com consolidações maiores de 1cm. As sensibilidades das outras técnicas para detectar essas lesões foram de 73% à Radiografia Torácica, 30% para Auscultação Pulmonar e 33% nos Escores de WI e da CA. Os fatores de risco presentes para doença respiratória foram à diarreia, onfalites, estresse pelo transporte, presença de aerossóis e o estresse calórico. A presença de bezerros assintomáticos e com alterações pulmonares à imagem reduziram a concordância e a sensibilidade dos métodos clínicos em relação aos de imagem. O Padrão intersticial à Radiografia Torácica pulmonar foi responsável por reduzir a correspondência com a Ultrassonografia Pulmonar, contudo apresentou alta taxa de recuperação espontânea. A temperatura retal diária, apesar de ser pouco específica, apresentou ser uma ferramenta auxiliar importante na avaliação da saúde pulmonar de bezerros e essa se mostrou elevada três dias antes do diagnóstico de um caso clínico. No diagnóstico da doença pulmonar todas as técnicas utilizadas no estudo foram úteis, contudo as particularidades das lesões e de cada técnica de diagnóstico interferiram no diagnóstico da doença pulmonar.

Palavras Chave: Auscultação Pulmonar, Escore Respiratório de Wisconsin, Escore Respiratório da Califórnia, Ultrassonografia Pulmonar, Radiografia Torácica, Bovino.

ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the application of diagnostic methods in the assessment of pulmonary health in cattle. Thirty - nine calves of the crossbreed Hosten x Gir (1/2H to 31 / 32H), evaluated from three to 60 days of life, were evaluated through daily physical examination, with evaluation of heart rate, respiratory rate, rectal temperature and fecal score. At seven pre-established times at 3-5, 10-12, 17-18, 24-25, 31-34, 45-46 and 59-60 days of life, or in any period of the experiment, that the animal presented of pneumonia in the daily clinical examination in addition to the daily physical examination, techniques of evaluation of Pulmonary Auscultation, WI Score, CA Score, Thoracic Radiography, Pulmonary Ultrasonography and blood collection for laboratory evaluation were performed. When evaluating the combined results of the five techniques employed, 79.49% (31/39) of the animals were positive in at least one evaluation in any of the 5 techniques and 25.65% (10/39) of the animals were treated at least once for pneumonia during the study. . There were 237 evaluations, of which 23.63% were positive for Thoracic Radiography, 16.48% for Pulmonary Ultrasonography, 9.70% for Pulmonary Auscultation, 12.22% for CA Score and 11.82% for WI Score. In the analysis of agreement between the techniques, there was a moderate agreement between the techniques of Thoracic Radiography and Pulmonary Ultrasonography ($k = 0.507$) and between Auscultation and WI Score ($k = 0.583$) and CA ($k = 0.482$), and substantial among two methods of score ($k = 0.661$). Considering Thoracic Radiography as the standard for the diagnosis of pulmonary disease, the sensitivity of the Pulmonary Ultrasonography examination was 52%, 25% at auscultation, 25% at WI Score and 18% at CA Score. In the evaluations to Pulmonary Ultrasonography, 40 evaluations showed pulmonary areas with consolidations larger than 1cm. The sensitivities of the other techniques to detect these lesions were 73% for Thoracic Radiography, 30% for Pulmonary Auscultation and 33% for WI and CA Scores. The risk factors present for respiratory disease were diarrhea, onfalitis, transport stress, the presence of aerosols and the caloric stress. The presence of asymptomatic calves with pulmonary changes in the image reduced the agreement and the sensitivity of the clinical methods in relation to those of the image. The Interstitial Pattern of Thoracic Radiography was responsible for reducing the correspondence with Pulmonary Ultrasonography, however, it presented a high rate of spontaneous recovery. The daily rectal temperature, although not specific, was an important auxiliary in the assessment of the pulmonary health of calves, and this was shown to be elevated three days before the diagnosis of a clinical case. In the diagnosis of pulmonary disease, all the techniques used in the study were useful, however, the particularities of the lesions and of each diagnostic technique interfered in the diagnosis of pulmonary disease.

Key words: Pulmonary auscultation, Wisconsin Respiratory Score, California Respiratory Score, Pulmonary Ultrasonography, Thoracic Radiography, bovine.

1. INTRODUÇÃO

O Brasil possui um rebanho bovino aproximado de 212 milhões de cabeças, sendo o segundo efetivo e o maior rebanho comercial do mundo. No ano de 2014 foram produzidos 35 bilhões de litros de leite (a quinta maior produção mundial) e 10,23 milhões de toneladas de carne bovina (a segunda em ordem mundial) (ABPA, 2014). Essa produção teve papel importante na economia, gerando 95,3 bilhões de reais pela carne produzida (CNA, 2014) e 33,7 bilhões de reais pelo leite produzido (IBGE, 2014). Segundo o MAPA (2015) essa importância tende aumentar nos próximos dez anos (2015-2025). A produção brasileira de carne terá um aumento de 1,9% ao ano atingindo uma produção 11,4 milhões de toneladas. Na cadeia leiteira os índices são promissores, espera-se um crescimento na produção de 2,4% ao ano, chegando a uma produção estimada em 47,5 bilhões de litros (MAPA, 2015).

Para manter esse sistema economicamente viável é necessária alta produtividade e isso começa na criação de bezerros saudáveis. Nos sistemas de produção leiteira estima-se que 75% das perdas de bezerros até um ano de vida, ocorram no período neonatal (Coelho, 2005).

As doenças respiratórias são uma das principais responsáveis por essas perdas. É denominada como Complexo da Doença Respiratória Bovina (CDRB) por possuir causa multifatorial e na maioria das vezes o seu diagnóstico e etiologia definitiva são incertos (Radostits *et al.*, 2007; McGavin *et al.*, 2007; Regev-Shoshani, 2014). Neste contexto, as broncopneumonias e pneumonias intersticiais são consideradas as de maior importância, sendo a primeira responsável por 80% dos casos (Radostits *et al.*, 2007; Divers e Peek, 2008).

Em estudo epidemiológico realizado nos Estados Unidos, estimou-se que as pneumonias são responsáveis por 21,3% e 45,6% das mortes de bezerros em aleitamento e desmamados, respectivamente, aumentando o custo de criação em US\$ 15/bezerro por ano (McGuirk, 2008). No Canadá, dados de mortalidade variaram entre 10 e 66% em sistemas de criação de bezerros confinados (Gonçalves *et al.*, 2001; Gagea *et al.*, 2006).

No Brasil, alguns trabalhos relataram a ocorrência das pneumonias em bezerros. Rabello *et al.* (1996) observaram frequência de 23,6% em bezerros examinados na Clínica de Bovinos da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE Garanhuns – PE) e Gonçalves *et al.* (2000) de 12,27% em bezerros atendidos na Clínica de Grandes Animais do Hospital Veterinário da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da UNESP (Botucatu – SP). No Rio Grande do Sul, Assis Brasil *et al.* (2013) analisaram em estudo retrospectivo 33 surtos de doença respiratória em bovinos de até 12 meses de idade, na área de influência do Laboratório Regional de Diagnóstico (LRD) da Faculdade de Veterinária da Universidade Federal de Pelotas (UFPEL), Pelotas – RS, e encontraram morbidade entre 0,06% a 100% e mortalidade de 0,06% a 34,6%.

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

Pesquisas estão sendo realizadas para alcançar métodos eficientes para diagnóstico. O estudo de parâmetros clínicos no diagnóstico das doenças respiratória em bovinos é uma ferramenta que permite determinar se um animal está com doença respiratória através da soma de escores dados de acordo com a intensidade de sinais clínicos observados, por exemplo, hipertermia, dispneia, corrimento nasal e ocular, posicionamento das orelhas, letargia e diarreia. Seu uso é de interesse por ser uma ferramenta de fácil aplicabilidade e com o intuito de ser utilizada por produtores (McGuirk, 2008; Love *et al.*, 2014).

A Auscultação Pulmonar é o exame que fornece informações importantes na avaliação do sistema respiratório (Gonçalves e Barioni, 2000). Nos casos de pneumonia, sons anormais, denominados estertores são produzidos na passagem do ar pelas vias aéreas afetadas pelo processo inflamatório (Dirksen, *et al.*, 1993). Sua eficácia é dependente da habilidade do executor da sua capacidade de interpretar os sons auscultados (Gonçalves *et al.*, 2001).

O exame clínico é importante no diagnóstico, porém é relatada sua baixa eficiência, em alguns casos, para determinar a gravidade das lesões pulmonares (Rabeling *et al.*, 1998). A partir da década de 90 tem-se intensificado o uso da ultrassonografia como método de avaliação pulmonar em bovinos (Rabeling *et al.* 1998; Reinhold *et al.* 2002; Buczinski *et al.*, 2014). Trabalhos mostraram sua correlação com achados na radiografia torácica, com exame *post mortem* de animais com lesões pulmonares e, além disso, permitiu a identificação de áreas com consolidação nem sempre identificadas à Auscultação Pulmonar (Rabeling *et al.*, 1998; Jung e Bostedt, 2004; Scott, 2013; Buczinski *et al.*, 2014).

Não existe um modelo diagnóstico único totalmente eficaz e entre os que foram desenvolvidos existem vantagens e desvantagens. Assim é fundamental o entendimento das técnicas diagnósticas, como elas podem ser utilizadas durante o monitoramento e controle da doença no rebanho.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Avaliar a aplicação dos métodos, Auscultação Pulmonar, Escore Respiratório de Wisconsin, escore Respiratório da Califórnia, Radiografia Torácica e Ultrassonografia Pulmonar na avaliação da saúde pulmonar de bezerros.

2.2 Objetivos Específicos

- ✓ Avaliar a frequência de animais diagnosticados para doença pulmonar a Auscultação Pulmonar, Escore Respiratório de Wisconsin, Escore Respiratório da Califórnia, Ultrassonografia Pulmonar e a Radiografia Torácica;
- ✓ Verificar a concordância entre as técnicas de Auscultação Pulmonar, Escore Respiratório de Wisconsin, Escore Respiratório da Califórnia, Ultrassonografia Pulmonar e Radiografia Torácica no diagnóstico da doença pulmonar;
- ✓ Avaliar a eficiência dos métodos de diagnóstico considerando a Radiografia Torácica ou a Ultrassonografia Pulmonar como “padrão ouro” de diagnóstico.

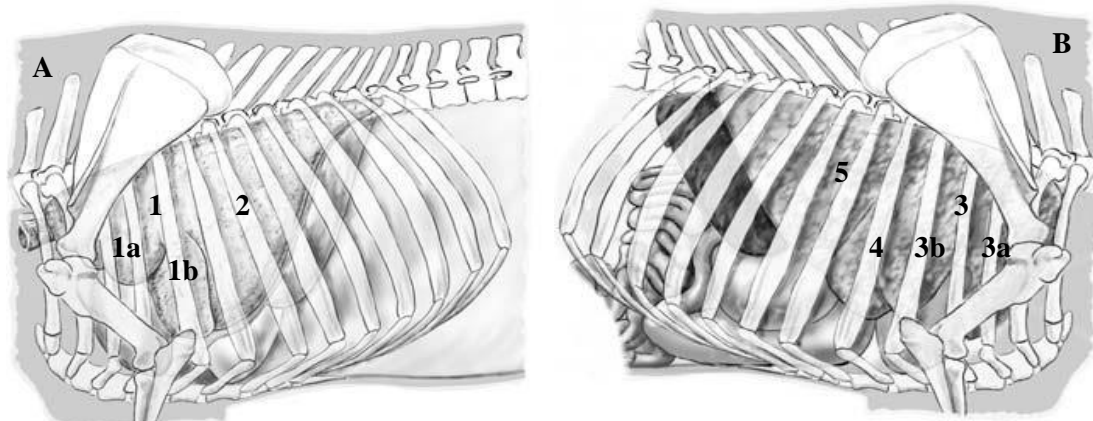
- ✓ Avaliar a eficácia das técnicas em identificar casos de pneumonia clínica, sua relação com parâmetros clínicos e laboratoriais.
- ✓ Comparar os resultados das técnicas de diagnóstico anteriores ao óbito com os achados *post mortem*.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1. Sistema respiratório dos bovinos e fatores de risco para doença respiratória

O sistema respiratório dos bovinos é dividido em superior e inferior. O trato respiratório superior compreende a cavidade nasal, faringe e laringe, possui uma microbiota comensal, compostas por bactérias patogênicas e não patogênicas ao sistema respiratório. Enquanto esse ambiente está em equilíbrio os micro-organismos não patogênicos se sobressaem, competindo por micronutrientes e receptores de ligação o que resulta na redução da colonização por agentes patogênicos. O trato respiratório inferior é composto por traqueia, brônquios, bronquíolos e o parênquima pulmonar (Ackermann *et al.*, 2010).

Os pulmões apresentam formato piramidal e lobulação pronunciada. O pulmão esquerdo é composto pelo lobo cranial, dividido em porção cranial (localizada junto ao ápice pleural) e caudal (localizada ventralmente ao pericárdio), e lobo caudal (Figura 1). Na borda ventral das duas porções craniais do lobo direito, está presente a incisura cardíaca, entre o terceiro espaço intercostal e a quinta costela, que permite o contato do saco pericárdico com a pleura parietal. O pulmão direito, maior que o esquerdo, além do lobo cranial (dividido em porção cranial e caudal) e caudal, possui o lobo médio entre os lobos cranial e caudal e o lobo acessório na porção medial do pulmão. Diferente do pulmão esquerdo, o lobo cranial direito é ventilado de forma independente pelo brônquio traqueal que se origina cranialmente à bifurcação da traqueia. Outra característica anatômica dos pulmões dos bovinos é a presença de septos de tecido conjuntivo interlobulares. Esses marcam a superfície pulmonar e prolongam-se para dentro dividindo o parênquima pulmonar em seguimentos (Jackson e Cockcroft, 2002; Dyce *et al.*, 2010).



Adaptado de Jackson e Cockcroft, 2002.

Figura 1 – Descrição anatômica do pulmão bovino A- Pulmão esquerdo 1-Lobo cranial, 1a-Porção cranial, 1b-Porção caudal 2-Lobo caudal; B- Pulmão direito 3 -Lobo cranial, 3a-Porção cranial, 3b-Porção caudal, 4- Lobo médio, 5-Lobo caudal.

Para se manter livre de infecções, o sistema respiratório dos bovinos tem diferentes mecanismos de defesa, distribuídos no trato respiratório superior e inferior, que desempenham as funções de: aquecer e umidificar o ar inspirado, manter a funcionalidade e integridade das vias aéreas, impedir a entrada de agentes patológicos no pulmão ou elimina-los e inativa-los rapidamente (Dirksen *et al.*, 1993).

Diferente do trato respiratório superior, o inferior se mantém livre da presença de patógenos e, para isso, vários mecanismos de defesa atuam em conjunto (Ackermann *et al.*, 2010; Dyce *et al.*, 2010). Toda a superfície aérea, das narinas aos brônquios, é revestida por um epitélio mucociliar importante para aquecer, umidificar (95% de umidade) e filtrar o ar inspirado, proteger contra aerossóis, vapores e patógenos (Breeze, 1985; Ackermann *et al.*, 2010). O ar quando passa nas narinas sofre um turbilhonamento e as partículas maiores 20µm aderem na mucosa da narinas, faringe e traqueia. As partículas entre cinco e 20µm se estabelecem nos brônquios e bronquíolos, e as partículas menores que 5µm podem chegar aos alvéolos, onde são inativadas e transportadas por macrófagos alveolares (Baskerville, 1981).

O aparelho mucociliar possui, em sua superfície, uma camada de muco dividida em duas partes, uma periciliar mais líquida e outra sobreposta à camada periciliar, mais superficial e mais densa. Nessa camada superficial densa estão presentes os fatores antimicrobianos (por exemplo: mucinas, lisosimas, lactoferrina, surfactantes, polipeptídeo traqueal e lingual), que são produzidos por células do próprio epitélio com a função de ligar, inativar e promover a morte de patógenos (Ackermann *et al.*, 2010). A camada mais líquida periciliar facilita o batimento ciliar, que leva constantemente o muco e partículas aderidas em direção à faringe para serem deglutidas. A velocidade de batimento é de 1000 batimentos/minuto e promove um deslocamento de 15mm/minuto, direcionando as impurezas para fora do trato respiratório inferior (Breeze, 1985).

Ainda que apresentem todas essas barreiras contra infecções, os bovinos, quando comparados às outras espécies domésticas possuem alguns fatores naturais que os tornam mais susceptíveis às doenças respiratórias. Suas vias aéreas são mais estreitas, tornando o fluxo de ar e a fluidez do muco do aparelho mucociliar mais lentos. Possuem a caixa torácica mais rígida, o que implica em

ventilação mais dependente da atividade do diafragma e atividade ventilatória basal, predispondo a ocorrência de baixos níveis de oxigênio nos brônquios e alvéolos durante períodos de atividade física ou de aumento da taxa metabólica. Essa baixa tensão de oxigênio, pode retardar a atividade do aparelho mucociliar e dos macrófagos alveolares (Flock, 2004; Radostits *et al.*, 2007).

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

Além da predisposição natural, o bovino está sujeito a vários fatores de risco que podem predispor a infecções respiratórias, entre os principais estão o estresse por temperatura, manejo nutricional inadequado, alta densidade de animais, doenças concomitantes como a diarreia e a tristeza parasitária, infecções virais, baixa imunidade, principalmente, por falhas na colostragem e instalações inadequadas com excesso de umidade, ventilação reduzida e com acúmulo de gases nocivos como a amônia. Em geral, a maior incidência de doença respiratória atinge os bezerras entre quatro a oito semanas de vida, e pode variar, dependendo do sucesso da transferência de imunidade passiva. A prevalência da doença no rebanho está diretamente ligada à influência dos fatores de risco na promoção do desequilíbrio do sistema de defesa do trato respiratório favorecendo a infecção (Coutinho, 2005; Gorden e Plummer, 2010).

Na etiologia da doença pulmonar bovina estão envolvidas principalmente infecções bacterianas, virais, fúngicas, parasitárias e agentes físicos e químicos, que atuam em conjunto ou de forma isolada (Pancieria e Confer, 2010). É relatado que os vírus podem atuar como agentes primários da doença pulmonar, pois ao infectarem as células do trato respiratório, promovem erosão do epitélio mucociliar, diminuindo a atividade de inativação e depuração, facilitando a adesão e a colonização bacteriana. Além disso, induzem imunossupressão por afetar a capacidade fagocitária de macrófagos e diminuir a proliferação de linfócitos (Srikumaran *et al.* 2007 ; Griffin *et al.*, 2010; Taylor *et al.*, 2010). Entre os vírus mais comumente envolvidos estão o Vírus Sincicial Respiratório Bovino (BRSV), Parainfluenza bovina, Vírus da Diarreia Viral Bovina (BVDV), Herpesvírus Bovino-1 (BoHV-1) e o Adenovírus bovino A-D (BAdV-A-D). Dentre as bactérias mais importantes, que podem atuar como agentes primários nas infecções estão a *Mannheimia haemolytica*, *Pasteurella multocida*, *Histophilus somni* e o *Mycoplasma bovis* (McGavin *et al.*, 2007; McGuirk, 2008; Griffin *et al.*, 2010;).

Os sinais clínicos da doença respiratória são variados e apresentam alterações pouco evidentes até o óbito. Geralmente, a intensidade varia e os animais podem apresentar dispnéia, tosse, corrimento nasal e ocular, hipertermia, taquicardia, exacerbação e alteração dos ruídos respiratórios, tosse, depressão, inapetência e anorexia (Gonçalves *et al.* 2000; Radostits *et al.*, 2007).

Devido ao curso clínico variável, o diagnóstico da doença pulmonar se torna um desafio nos sistemas de produção. Por ser feito, muitas vezes tardiamente, compromete o sucesso do tratamento pois, ao se instalar, o processo infeccioso crônico, ocorre deposição de exsudato, fibrina e redução do fluxo sanguíneo, fatores que diminuem a difusão e a ação de antibióticos.

Além disso, quando o processo não é fatal, resultam em fibrose, aderências e abscessos no tecido pulmonar, impactando o desempenho do animal de forma permanente o que afeta a viabilidade econômica do sistema de produção (Griffin *et al.*, 2010; Lorenz *et al.*, 2011; McGuirk e Peek, 2014).

3.2 Métodos de diagnóstico da doença pulmonar

3.2.1 Auscultação Pulmonar

A auscultação do sistema respiratório é o método de exame físico que traz maiores informações sobre o funcionamento desse sistema. A interpretação dos ruídos respiratórios permite inferir sobre os processos patológicos que estão envolvidos na alteração do padrão sonoro fisiológico das vias aéreas (Gonçalves *et al.*, 2001). Na técnica de Auscultação Pulmonar é utilizado o estetoscópio. O exame se inicia na traqueia e segue-se para a região pulmonar ventral, continua no sentido craniocaudal e dorsoventral, auscultando no mínimo um a dois movimentos respiratórios por local. Assim, é possível identificar e comparar o som produzido, o momento do ciclo respiratório, frequência e o local onde é produzido (Dirksen *et al.* 1993; Gonçalves, 2009; Gonçalves, 2004).

A localização de um som anormal pode ser deduzida pelo local de maior intensidade à ausculta (Jackson e Cockcroft, 2002). Alguns sons podem não ser audíveis se o animal estiver respirando normalmente, assim deve ser provocada uma hiperventilação temporária, obstruindo as narinas do animal com as mãos ou com auxílio de um saco plástico e liberando após 30 a 60 segundos (Dirksen *et al.*, 1993; Jackson e Cockcroft, 2002; Radostits *et al.*, 2007).

O ruído respiratório normal é produzido pelo turbilhamento do ar em ramificações respiratórias com mais de dois milímetros, devido a resposta vibratória das suas paredes, sustentadas por cartilagem, à passagem do ar. Na região pulmonar, distingue-se o ruído respiratório traqueobrônquico, mais baixo e grave que o ruído laringotraqueal, percebido na inspiração e expiração. E o ruído respiratório broncobronquiolar, mais baixo, e audível apenas na inspiração durante a intensidade respiratória baixa (Dirksen *et al.*, 1993). Assim, os ruídos respiratórios são audíveis à auscultação, com maior sonoridade durante a inspiração (processo ativo) e na base da traqueia. À medida que passam aos lobos pulmonares mais dorsais tornam-se mais silenciosos (Jackson e Cockcroft, 2002).

Os ruídos respiratórios anormais, classificados em conjunto como estertores, são resultantes de processos que alteram a passagem normal do ar nas vias aéreas pela presença de secreção, redução do lúmen ou obstrução, por redução, aumento na frequência ou intensidade dos movimentos respiratórios e na maior ou menor transmissão sonora do ruído pulmonar (Dirksen *et al.*, 1993; Gonçalves, 2001; Jackson e Cockcroft, 2002; Gonçalves, 2004; Radostits *et al.*, 2007).

A intensificação patológica do ruído respiratório pode estar presente no início do processo de pneumonia e no edema intersticial. Nos casos em que há aumento da intensidade de produção do ruído, associado à taquipneia, nos casos de febre, anemia, acidose respiratória ou na melhor condução sonora do ruído através do parênquima pulmonar mais denso, nos casos de atelectasia, consolidação ou edema pulmonar sem a obstrução de brônquios (Gonçalves, 2001; Gonçalves, Jackson e Cockcroft, 2002; 2004; Radostits *et al.*, 2007).

Já a redução patológica do ruído respiratório, ocorre em decorrência da perda da aeração de grandes áreas pulmonares nos casos de consolidação gerando o “silêncio pulmonar”, nas efusões pleurais, na obstrução total do lúmen dos brônquios e em casos de pneumotórax envolvendo completamente um lado do tórax (Dirksen *et al.*, 2003; Radotists *et al.*, 2007). Nas

broncopneumonias graves são observadas áreas de silêncio pulmonar, principalmente na região crânio ventral da área pulmonar (Flock, 2004; Scott, 2013).

Nas doenças pulmonares podem ocorrer a formação de ruídos respiratórios adventícios, como as crepitações, sibilos, roçar respiratório e o ruído cardiopneumônico. As crepitações são sons não musicais, semelhante a uma explosão curta e descontinuada, produzida nos casos em que ocorre um desvio intenso da passagem do ar nas vias respiratórias, obstruídas por secreção e exsudato (Dirksen *et al.*, 1993), geralmente presente nos casos agudos de broncopneumonia e edema pulmonar (Gonçalves *et al.*, 2001).

O sibilo é um som musical, de altura e tom constante, formados pela aceleração repentina da passagem de ar, nos casos de aumento da densidade restritiva do tecido pulmonar ou estreitamento das vias aéreas intratorácicas nos casos de bronquite e bronquiolite (Dirksen *et al.*, 1993).

O roce pleural, é um ruído de atrito entre o folheto parietal e visceral da pleura, produzido nos processos que levam inflamação e deposição de fibrina sobre elas. O som se transmite ao ouvido do examinador como se fosse o esfregar de duas folhas de papel, ou é áspero como o esfregar de duas lixas (Gonçalves, 2004).

Em bezerros com broncopneumonia, Gonçalves *et al.* (2000) observaram em 133 casos atendidos no Hospital de Veterinário de Botucatu, São Paulo, que os principais estertores auscultados foram o aumento patológico dos ruídos respiratórios, crepitação e sibilo. Dentre os parâmetros clínicos utilizados por Gonçalves *et al.* (2001) para determinar a gravidade da broncopneumonia em bezerros, a auscultação torácica teve elevado valor diagnóstico e a variação dos sons auscultados entre os animais foi relacionada a gravidade e a extensão do comprometimento do parênquima pulmonar nos casos agudos ou crônicos da doença.

No estudo de Coutinho (2004), ocorreu variação nos sons auscultados no tempo de evolução da doença pulmonar após indução de Mannheimiose pneumônica bovina. Os ruídos laringotraqueal, traqueobrônquico, ruídos adventícios traqueais, crepitação e o sibilo ficaram mais intensos com o passar do tempo pós-inoculação, já os ruídos bronquiolares foram mais audíveis logo após a inoculação, e os traqueobrônquicos foram relativamente menos intensos nas extremidades dos campos cranioventrais dos pulmões e mais, frequentemente, alterados com o tempo pós-inoculação.

Flöck, (2004) avaliando vacas com pneumonia à auscultação verificou que os sons patológicos foram o aumento patológico da respiração, sons de respiração áspera, sons respiratórios bronquiais aumentados, sibilos, redução dos ruídos e o mais presente foram as crepitações. Além disso, em alguns animais a combinação de ruídos foram observadas.

Scott, (2013) ao avaliar a Auscultação Pulmonar de 12 animais adultos com pneumonia supurativa crônica, teve dificuldade em diferenciar a maior audibilidade do ruído respiratório com o ruído respiratório normal. Os sons de sibilos, quando ouvidos, foram percebidos em todo o campo pulmonar e em áreas não restritas às áreas de patologia pulmonar identificadas na Ultrassonografia Pulmonar. Em poucos animais foram identificadas crepitações devido ao processo crônico, mesmo com presença de secreção purulenta observada durante a necropsia desses animais, pois não havia aeração suficiente dessa região pulmonar. Dessa forma um baixo ruído foi frequentemente auscultado, principalmente na região crânio-ventral do pulmão. Neste estudo a Auscultação Pulmonar falhou em identificar a natureza e a extensão da lesão pulmonar em vacas com pneumonia supurativa crônica.

Geralmente, os sinais associados à doença pulmonar em bovinos por meio da Auscultação Pulmonar, podem variar dependendo do estágio, agudo ou crônico, e da severidade da doença.

Comumente, em casos crônicos os sinais podem ser mínimos ou ausentes, tanto em animais com pequenas lesões pulmonares quanto em animais com lesões maiores (Gonçalves *et al.*, 2000; Gonçalves *et al.*, 2001; Flock, 2004; Scott, 2013).

3.2.2 Métodos de Escore Respiratório

Os métodos que utilizam pontuações e escores, para estabelecer diagnóstico de doenças são utilizados em diferentes áreas da medicina humana e veterinária. O desenvolvimento desses métodos tem como objetivo o diagnóstico da doença de forma eficiente, simples, precoce e sem a necessidade de equipamentos caros, e, além disso, serem utilizados por diferentes profissionais, tais como: produtores, clínicos e pesquisadores (McGuirk, 2008; Love *et al.*, 2014 *et al.*, 2014; Ollivett, 2014). Esses sistemas são baseados na atribuição de pontuações para os sinais observados em um paciente e a pontuação total indicar a probabilidade de doença e seu prognóstico (McGuirk e Peek, 2014).

O modelo de pontuação mais utilizado para detecção de doença respiratória em bezerros leiteiros é o sistema de Escore Respiratório de Wisconsin (Escore de WI), desenvolvido por pesquisadores da Universidade do Wisconsin, em Madison, Estados Unidos (McGuirk, 2008; Ollivett, 2014). Esse sistema atribui escores baseado na interpretação da gravidade dos sinais clínicos de temperatura, secreção nasal, tosse, secreção ocular e posicionamento das orelhas, quando os dois últimos estão alterados prevalece a maior pontuação. A graduação varia de 0 (zero) a 3 (três), no qual 0 é normal, 1 é leve, 2 é moderada e 3 é grave. Os bezerros com uma pontuação total igual ou superior a 5 são considerados doentes. A validação desse sistema foi feita através da correlação dos escores avaliados em cada parâmetro com o resultado da citologia e cultura do líquido broncoalveolar (McGuirk, 2008).

Poucas publicações científicas mostram a sensibilidade e a especificidade do Escore de WI. Buczinski *et al.* (2014) avaliaram 106 bezerros antes da desmama, de 13 fazendas no Canadá, 10 com história de doença respiratória e três sem suspeita de problemas. A sensibilidade observada foi de 55% e a especificidade de 58% do Escore de WI em detectar animais com doença respiratória, utilizando o ponto de corte para a doença uma consolidação pulmonar maior que 1cm ao exame de Ultrassonografia Torácica.

Em outro estudo, Buczinski *et al.* (2015) utilizaram uma análise bayesiana para estimar a sensibilidade e especificidade do Escore de WI em detectar doença respiratória em duas populações de bezerros da raça holandesa em aleitamento em fazendas comerciais diferentes. Uma população com alta prevalência de doença respiratória (n=106) e outra com prevalência média (n=85). Considerando os animais com escores ≥ 5 positivos para doença pulmonar, a sensibilidade foi de 62,4% e a especificidade foi de 74,1%.

Love *et al.* (2014) propuseram a criação de três novos sistemas de escore, com o intuito de melhorar a eficiência do diagnóstico, minimizando os erros de interpretação. No lugar de gravidade, atribuíram pesos para os sintomas observados. As definições de caso positivo para doença respiratória foram baseadas em técnicas de PCR, cultura microbiana e no Escore de WI, já descrito anteriormente. Assim, na validação dos três sistemas os casos positivos tiveram PCR positivo para vírus respiratório ou cultura positiva para bactérias respiratórias aeróbias e Escore de WI > 4 , ou cultura positiva para *Mycoplasma bovis* e Escore de WI > 4 .

O primeiro sistema descrito por Love *et al.* (2014) ou os parâmetros de tosse (tosse induzida ou espontânea, 2 pontos), secreção nasal (qualquer descarga, 3 pontos), descarga ocular (qualquer descarga, 2 pontos), orelha e cabeça (inclinação da orelha ou inclinação da cabeça, 5 pontos), febre ($>39,2^{\circ}\text{C}$, 2 pontos), padrão respiratória (padrão anormal, 2 pontos). Os bezerros foram

considerados positivos com pontuação total >4. Este sistema classificou corretamente 95,4% casos e 88,6% do controle. O segundo sistema atribuiu pontos da seguinte forma, tosse (espontânea apenas, 2 pontos), secreção nasal suave (descarga unilateral, serosa ou aquosa, 3 pontos), secreção nasal moderada a grave (descargas bilaterais, turvas, mucopurulenta ou abundantes, 5 Pontos), descarga ocular (qualquer descarga, 1 ponto), posicionamento de orelha e cabeça (inclinação da cabeça e da orelha, 5 pontos), temperatura retal (>39,2°C, 2 pontos) e padrão respiratória (padrão anormal, 2 pontos). Os bezerros foram positivos na pontuação >4. Este sistema classificou corretamente 89,3% de casos e 92,8% dos controles. No terceiro sistema foram pontuados a 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). Os bezerros eram positivos na pontuação >5. Este último sistema foi intitulado sistema de Escore Respiratório da Califórnia (Escore da CA) e classificou corretamente 89,4% de casos positivos e 90,8% dos casos controle.

Aly *et al.* (2014) estimaram a concordância entre Escores de WI e o da CA para um total de 100 bezerros de fazendas leiteiras da Califórnia, Estados Unidos, que foram avaliados simultaneamente nos dois métodos. O coeficiente de concordância *Kappa* entre estes dois escores foi de 0,85, indicando excelente concordância. Em outro estudo Love *et al.* (2015) avaliaram um grupo de 221 bezerros pré-desmamados com doença respiratória e 315 saudáveis, a sensibilidade e a especificidade do Escore da CA foi de 46,8% e 91,2% e do Escore de WI foi de 46,0% e 91,2%, respectivamente. O padrão para determinar os casos positivos para doença respiratória nesse estudo foram os animais positivos a Ultrassonografia e/ou a Auscultação pulmonar.

Os modelos de estudo por Escore Respiratório foram transversais e podem não ser representativos da população em geral, além disso os resultados podem ser diferentes entre sistemas de produção. Pesquisas futuras ainda devem descrever a precisão diagnóstica desses métodos (Aly *et al.*, 2014). Esses métodos não são padrões ouro para diagnóstico da doença respiratória, mas auxiliam como um indicador de proporção de animais clinicamente afetados em algumas condições (McGuirk, 2008; Love *et al.*, 20014; Ollivett, 2014).

3.2.3 Ultrassonografia Pulmonar

A utilização do equipamento de ultrassom está se tornando mais comum na prática veterinária de grandes animais. Sua maior aplicabilidade ainda se dá ao diagnóstico e manejo reprodutivo, contudo, a sua utilização além do sistema reprodutivo tem aumentado nos últimos 15 anos (Streeter e Step, 2007; Ollivett, 2014, Adams e Buczinski, 2016).

Aparelhos de ultrassom são capazes de converter o sinal recebido por transdutores em imagem. Para gerar a imagem, primariamente, os transdutores recebem energia elétrica e a transforma em ondas sonoras. Esta conversão é realizada em cristais piezoelétricos que ao receberem uma corrente se deformam e criam ondas sonoras, os ultrassons. Ao passarem por diferentes estruturas, algumas ondas sofrem reflexão e voltam ao transdutor que produz um sinal elétrico direcionado ao aparelho de ultrassom que o converte em imagem, assim o mesmo cristal é usado para enviar e receber ondas sonoras. Estes dois processos não ocorrerem ao mesmo tempo, o ultrassom é emitido de forma intermitente com a duração de um microssegundo e a cada milissegundo ocorre a captação das ondas refletidas no período de repouso. Portanto, um transdutor emite ondas sonoras em menos de 1% do tempo e recebe ondas refletidas pelo tecido em 99% do tempo (Drost, 2013; Masselli *et al.*, 2013).

As imagens são criadas de acordo com a propagação da onda dentro dos tecidos, de como são atenuadas e refletidas (Streeter e Step, 2007; Masseli *et al.*, 2013). A frequência de uma onda de ultrassom é definida como o número de repetições desta onda (ciclo) por segundo, um hertz (Hz), relacionado ao comprimento dessa onda. Geralmente, os aparelhos utilizam frequências de 2 a 11 MHz (mega-hertz) (Drost, 2013).

A frequência está ligada a qualidade da imagem e a profundidade da varredura. Um ultrassom com baixa frequência tem um grande comprimento de onda e permite imagens de estruturas mais profundas. Por outro lado, uma frequência mais alta melhora a resolução da imagem obtida, mas as ondas sonoras geradas são rapidamente atenuadas e a profundidade de exame fica limitada. É importante selecionar a frequência mais alta possível para a profundidade desejada ao exame, e assim garantir uma melhor qualidade da imagem. Geralmente, a profundidade (*deph*) de varredura máxima dos aparelhos de ultrassom varia entre 20 a 25cm. O feixe sonoro é atenuado por suas interações de reflexão, refração, dispersão e absorção com os tecidos, o que determina a formação da imagem (Blond e Buczinski, 2009; Lisciandro, 2014)

Quanto maior a impedância entre dois tecidos, maior a reflexão do som e mais brilhante é a imagem resultante. Os ossos e o ar estão em extremidades opostas do espectro de impedância acústica, enquanto a maioria dos tecidos e fluidos corporais, como músculo, fígado, rim, e sangue, são muito semelhantes. Portanto, ao passar do tecido mole para o osso ou para uma área cheia de ar a maioria das ondas é refletida de volta para o transdutor e poucas são deixadas para penetrar o tecido e formar imagem subsequente. O brilho do tecido na imagem do ultrassom é referido como ecogenicidade. As regiões com menor ecogenicidade são negras, ou seja, anecoicas (água, urina, sangue e leite); aqueles com ecogenicidade média aparentam tons de cinza, hipoeicoico (rim, fígado e baço); e aqueles com maior ecogenicidade são brancas, hiperecogênicas (gorduras e fibras do tecido). Entretanto, alguns tecidos, tais como tecido de granulação precoce ou tumores com muito pouco estroma de tecido conjuntivo, podem ser hipoeicoicos (cinza escuro) e até mesmo ter uma aparência anecoica (preto) semelhante a fluido (Streeter e Step, 2007; Drost, 2013; Lisciandro, 2014).

Na avaliação da ultrassonografia torácica o processamento da imagem mais utilizado é o Modo Brilho (Modo -B). A imagem formada é bidimensional, compostos pela soma de pontos brancos e cinzas em um plano escuro, gerados em função da amplitude de força da reflexão, exibidos de acordo com a profundidade referente ao tempo para retorno, ou seja, quanto maior o tempo mais baixo na tela o ponto é exibido. Assim, através da soma de todos os pontos gerados, sua intensidade de reflexão e a respectiva profundidade de retorno é formada a imagem bidimensional do tecido (Blond e Buczinski, 2009; Drost, 2013).

A avaliação de um pulmão à ultrassonografia é feita nos espaços intercostais. A imagem formada é composta da parte mais superficial até a mais interna, seguindo a pele, a gordura subcutânea, músculo torácico e a porção parietal e visceral da pleura costal. As pleuras possuem interface com o pulmão aerado e aparecem como uma faixa continua brilhante e suas porções podem ser discriminadas durante o movimento respiratório pelo “sinal de deslizamento”, contudo, nem sempre é possível distingui-las (Flock, 2004; Jung e Bostedt, 2004). Devido a interface das pleuras com o pulmão aerado ocorre uma alta reflexão do som pelo ar dando característica hiperecoica as pleuras e logo abaixo forma-se o artefato de reverberação, uma série de linhas horizontais, chamadas de “Linhas A”, paralelas, curvilíneas dispostas em intervalos regulares que se atenuam gradualmente (Tidwell, 1998; Flock, 2004; Larson, 2009; Dexheimer Neto *et al.*, 2012; Masseli, *et al.* 2013; Scott, 2013; Drost, 2013).

Outro artefato presente no pulmão são as “caudas de cometa” ou linhas B, um artefato de reverberação, que geralmente começa da pleura em forma de um feixe estreito de linhas hiperecogênicas muito próximas, que se movimentam em sincronia com o movimento respiratório (Tidwell, 1998; Blond e Buckzinsk, 2009; Dexheimer Neto *et al.*, 2012) e podem ser formados devido a presença de bolhas de gás e líquido dentro do alvéolo próximo a pleura (Tidwell, 1998). As caudas de cometa, comumente, estão presentes em animais saudáveis, principalmente na porção crânio ventral da porção pulmonar. Porém é relatada que a presença de múltiplas caudas de cometa indica doença. No entanto, não são específicas e estão presentes em um grupo diverso de desordens, como edema pulmonar, pneumonia intersticial, enfisema pulmonar e áreas com pouca aeração pulmonar (Jung e Bostedt, 2004; Streeter e Step 2007). Em humanos é muito presente no edema pulmonar ou infiltrado intersticial no qual há espessamento dos septos interlobulares e redução da aeração periférica (Dexheimer Neto *et al.*, 2012). Em bovinos adultos avaliados por Flock (2004) foi observado elevado número de caudas de cometa em uma região de enfisema pulmonar.

O pulmão sem alterações à ultrassonografia deve apresentar pleuras hiperecoicas, contínuas, sem irregularidades, com movimento em conjunto com a respiração e, em seguida, a reverberação, com presença de Linhas A distribuídas uniformemente (Flock, 2004; Masseli *et al.*, 2013). Alterações patológicas no pulmão podem mudar esse aspecto, contudo, para serem visualizadas, é determinante que haja o íntimo contato com a pleura. As principais alterações identificadas à ultrassonografia que sugerem a presença de doença são as efusões pleurais, irregularidade pleural, consolidação pulmonar e o pneumotórax (Rabeling *et al.*, 1998; Tidwell, 1998; Jung e Bostedt, 2004; Flock, 2004; Blond e Buckzinsk, 2009).

A efusão pleural pode ser visualizada pelo afastamento das duas pleuras causado pela presença de líquido. A característica anecoica na imagem a ultrassonografia pode indicar um transudato, baixa celularidade, pouca proteína e fibrina, como ocorre na congestão passiva. Ou característica mais densa e ecoica, no caso de exsudatos, devido a presença de células, podendo apresentar filamentos de fibrina em casos de pleurites. A Ultrassonografia Pulmonar ainda pode auxiliar na identificação do local para drenagem, nos processos de toracocentese, e são mais sensíveis para detectar pequenos volumes de líquido comparados à radiografia torácica (Braun *et al.* 1997; Tidew, 1998; Flock, 2004).

As pleuras são linhas ecogênicas contínuas, contudo, em lesões envolvendo-as podem apresentar-se irregulares, espessadas e/ou fragmentadas. A observação do deslizamento das pleuras pode auxiliar em qual porção o processo patológico está presente. Se esse movimenta junto com o movimento respiratório, está na pleura visceral e se permanecer estático, na pleura costal. Contudo, se as duas pleuras não movimentam é indicativo de aderências pleurais que podem ser localizadas ou difusas (Streeter e Step 2007; Babkine e Blond, 2009).

O pneumotórax é o resultado de um acúmulo de ar livre entre a porção visceral e parietal da pleura. O ar infiltra-se entre as duas porções e assim o movimento de deslizamento não é mais visível e a imagem obtida apresenta apenas artefatos imóveis de reverberação (Tidew, 1998; Drost, 2013). Em um estudo foi observada a presença de múltiplas caudas de cometas em um caso de pneumotorax em um bezerro (Jung e Bostedt, 2004).

O parênquima pulmonar só pode ser visualizado se os alvéolos estiverem sem ar, atelectásico, ou preenchidos com exsudato, transudado e células inflamatórias. A atelectasia de um lobo ou de parte do tecido pulmonar pode ocorrer após aumento da pressão na cavidade pleural causada por derrame pulmonar, pneumotórax, obstrução brônquica ou aspiração grave de líquido amniótico em recém-nascidos. Na presença de pneumotórax, a atelectasia pulmonar não pode ser

diagnosticada devido a presença de ar entre as duas pleuras. Na presença de derrame pleural, no entanto, o lobo pulmonar afetado é visualizado de forma triangular, bem definido e suavemente hiperecótico. Geralmente, atelectasias apresentam característica anecoica, homogênea, sem a presença de broncogramas aéreos, e a pleura visceral é lisa (Braun, *et al.* 1997; Jung e Bostedt, 2004; Babkine e Blond, 2009).

A consolidação pulmonar é o principal achado de lesão pulmonar decorrente de um processo de pneumonia. Os alvéolos e os brônquios, nos processos graves, são preenchidos por conteúdo inflamatório, e apresentam característica anecoica à ultrassonografia. No início do processo, as áreas afetadas podem apresentar ventilação e são vistas à ultrassonografia com ecogenicidade mista, anecoicas e hiperecóticas, devido a áreas de parênquima pulmonares aeradas e não aeradas. Assim sombras acústicas ondulantes são formadas devido à reflexão das porções aeradas de pulmão ainda presentes. Posteriormente, com o agravamento da consolidação, o ar que fica presente apenas dentro dos brônquios formam os broncogramas aéreos, sombras acústicas organizadas e lineares, encontradas no parênquima hipoecoico. Estes broncogramas aéreos podem ser substituídos por broncogramas fluidos, quando o pulmão está totalmente consolidado, e o parênquima passa a ter uma aparência na imagem semelhante ao tecido hepático e coincidem com a descrição patológica de "hepatização" (Rabeling *et al.*, 1998; Braun *et al.*, 1997; Flock, 2004; Jung e Bostedt, 2004; Streeter e Step, 2009)

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

Desde o início da década de 1990, mais estudos se concentraram na avaliação da precisão da Ultrassonografia Pulmonar para identificar as lesões pulmonares associadas à pneumonia em bovinos. Rabelling *et al.* (1998) avaliaram a precisão da ultrassonografia em detectar lesões pulmonares em bezerros da raça holandês, com idade de 5 a 10 meses, em diferentes estágios de broncopneumonia clínica, com um transdutor setorial 7,5MHz, avaliando do terceiro ao 11º espaço intercostal. Foram observados 85% de sensibilidade e 98% de especificidade após a comparação dos resultados da ultrassonografia com o exame *post mortem*. Apenas um abscesso no interior no pulmão, um pneumotórax e um caso de pneumonia intersticial não foram diagnosticados. As limitações da ultrassonografia foram a presença de tecido pulmonar aerado e da costela sobre as lesões, contudo não afetaram significativamente a sua eficácia.

Em outro estudo, Reinhold *et al.* (2002) utilizaram a mesma técnica ultrassonográfica descrita por Rabelling *et al.* (1998), para avaliar bezerros com pneumonia induzida por *Pasteurella Multocida*. Estes pesquisadores observaram que a sensibilidade da ultrassonografia para a detecção de lesões pulmonares foi maior que 80% quando relacionados aos achados *post mortem*. Os resultados

falso-negativos foram atribuídos à falta do exame da região cranial do tórax e a sobreposição do tecido aerado em casos de broncopneumonia inicial e pneumonia intersticial. Em estudo de Jung e Bostedt (2004) os casos de broncopneumonia só foram visualizados nos quadros moderados e graves da doença. A extensão da profundidade dos artefatos de reverberação foi diminuída nos casos moderados e nos graves o parênquima pulmonar estava sem ar e com aspecto de órgão parenquimatoso com estrutura semelhante a fígado.

Ollivett *et al.* (2015) observaram a capacidade da ultrassonografia, utilizado um transdutor linear com avaliação de todos os espaços intercostais, em detectar lesões pulmonares em 24 bezerros com doença pulmonar subclínica (negativos no Escore de WI). Observaram sensibilidade de 94% e especificidade de 100% comparado ao exame *post mortem*. Apenas uma lesão na face dorso-medial do pulmão direito em um bezerro vista à necropsia não foi detectada a ultrassonografia.

Buczinski *et al.* (2015) utilizaram uma análise bayesiana para estimar a sensibilidade e especificidade da Ultrassonografia Pulmonar, em bezerros da raça Holandês oriundos de duas fazendas comerciais diferentes, nas quais uma apresentava alta prevalência de doença respiratória e a outra fazenda apresentava baixa prevalência. Considerando os animais positivos para doença pulmonar com consolidação >1cm na avaliação do terceiro ao 11º/12º espaço intercostal e utilizando o transdutor linear portátil de 6,2 MHz, a sensibilidade foi 79,4% e a especificidade 93,9%.

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

3.2.4 Radiografia Torácica

Os raios-X foram descobertos em oito de novembro de 1895, por Wilhelm Conrad Roentgen, um físico alemão. E rapidamente começaram a ser utilizados para aplicações médicas sofisticadas, como exemplo a angiografia descrita em 1896. A descoberta revolucionou o diagnóstico e o tratamento de doenças e, em reconhecimento, Wilhelm Roentgen foi premiado com o primeiro Prêmio Nobel de Física em 1901. Mais de 110 anos após sua apresentação para o mundo, os raios-X permanecem em uso generalizado para radiografia e tomografia computadorizada em pessoas e animais (Thrall e Widmer, 2013).

Nos aparelhos de radiografia, a produção dos raios-X ocorre em um tubo de raios-X chamada de ampola Coolidge. A ampola, cujo interior possui um vácuo, é um vidro com invólucro de metal, o qual apresenta uma janela por onde passa um feixe útil da radiação. Para produzir os raios-X existe uma fonte de elétrons e um alvo com o qual os elétrons podem interagir, depois de serem acelerados através do vácuo. Essa interação de aceleração e desaceleração de elétron-alvo gera os raios-X e calor (Ticer, 1987; Godoy *et al.*, 2007; Thrall e Widmer, 2013).

A fonte de elétrons, o cátodo (potencial negativo) fica em uma das extremidades, esse é um filamento de tungstênio em espiral, que alimentado por corrente elétrica de baixa voltagem,

medida em miliamperes (mA), é aquecido, fornecendo determinado número de elétrons que darão origem a proporcional quantidade de raios-X. A quantidade de raios-X é diretamente proporcional ao tempo, sendo esta relação denominada miliamperes/segundo (mAs). Na outra extremidade da ampola encontra-se como alvo o ânodo (potencial positivo), representado por uma pequena placa de tungstênio. Então, por diferença de potencial, polos positivo e negativos, os elétrons carregados negativamente no cátodo são atraídos pelo ânodo carregado positivamente, colidindo contra o mesmo, produzindo raios-X e calor. O potencial de diferença de tensão entre o filamento e o alvo é ajustado com o pico de quilovoltagem (kVp) (Ticer, 1987; Godoy *et al.*, 2007; Thrall e Widmer, 2013).

Os raios-X produzidos apresentam um amplo espectro de energia. Os de baixa energia são filtrados, pois todos serão absorvidos pelo paciente e não contribuem para a formação da imagem. A saída dos raios-X, a forma geométrica, é controlada pelo Colimador, que pode ser regulado de acordo com o tamanho da imagem e da área a ser radiografada (Thrall e Widmer, 2013).

Assim, para fazer uma radiografia, o paciente é colocado entre o aparelho de raios-X e um mecanismo gravador de imagem, que pode ser um filme fotográfico, um chassi ou um gravador digital. Ao passar pelo paciente, parte dos raios penetram e atingem o gravador, formando áreas enegrecidas, (radiolucência), e outros são absorvidos, formando áreas claras (radiopacidade), na imagem (Thrall, 2013). O grau de escurecimento é afetado pelo número de raios-X que atingem o filme, relacionado diretamente com a saída de raios controlada pelo, mAs e pela energia dos mesmos controlada pela configuração kVp (Thrall e Widmer, 2013).

O kVp determina a magnitude da diferença de tensão entre o filamento e o alvo. Um maior kVp representa uma maior diferença de tensão potencial entre o filamento e o alvo, com isso, mais rapidamente os elétrons viajam, adquirem mais energia e assim aumentam a capacidade de penetrar no paciente, aumentando o escurecimento do filme. O mAs é a combinação da miliamperagem (mA) e o tempo (segundos ou milissegundos) de exposição do alvo aos raios-X, por isso, controlam a produção e o tempo de exposição, fator primário da densidade de uma radiografia. Em casos em que o movimento pode alterar a definição da imagem como na Radiografia Torácica, o mAs pode ser reduzido para diminuir o efeito do movimento do tórax durante a exposição aos raios-X (Thrall e Widmer, 2013).

Assim, mantendo um kVp fixo e aumentando o mAs mais raios-X são produzidos e maior é o tempo de exposição. Dessa forma, proporcionalmente, um maior número de raios-X pode penetrar no paciente e chegar ao filme, formando uma imagem enegrecida. Ao contrário, aumentando o kVp e fixando o mAs, a mesma quantidade raios será produzida, mas resultará na produção de raios com maior energia e poder de passagem para atingir o filme e formar imagens enegrecidas. Dessa distribuição não homogênea de penetração e absorção dos raios-X pelo organismo do paciente forma-se a imagem com efeito de cores escuras, cinzas e claras. A capacidade de absorção depende da composição do tecido, o número atômico efetivo e a sua densidade (Thrall e Widmer, 2013).

Portanto, a interpretação da imagem à radiografia só é possível devido a esse efeito denominado resolução de contraste, escala de cores mais claras e mais escuras, gerado pela diferença de passagem dos raios-X em cada estrutura permitindo diferenciá-las. Em termos gerais, o contraste radiográfico possui cinco categorias: 1) opacidade de ar (ou gás), 2) opacidade de gordura, 3) opacidade de água (ou tecidos moles), 4) opacidade de osso (ou mineral) e 5) opacidade de metal. Essas cinco divisões são convenientes porque são visualmente distintas e são criadas por tecidos encontrados comumente em pacientes (Thrall, 2013).

A Radiografia Torácica é uma prática comum na medicina humana e em pequenos animais, e menos aplicada a bovinos e equinos para o diagnóstico das alterações pulmonares. As estruturas torácicas são complexas e muito heterogêneas, fornecendo um plano complexo sobre o qual as alterações são criadas, por isso, a necessidade de atenção cuidadosa aos detalhes radiográficos e à técnica utilizada (Vervloet *et al.*, 2010; Thrall, 2013)

As Radiografias Torácicas em bovinos podem ser obtidas em aparelhos fixos com 350 a 750 mAs, 78 a 118 kVp a 0,06 segundos (Verschooten, *et al.* 1974) e em aparelhos portáteis com 100 kVp e 15-20 mAs (Radostits, *et al.*, 2007), sendo o momento ideal para obtenção da imagem o final da inspiração (Verschooten, *et al.* 1974; Radostits *et al.*, 2007; Masseur *et al.*, 2008; Thrall, 2013). Contudo, bovinos com padrão respiratório normal apresentam respiração superficial, assim a diferença entre a inspiração e a expiração é pequena (Verschooten *et al.*, 1974).

O tórax é uma região de alto contraste devido o preenchimento por ar. Assim, para visualizar pequenas estruturas como brônquios, vasos e interstício é preciso utilizar uma técnica de baixo contraste, ou seja, utilizar alto kVp (maior que 80) e reduzir o mAs, o que reduz o tempo de exposição aos raios-X e diminui as alterações provocadas pela movimentação (Thrall, 2013)

O posicionamento radiográfico em bovinos com peso superior a 100 kg (Verschooten *et al.*, 1974) é restrito às radiografias laterais, porque a grande quantidade de tecido impede a exposição adequada no posicionamento ventro-dorsal ou dorsoventral. Além disso, são necessários vários filmes para o exame completo do tórax, principalmente para identificar lesões focais, pois as lesões são mais visíveis próximos ao centro de formação da imagem radiográfica (Radostits *et al.*, 2006; Masseur *et al.*, 2008).

Em bezerras as radiografias podem ser realizadas em estação ou em decúbito lateral, nos posicionamentos latero-lateral esquerdo e direito, ventro-dorsal e dorsoventral. No posicionamento latero-lateral em decúbito lateral os membros torácicos são tracionados cranialmente para permitir uma maior exposição do tórax e menor sobreposição dos membros anteriores sobre a porção cranial do pulmão, e o centro da imagem é fixado no centro do tórax entre o terceiro e quarto espaço intercostal (Ticer, 1987; Slocombe *et al.*, 1988).

Na avaliação radiográfica pulmonar o contraste promovido pelas estruturas torácicas, brônquio, alvéolos, vasos sanguíneos e coração, frequentemente, revelam pequenas alterações na imagem tornando um método sensível para revelar doença pulmonar através da mudança na condução, contorno e distribuição das estruturas torácicas na imagem. Contudo, diferentes doenças produzem padrões de mudanças similares, e uma mesma doença pode apresentar padrões diferentes. Assim, a interpretação da enfermidade apenas baseada em achados radiográficos pode levar a erros (Lord, 1976).

A Radiografia Torácica pode auxiliar no reconhecimento de atelectasias, consolidação, infiltrado intersticial, pneumonia exsudativa, neoplasias, efusões pleurais, pneumotórax, hidropericárdio e tumores (Radostits *et al.*, 2007). Pode fornecer dados da localização e extensão da pneumonia, permitir a avaliação da evolução e do curso da pneumonia (Franquet, 2001).

Os achados radiográficos pulmonares podem ser classificados em padrões. Os mais comuns são o intersticial, o alveolar, o bronquial e os padrões mistos que envolvem mais de um desses padrões (Franquet, 2001). Além disso, indicam a característica de distribuição destes padrões como discreto ou disseminado (Lord, 1976).

O padrão alveolar é caracterizado por uma imagem pulmonar com manchas radiopacas localizadas ou homogeneamente distribuídas, formadas devido à exclusão do ar (atelectasia) ou preenchimento do alvéolo ou de pequenas vias aéreas periféricas por fluido, exsudato, edema,

hemorragia e células inflamatórias, formando uma consolidação (Lord, 1976; Godoy *et al.*, 2007). A consolidação pulmonar é o principal indicador radiográfico de pneumonia e pode envolver todo ou parte de um lobo, e em bovinos, comumente, a metade ventral do pulmão é a mais afetada. Quando grandes porções de um ou ambos os lobos pulmonares estão consolidados a imagem é totalmente opaca, muitas vezes parece que existem duas fronteiras do coração, uma ilusão chamada de sinal duplo do coração, um forte indicador de pneumonia. Outra característica radiográfica da consolidação severa é o broncograma aéreo, formado no contraste, preto sobre branco, entre os brônquios menores e os alvéolos consolidados (Farrow, 1999).

O padrão intersticial é caracterizado por um espessamento dos septos interalveolares. O parênquima pulmonar saudável é muito fino, assim à radiografia predomina a imagem radiolucida do ar contido nos espaços aéreos, contudo quando alguma afecção faz com que o parênquima se torne espesso, por edema e/ou infiltrado celular, este passa a ser evidente, com característica linear ou reticular (Farrow, 1999; Godoy *et al.*, 2007). Nas infecções pulmonares experimentais virais em bovinos ocorrem lesões pulmonares intersticiais marcantes e muitas vezes bastantes características e facilmente identificáveis. Contudo, em infecções naturais, o padrão radiográfico é pouco específico, provavelmente devido à pneumonia bacteriana concomitante (Farrow, 1999).

Estudos em humanos relatam o predomínio do padrão intersticial na congestão pulmonar por insuficiência cardíaca e nas infecções virais, e raramente concomitantes com derrame pleural. O padrão alveolar e a presença de broncogramas aéreos são característicos de pneumonia bacteriana, contudo pode haver infiltrado intersticial nos casos iniciais. As infecções virais também podem evoluir ou apresentar-se como padrão alveolar dependendo da gravidade do caso. As pneumonias por *Mycoplasma* sp. apresentam um padrão intermediário, entre vírus e bactérias, com padrão lobar e lobular pouco definidos (Luand *et al.*, 2008; Vervloet *et al.*, 2010).

Na interpretação da radiografia os padrões intersticiais e alveolares podem aparecer, sem que haja uma pneumonia, por exemplo, nos casos de derrame pleural, edema pulmonar, infarto pulmonar, hemorragia alveolar, atelectasias e tumores (Vervloet *et al.*, 2010).

Os animais recém-nascidos podem apresentar um padrão intersticial ou alveolar, sem que haja um processo infeccioso, devido à presença de fluido pulmonar fetal. Na vida fetal, os pulmões são órgãos secretores e permanecem preenchidos por fluido alveolar até os últimos dias antes do parto, quando a secreção diminui. Isso ocorre porque os canais secretores de cloro (Cl⁻) são inativados e os canais de sódio (Na⁺), que induzem absorção são ativados. Durante o nascimento o restante do fluido pulmonar é retirado pelas vias aéreas superiores durante o parto por compressão do tórax no canal vaginal, drenado pelos vasos pulmonares (vasos linfáticos) para o mediastino e espaço pleural (Jain e Eaton, 2006). Em potros saudáveis esse padrão foi observado até 12 horas de vida após o nascimento e perdurou por mais tempo nos lobos craniais (Kutasi *et al.*, 2009).

Outra alteração não patológica da imagem radiográfica pode ocorrer no decúbito lateral prolongado, maior que 30 minutos, durante a realização do exame. Esse pode gerar atelectasia do pulmão referente ao decúbito devido à restrição da movimentação do tórax, compressão do pulmão pelo coração e da incursão cranial do diafragma. Como a radiografia pulmonar é a imagem sobreposta dos dois pulmões, ocorre aumento da radiopacidade pulmonar e gera uma imagem falsa de pneumonia, confundida com o padrão intersticial ou em casos intensos com o alveolar, ou pode ainda esconder pequenas lesões (Radostits *et al.* 2006; Thrall, 2007; kutasi *et al.*, 2009). Para diferenciar de um processo patológico pode ser realizado o posicionamento

ventro-dorsal ou dorsoventral, pois se os pulmões apresentaram esse padrão apenas na projeção lateral, suspeita-se de erro de técnica (Thrall, 2013).

A qualidade da imagem pode ser alterada pela distância do tubo de raios-X ao receptor da imagem. Esta distância é referida como o ponto da distância foco-filme (DFF). À medida que o DFF aumenta, a radiopacidade da imagem aumenta, porque o poder de penetração dos raios-X no feixe diminui com a distância. Isso significa, por exemplo, que em máquinas de raios-X portáteis em que a DFF é variável, poucos centímetros podem levar a sobre-exposição ou subexposição aos raios-X, alterando a formação da imagem (Thrall, 2013).

Estudos com avaliação da eficiência da radiografia torácica na avaliação pulmonar em grandes animais são pouco frequentes. Masseur *et al.* (1998) compararam as alterações radiográficas ao exame *post mortem* de bovinos com mais de 18 meses, atendidos no Centro Hospitalar Universitário Veterinário da Universidade de Montreal, Canadá, e verificaram uma frequência de 86% de doença pulmonar, e a radiografia apresentou sensibilidade de 94%, especificidade de 50% e valor preditivo positivo e negativo de 92% e 57%, respectivamente. A sensibilidade para detecção de infiltrado alveolar foi de 60% e a especificidade de 88%. Para o padrão intersticial foi descrito 64% de sensibilidade e 74% de especificidade.

Os exames radiográficos mostram que frequentemente bovinos se recuperam das lesões pulmonares e mostram um pulmão normal. Contudo, exames seriados revelam que a recuperação é gradual e podem perdurar por semanas. Assim durante o acompanhamento da recuperação dos animais os exames radiográficos não devem ser repetidos em um tempo muito próximo (Farrow, 1999). Além disso, os sinais radiográficos podem persistir mesmo após o desaparecimento dos sinais clínicos (Radostits *et al.*, 2007).

Algumas doenças respiratórias não apresentam lesões facilmente detectáveis ao exame radiográfico e pode haver falhas no diagnóstico (Radostits *et al.*, 2006). Doenças de difícil diagnóstico à Radiografia Torácica são as traqueites, bronquite, formas menos graves de alveolite, doença pulmonar obstrutiva crônica, pequenas hemorragias, aderências e pleurites. Detectar líquido pleural na radiografia torna-se difícil devido à grande quantidade de líquido necessária para promover alguma alteração na imagem (Farrow, 1999; Masseur *et al.*, 2008).

Na pneumonia assim como os sinais podem ser semelhantes, os achados radiográficos podem não fornecer um diagnóstico específico. Além disso, achados radiográficos de uma determinada infecção podem variar dependendo do estado imunológico do paciente, bem como a existência de doenças prévias ou concomitantes (Franquet, 2001). Geralmente, um aspecto intersticial sugere a etiologia viral, enquanto um aspecto alveolar indica uma infecção bacteriana, contudo em alguns casos o infiltrado intersticial pode estar presente na pneumonia bacteriana inicial e o alveolar na infecção viral grave. A radiografia torácica auxilia no diagnóstico diferencial, na avaliação da extensão e grau de complicação da pneumonia, porém a interpretação da radiografia do tórax é altamente dependente do examinador (Farrow, 1999; Godoy *et al.*, 2007; Vervloet *et al.*, 2010).

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Local do experimento

O estudo contou com a utilização de 39 bezerros machos, mestiços HolandêsxGir (1/2 a puro Holandês por cruzamento) criados em um sistema de *tie stall*, no galpão da Clínica de Ruminantes, da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), no período de setembro a dezembro de 2016. As atividades desenvolvidas neste trabalho pertencem

ao projeto submetido e aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) da UFMG sob protocolo nº 245/2016.

4.2 Utilização dos Animais

Os animais foram doados por uma fazenda de gado leiteiro, localizada no município de Inhaúma, Minas Gerais, distante 85 km de Belo Horizonte. Nesta propriedade, os partos eram supervisionados por um funcionário e ocorriam em galpão maternidade com boa higiene. Logo após o nascimento, nas primeiras 6 horas de vida, os bezerros foram transferidos e alojados em baias com cama de feno, onde receberam 3L de colostro oriundo de um banco de colostro de vacas não vacinadas para doença respiratória bovina, cura de umbigo com tintura de iodo 10% e identificação por brincos numerados. Os animais permaneceram, no máximo, dois dias na propriedade e foram transferidos para as instalações da Clínica de Ruminantes – Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinárias (DCCV) da Escola de Veterinária (EV) da UFMG. Somente foram incluídos no estudo bezerros com peso corporal acima de 32kg e com proteína sérica total $\geq 5,5$ mg/dl, avaliada 24 horas após o fornecimento do colostro.

As instalações da Clínica de Ruminantes contavam com um galpão de alvenaria, fechado com meia parede nas laterais e aberto nas duas extremidades e em todas as aberturas havia uma tela fina para evitar a entrada de moscas. Dos três aos 10 dias de vida os animais permaneceram em baias com cama de serragem em grupos de dois a quatro animais, onde receberam alimentação e cura de umbigo duas vezes ao dia com tintura de iodo 10%. A partir do décimo dia de vida passaram para um sistema de criação *tie stall*, com cama de borracha, cocho individual para alimento e de água em comum para dois bezerros (Figura 1-A, B).

Os animais foram alimentados com 6L de dieta líquida, utilizando 130 gramas de pó (Raspa de leite em pó integral Ingrediente para alimentação animal – Itambé®) para cada 870 mL de água até os 45 dias de vida, divididos em duas refeições de 3L às 08h e o restante às 17h. Dos 46 aos 60 dias receberam 3L com fornecimento único às 08h. Desde o primeiro dia nas instalações da EV, receberam água *ad libitum* e a partir dos 10 dias de vida foi fornecido feno e ração (18 % de proteína bruta) *ad libitum* com limitação a 2 kg/animal/dia.

A limpeza das baias foi realizada a cada quatro dias com a troca da serragem. No *tie stall* as fezes eram retiradas e os cochos de água lavados diariamente. A cada dois dias, os bezerros foram retirados do *tie stall*, colocados em conjunto em baias, e para lavagem das camas de borracha e do piso com água sobre pressão (Figura 1-B).

4.3 Coletas de dados

4.3.1 Exame Físico

Os animais foram monitorados dos três aos 59 dias de vida. Diariamente, uma hora após o fornecimento do leite da manhã, foi realizado o exame físico dos animais composto por aferição da frequência cardíaca (FC – batimentos por minuto = bpm) através da auscultação dos batimentos cardíacos em 15 segundos multiplicando o resultado por quatro. A frequência respiratória (FR – movimentos respiratórios por minuto = mrpm) pela contagem dos movimentos torácicos em 15 segundos multiplicando o resultado por quatro e a temperatura retal através de Termômetro Clínico Digital (TERMO MED 1.0 da Incoterm®).

A identificação das enfermidades umbilicais, característica que não excluiu o animal do estudo, foi realizada por palpação do umbigo até os 10 dias de vida e com o bezerro em decúbito lateral

identificou-se o umbigo externo e as estruturas internas (artérias, veia e úraco) para verificação do diâmetro, consistência, dor a pressão dos cordões vasculares e úraco (Dirksen *et al.*, 1993). Os animais que não apresentaram alterações foram considerados negativos e os que apresentaram qualquer alteração umbilical foram considerados positivos para onfalopatia.

O escore de fezes, realizado diariamente, foi indicado pelo seu aspecto pela manhã. A avaliação foi feita através dos escores da consistência das fezes: 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 foram considerados como diarreia. O dia que este mesmo animal voltou a excretar fezes com escore 1 ou 2, caracterizou-se o término da diarreia.

Quando o animal foi diagnosticado com diarreia, durante os sete primeiros dias, foi feita hemogasometria, antes do aleitamento da manhã, para verificação do déficit de base que foi calculado para cada animal a partir da diferença entre o valor de HCO_3^- (mMol/L) do seu basal (hemogasometria realizada aos 3 dias de vida) e o encontrado no dia. As coletas de sangue para hemogasometria foram realizadas por meio de punção da veia jugular, seguindo instruções modificadas de Lisboa *et al.* (2002), com uma seringa estéril de 5mL, sem anticoagulante, utilizando agulha estéril, de calibre 25x7mm. As análises foram realizadas imediatamente após a coleta por meio do hemogasômetro portátil (Abbott Laboratories – EUA), com a utilização de cartuchos EC8+. Quando o déficit de base foi ≥ 9 mMol/L, o bezerro ainda em estação e o reflexo de sucção fraco foi caracterizado acidose metabólica moderada segundo Naylor (1989) e esse animal foi tratado com solução poliônica por via oral.

Para a avaliação da saúde pulmonar dos bezerros foram utilizados os escores respiratórios de Wisconsin (WI) e da Califórnia (CA), Auscultação Pulmonar, Radiografia Torácica e Ultrassonografia Pulmonar. Os escores respiratórios e a auscultação pulmonar foram feitos diariamente durante o exame físico. E durante 7 momentos pré-estabelecidos, 3-5, 10-12, 17-18, 24-25, 31-34, 45-46 e 59-60 dias de vida, ou em qualquer período do experimento que o animal apresentou um quadro de pneumonia ao exame físico (febre, estertor pulmonar, alteração do padrão respiratório, mudança de comportamento com redução de consumo de alimento e prostração) foi realizado a radiografia torácica, ultrassonografia pulmonar e coleta de amostras de sangue.

4.3.2 Escore Respiratório de Wisconsin

Os valores do Escore de WI, segundo McGuirk (2008) (Tabela 1 e Anexo 1), foram feitos durante o exame físico. Quando os animais apresentaram alterações nos escores de secreção ocular e posicionamento das orelhas prevaleceu o maior escore entre os dois parâmetros. A soma dos escores ≥ 5 foram considerados como doença pulmonar e ≤ 4 negativos.

Tabela 1: Parâmetros para determinação do Escore Respiratório de Wisconsi (WI), segundo McGuirk (2008).

Escore	0	1	2	3
Temperatura retal.	37,7 - 38,2	38,3 - 38,8	38,9 - 39,3	≥ 39,4
Tosse.	Ausente.	Presente e única, quando estimulada.	Presente e repetidas, quando estimulada, ou ocasionais, quando espontâneas.	Presente, repetidas e espontâneas.
Secreção nasal.	Serosa.	Pouca quantidade, unilateral.	Excessiva, mucosa e bilateral.	Abundante, mucopurulenta, bilateral.
Secreção ocular.	Serosa.	Pouca quantidade.	Moderada quantidade, bilateral.	Intensa quantidade, bilateral.
Posicionamento das orelhas.	Normal.	Balançar das orelhas ou da cabeça.	Ligeiramente pendentes e unilateral.	Intensamente pendentes, bilateral ou torção da cabeça.

4.3.3 Escore Respiratório da Califórnia

O Sistema de Escore da Califórnia (Anexo 2), segundo Love *et al.*, (2014) foi realizado diariamente. Os parâmetros avaliados e os respectivos escores foram: tosse espontânea (2 pontos), presença de secreção nasal (4 pontos), secreção ocular (2 pontos), posicionamento de orelha e cabeça alterados (5 pontos), temperatura retal > 39,2°C (2 pontos) e padrão respiratório anormal (2 pontos). A soma dos escores ≥ 5 foram considerados como doença pulmonar e ≤ 4 negativos.

4.3.4 Auscultação Pulmonar

A Auscultação Pulmonar foi realizada com estetoscópio (Litmann Classic III®) posicionado sobre a área pulmonar, seguindo método descrito por Dirksen *et al.* (1993), no qual a área pulmonar foi examinada em forma de linha da parte ventral para a parte dorsal e em cada local auscultando-se no mínimo dois movimentos respiratórios. Os sons auscultados foram considerados com Som Normal ou Estertor Pulmonar, sendo este último considerado como qualquer som anormal auscultado, aumento ou redução patológica do ruído respiratório, crepitação, sibilo e roçar respiratório (Dirksen *et al.*, 1993). Todo animal que apresentou um Estertor Pulmonar foi considerado com doença pulmonar.

4.3.5 Ultrassonografia Pulmonar

O exame ultrassonográfico do pulmão foi realizado em ambos os pulmões (esquerdo e direito), após tricotomia da região torácica entre o 3° e 12° espaço intercostal como mostrado na Figura 2-E-F. A caixa torácica foi marcada com três linhas, uma vertical seguindo a quinta costela, outras duas horizontais, uma no nível da articulação femorotibiopatelar e outra ao nível da articulação escapuloumeral, para questão de localização das lesões e comparação com o exame *post mortem*.

A Ultrassonografia Pulmonar foi realizada no sentido caudo-cranial, do 10° espaço intercostal ao terceiro espaço intercostal e em cada um destes foi avaliado do limite dorsal ao ventral, de acordo com Rabeling *et al.* (1998). Todas as lesões observadas foram anotadas em uma ficha individual

(Anexo 3) e foram utilizadas para comparação das lesões as observadas ao exame *post mortem* dos animais.

O aparelho utilizado foi o Mindray DP- 2200VT® com transdutor convexo na frequência de 5 MHz, profundidade de imagem 8,4 até 12cm e avaliação em *B-mode*. Foi considerado como pulmão normal somente a presença de imagem de reverberação, com Linhas A uniformemente distribuídas e pleurais lisas; as caudas de cometa, Linhas B, foram determinadas pela presença de um feixe reflexivo discreto que acompanha a movimentação da pleura e se estende por toda a imagem e a Consolidação Pulmonar foi definida como área anecoica/hipoecoica partindo da pleura (Babkine e Blond, 2009). Os animais foram considerados com doença pulmonar quando apresentaram consolidação pulmonar maior que 1cm de profundidade segundo Buczinski *et al.*, (2014), que foram medidas de acordo com a profundidade de consolidação utilizando o recurso medida (*measure*) do aparelho de ultrassonografia na imagem congelada (*freeze*).

Em outra análise os achados ultrassonográficos foram classificados como: Grau 0, pulmão sem alteração ou com poucas caudas de cometa; Grau 1, cauda de cometa incontáveis; Grau 2, consolidação (área hipoecoica) menor que 1cm; Grau 3, consolidação entre 1 e 2cm; Grau 4, consolidação entre 2 e 3cm e Grau 5, consolidação maior que 3cm (Figura 3).

4.3.6 Radiografia Torácica

A Radiografia Torácica foi realizada no posicionamento latero-lateral esquerdo e latero-lateral direito. O chassi radiográfico com 35 x 43 cm (Regius Model 110 Konica Minolta®) para Ecran digital foi colocado em uma gaveta de madeira para protegê-lo, posteriormente foi colocado no chão e, sobre ele, uma espuma. O animal foi deitado em decúbito lateral, sobre a espuma, e posicionado com os membros torácicos estendidos e tracionados cranialmente próximo à cabeça, de forma que a região torácica ficasse sobre o chassi (Figura 2-D). A Radiografia Torácica foi realizada com o aparelho de Raios-X Portátil Veterinário (Orange® 1040HF Vet 40-100kv/0,32-100m) ajustado em 2,5 mAs e 100 Kv, posicionando o centro da imagem entre o terceiro e quarto espaço intercostal. O chassi radiográfico foi digitalizado no aparelho (Regius Model 110) e analisado no setor de radiologia da EV da UFMG. Todas as pessoas envolvidas durante a realização do exame utilizaram coletes para proteção individual de radiação e dosímetro radiológico (Pro Rad®) individuais. Durante a análise cada radiografia foi classificada de acordo com as características observadas em Padrão radiográfico normal, intersticial, bronquial e alveolar, segundo Trhall (2013) (Figura 4). Os animais que apresentaram padrões intersticial, bronquial e alveolar foram considerados com doença pulmonar. Para análise os animais foram divididos em dois grupos de acordo com a gravidade, menor gravidade com Padrão Intersticial/Bronquial (PI/PB) e mais graves com Padrão Alveolar (PA).

4.3.7 Coleta de sangue para avaliação laboratorial

Amostras de sangue foram obtidas pelo método de venopunção da veia jugular externa, após assepsia com álcool 70%, em sistema a vácuo, com agulha 25mmx8mm e em tubos de 4 ml para coleta a vácuo (Vacunteiner®) com e sem ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA)

As amostras coletadas em tubos com EDTA foram analisadas em até 24 horas e utilizadas para obtenção dos valores de fibrinogênio e contagem de leucócitos totais no laboratório de Patologia Clínica da Escola de Veterinária da UFMG. As amostras de soro foram obtidas por meio de centrifugação a 3200 rpm por 9 minutos em centrífuga para tubos (BABY® I, 206-BL, FANEM®), armazenadas em microtubos de 1,5 e 0,5 mL e congeladas em freezer -20°C para posterior dosagem de proteína sérica total (Birgel, 1982).

4.3.8 Avaliação da temperatura e umidade ambiente

Para a coleta de dados de temperatura e umidade do ambiente foi utilizado um termômetro digital Termo-Higrômetro de temperatura interno-externa (INCOTERM® modelo 7666) na função *out*. Todos os dias entre as sete e oito horas da manhã era verificada e anotada a temperatura e a umidade ambiente máxima e mínima e o termômetro era zerado. A partir desses dados foi calculado o Índice de Temperatura e Umidade (ITU), através do modelo proposto por Thom (1959), conforme descrito na equação:

$$ITU = (0,8 \times TA + (UR/100) \times (TA - 14,4) + 46,4)$$

em que; T = temperatura do ar °C; UR = umidade relativa do ar (%). Valores de ITU foram utilizados para determinar o grau de estresse calórico, segundo Fidler e Vandevender (1981) em $70 > ITU$ (normais), $70 < ITU \leq 79$ (suave), $79 < ITU \leq 89$ (moderado) e $ITU > 90$ (severo).



Figura 2 – A - Instalações dos animais no Galpão da Clínica de Ruminantes em sistema de criação em baias na primeira semana de vida B – Instalações após a primeira semana de vida em sistema de *tie stall*; C- Escore de fezes D- Exame de Radiografia Torácica dos animais E- Posicionamento do Bezerro para exame de Ultrassonografia Pulmonar e marcação para descrever o local das alterações F- Realização do exame de Ultrassonografia Pulmonar.

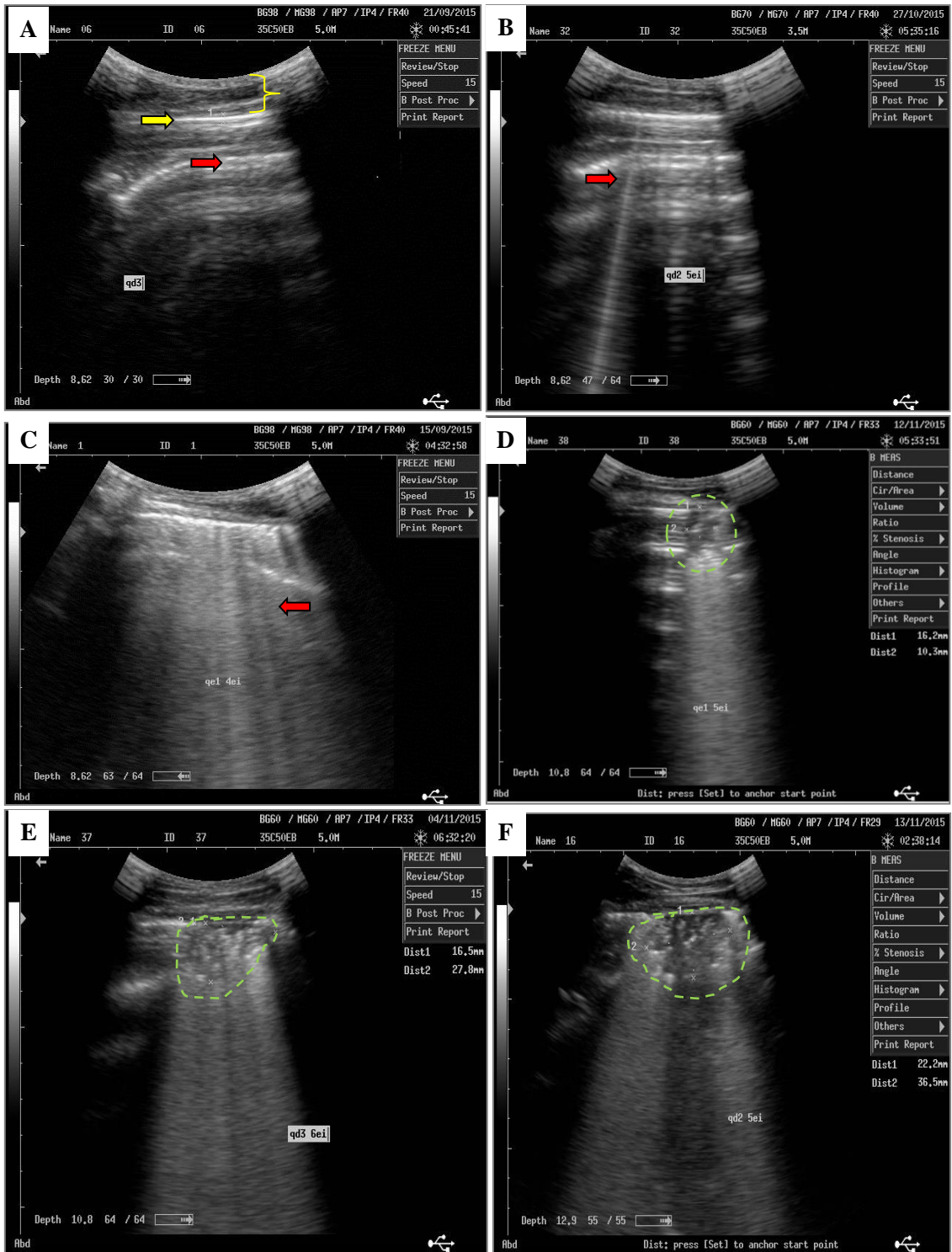


Figura 3 – Imagens do exame de Ultrassonografia Pulmonar: A- Pulmão normal, musculatura (⌋), Pleuras (yellow arrow), Linhas A do artefato de reverberação (red arrow); B – Pulmão com artefatos de Linhas B ou Artefato de “Cauda de Cometa” (red arrow); C – Pulmão com a presença de “Caudas de Cometa” incontáveis (Grau 1) (red arrow); D- Consolidação pulmonar (Grau 3) (red arrow); E- Consolidação pulmonar (Grau 4) (red arrow); F- Consolidação Pulmonar (Grau 5) (red arrow).

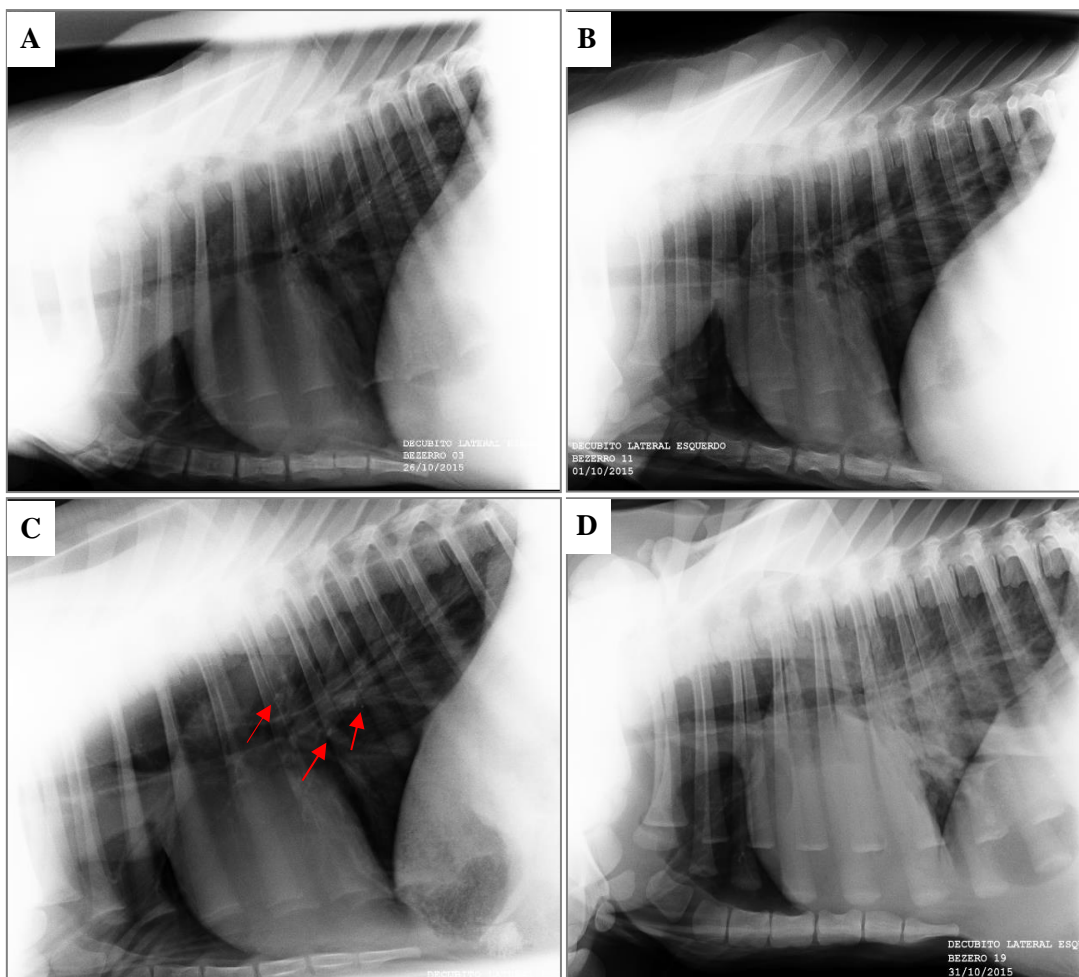


Figura 4 - Imagens do exame de Radiografia Torácica A- Pulmão com padrão normal; B – com Padrão Intersticial; C - Padrão bronquial (espessamento dos brônquios indicados pelas setas); D – com Padrão alveolar.

4.4 Avaliações laboratoriais

Os valores de fibrinogênio foram obtidos através de refratometria. Dois tubos capilares para cada amostra, foram preenchidos em 2/3 do seu comprimento com sangue total e colocados na centrífuga para microhematócrito (modelo Spin 1000, Microspin®) por 5 minutos a 12.000 rpm. Um dos tubos capilares foi quebrado acima da capa leucocitária, depositando o plasma sobre o refratômetro e procedendo-se a leitura para a determinação do valor das proteínas plasmáticas totais, em g/dL. Após a centrifugação, o segundo tubo capilar foi colocado em banho maria (modelo 102 R, Fanem®) por 3 minutos a 56°C e depois centrifugado novamente por 3 minutos a 12.000 rpm, para uma segunda determinação do valor das proteínas totais plasmáticas. O valor do fibrinogênio foi obtido por meio da diferença entre as duas aferições das proteínas plasmáticas e multiplicada por 100, obtendo-se a concentração final do fibrinogênio em cada amostra de sangue, em mg/dL.

A determinação dos valores para proteína sérica total e albumina foi feita por espectrofotometria (Cobas Mira Plus®), com kits comerciais (Biotécnica). Pela diferença dos valores de proteína total e albumina foi obtido o valor de globulinas.

A contagem de leucócitos totais foi realizada no contador automático de células sanguíneas (CC530 Celm®/Diluidor DA200) (Birgel, 1982).

4.5 Tratamentos dos animais

Todos os animais diagnosticados com pneumonia clínica, presença de estertor pulmonar, aumento frequência respiratória, febre e mudança de comportamento com redução no consumo de alimento e prostração, ou qualquer outra enfermidade durante o experimento foram tratados com protocolo terapêutico apropriado, segundo Divers e Peek, (2008). As medicações utilizadas foram Penicilinas (30000 UI/Kg/IM) durante 5 dias ou Enrofloxacina (7,5 mg/kg/IM) dose única e anti-inflamatório Flunixin Meglumine (1,1mg/kg/IM) por três dias.

4.6 Análise estatística

O resultado das avaliações de Auscultação Pulmonar, Escore de WI, Escore da CA, Ultrassonografia Pulmonar e Radiografia Torácica foram avaliados de forma descritiva, para análise de correspondência entre casos positivos, frequência de animais e número de avaliações positivas por técnica.

No teste de eficiência das técnicas, a Radiografia Torácica foi considerada como teste “padrão ouro” e foram calculadas, conforme Dohoo *et al.*(2003) em planilha de Excel, a sensibilidade (número de resultados de teste verdadeiros positivos/ verdadeiro-positivos + falso-negativos), especificidade (número de resultados de teste verdadeiro-negativos / verdadeiro-negativos + falso-positivos), valor preditivo positivo (número de resultados de teste verdadeiro-positivos / verdadeiro-positivos + falso-positivos) e valor preditivo negativo (número de resultados de teste verdadeiro-negativos / verdadeiro-negativos + falso-negativos) das técnicas Auscultação Pulmonar, Escore de WI, Escore da CA e Ultrassonografia Pulmonar. Em outra análise a Ultrassonografia Pulmonar foi considerada como teste “padrão ouro” e foram calculados a eficiência das técnicas Auscultação Pulmonar, Escore de WI, Escore da CA e Radiografia Torácica.

O método de *Kappa* descrito por Cohen (1960) foi utilizado para determinar a correlação entre as técnicas de Auscultação Pulmonar, Escore WI, Escore CA, Ultrassonografia Pulmonar e Radiografia Torácica. Os valores do teste variam de 0, concordância inexistente, a 1, concordância perfeita. Foi utilizado o critério de classificação dos valores *k* proposto por Landis e Koch (1977): $k \leq 0$ sem concordância; $0 < k \leq 0.19$ concordância fraca; $0.20 \leq k \leq 0.39$ concordância leve; $0.40 \leq k \leq 0.59$, concordância moderada; $0.60 \leq k \leq 0.79$, concordância substancial; $0.80 \leq k \leq 1.00$, concordância perfeita. O *software* utilizado foi o disponibilizado pelo Laboratório de Epidemiologia e Estatística – Lee, do Instituto Dante Pazzanese de Cardiologia.

As variáveis temperatura retal, frequência respiratória, frequência cardíaca, dosagem de fibrinogênio não apresentaram distribuição normal e homocedasticidade ao teste de *KolmogorovSmirnov* e foram considerados dados não paramétricos. Os critérios de classificação foram positivos e negativos: à Auscultação Pulmonar, ao Escore de WI, ao Escore de CA, à Ultrassonografia Pulmonar e à Radiografia Torácica. O teste utilizado para avaliar a diferença entre os valores, foi o teste *Mann-Whitney* para amostras independentes e com tamanho variável. Para a comparação das medias de temperatura retal e frequência respiratória entre os tempos foi utilizado o teste de *Friedman* e para a análise de correlação das duas variáveis o método de *Pearson*. Os cálculos de ambos os testes estatísticos foram realizados no *software* estatístico

InfoStat versão 2008. Para todos os testes foi considerado o nível de significância de $P \leq 0,05$ (Sampaio, 2010).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Frequência de animais positivos para doença pulmonar

Considerando os 39 bezerros avaliados durante o estudo 53,85% (21/39) apresentaram pelo menos uma avaliação positiva para doença pulmonar ao exame de Ultrassonografia Pulmonar, 61,54% (24/39) à Radiografia Torácica, 46,62% (18/39) à Auscultação Pulmonar, 43,59% (17/39) ao Escore WI e 46,15% ao Escore CA (Tabela 2). Ao avaliar os resultados em conjunto das cinco técnicas empregadas 79,49% (31/39) dos animais apresentaram-se positivos em, pelo menos, uma avaliação em alguma das cinco técnicas e 25,65% (10/39) animais foram tratados, pelo menos uma vez, para doença pulmonar durante o estudo.

Tabela 2: Frequência de bezerros com doença pulmonar nas avaliações de Ultrassonografia Pulmonar, Radiografia Torácica, Auscultação Pulmonar, Escore de WI e Escore da CA, dos 39 bezerros avaliados dos três aos 59 dias de vida.

	Ultrassonografia Pulmonar	Radiografia Torácica	Auscultação Pulmonar	Escore de WI	Escore da CA
Positivos	53,85% (21)	61,54% (24)	46,62% (18)	43,59% (17)	46,15% (18)
Negativos	46,15% (18)	38,46% (15)	53,86% (23)	56,41% (22)	53,85% (21)
Total			100% (39)		

A frequência de bezerros positivos e o número de animais tratados no estudo foram altos comparado a estudos anteriores. Segundo dados do USDA (2007), 12,4% dos bezerros em aleitamento, em fazendas localizadas nos Estados Unidos, tiveram doença respiratória e 11,4% foram tratados. Valor bem abaixo do observado no estudo (25,65%). Segundo recomendação da Associação de Bezerros e Novilhas de Leiteria (Young e Rood, 2010) a porcentagem de animais tratados deve ser inferior a 10% até a desmama.

Dados de prevalência da doença variam de 2,5 a 90%. A grande discrepância entre os valores para prevalência pode ocorrer em função do número de animais avaliados, dos métodos utilizados para definir casos de doença respiratória, que podem ser baseados na análise de sistemas de escore, observação de produtores, tratamentos para pneumonia, auscultação ou ultrassonografia. Outro fato está relacionado ao rebanho avaliado, no qual a doença respiratória pode estar menos ou mais presente e ligada a diferentes fatores de risco (Waltner-Toews *et al.* 1986; Lago *et al.*, 2006; Gulliksen *et al.* 2009; Heins *et al.*, 2014; Windeyer *et al.*, 2014).

A presença de doenças comuns em bezerros no período de aleitamento foram fatores de risco para pneumonia. Neste estudo a frequência de diarreia neonatal foi de 82,05% (32/39), com duração média de 9,13 dias ($\pm 6,33$ dias) (Figura 6-A). Destes, 26 bezerros foram monitorados por hemogasometria até o sétimo dia do curso da diarreia e 57,69% (15/26) apresentaram acidose metabólica moderada com déficit de base maior que 9 mMol/L. A desidratação, a acidose metabólica, o desequilíbrio hidroeletrólítico, a desnutrição por redução na absorção intestinal, o gasto energético e a redução no consumo de alimento durante a resposta inflamatória presentes nos quadros de diarreia podem afetar negativamente o sistema imunológico do animal e a função do aparelho mucociliar, reduzindo a depuração do trato respiratório inferior predispondo à pneumonia.

É relatada a ocorrência de pneumonias bacterianas secundárias a diarreia em bezerros (Curtis *et al.*, 1988; Panciera e Confer, 2010). No processo da diarreia, agentes infecciosos podem promover inflamação, lesão e hipersecreção intestinal que levam a perdas de eletrólitos, água e nutrientes pelas fezes (Naylor, 1999; Freitas, 2013). O processo inflamatório exige gasto energético para a produção de mediadores inflamatórios, o funcionamento celular e, ao mesmo tempo, a condição inflamatória pode promover depressão e redução de consumo de alimento (Borderas *et al.*, 2008; Gorden e Plummer, 2010). No geral, o animal apresenta desequilíbrio eletrolítico, alterações no equilíbrio ácido-base e balanço energético negativo (Naylor, 1999; Freitas, 2013). A desidratação provoca aumento da viscosidade das secreções respiratórias e redução da camada líquida periciliar, o que dificulta o batimento ciliar e afeta o sistema de limpeza do trato respiratório (Alckermann *et al.*, 2010). O funcionamento celular depende de uma série de reações bioquímicas e enzimáticas que ocorrem dentro de uma faixa de pH ótima. Assim, uma acidose metabólica descompensada pode afetar negativamente inúmeras funções orgânicas (Carlson e Bruss, 2008) como o funcionamento de reações imunes e o próprio batimento ciliar do aparelho mucociliar do trato respiratório.

Outra enfermidade presente foi a onfalite (Figura 6-B), observada em 25,64% (10/39) dos bezerros. Dos 10 bezerros com onfalite, dois foram a óbito com sintomatologia de sepse na primeira semana de vida e ambos foram positivos para doença pulmonar em alguma das técnicas de avaliação para pneumonia durante o experimento, quatro foram tratados para pneumonia, quatro tiveram poliartrite, dos quais dois foram a óbito por volta dos 30 dias de vida por pneumonia. A infecção umbilical pode abranger os vasos umbilicais, os quais são colonizados por bactérias que podem passar para circulação, causar sepse, poliartrite e pneumonia (Virtala *et al.*, 1996; Radostits *et al.*, 2006; Mee, 2008).

Um fator de estresse que pode ter afetado a imunidade dos animais foi o transporte da fazenda até o local do experimento. O estresse em bezerros eleva a concentração de cortisol sérico que pode reduzir a imunocpetência. Além disso, comparado aos animais adultos os bezerros tem menor capacidade de termorregulação e desidratam mais facilmente durante o transporte (Hulbert e Moisés, 2016).

Alguns fatores ambientais podem ter contribuído. Os procedimentos para a limpeza do galpão incluíram o uso de água sob pressão (Figura 6-D) e isso pode ter provocado a suspensão de grande quantidade de sujidades em forma de aerossol em um galpão fechado. O excesso de umidade no ambiente é relacionada a elevadas contagens de bactérias no ar, e junto com as partículas sólidas suspensas aumentam o tempo de sobrevivência e ajudam a transportar vírus e bactérias (Sobsey e Meschke, 2003; Matkovic *et al.*, 2006). Lago *et al.* (2006) observaram que altas contagens bacterianas no ar foram relacionadas a alta incidência de doença respiratória em bezerros. A grande maioria dos micro-organismos presentes no ar, bactérias e fungos, sendo ou não agentes primários da doença respiratória, vivos ou mortos, possuem em sua estrutura uma série de antígenos como endotoxinas, enzimas, glucanos, que podem causar lesões no epitélio respiratório e predispor a doença respiratória (Wathes *et al.* 1984). As próprias partículas em suspensão podem ser agentes estressores para o trato respiratório, provocando alergias e hipersecreção que afetam o funcionamento do aparelho mucociliar (MacVean *et al.*, 1986; Carpenter, 1989; Panciera *et al.*, 2010).

Mesmo com a raspagem das fezes diariamente, a lavagem do *tie stall* a cada dois dias e a ventilação mecânica, percebeu-se diariamente durante a manhã, antes da limpeza, odor amoniacal próximo aos bezerros. O gás amônia é irritante para a mucosa respiratória, pode causar hipersecreção, comprometer a integridade epitelial e reduzir a depuração mucociliar predispondo a infecções (Griffin *et al.*, 2010; Lorenz *et al.*, 2011).

A temperatura (°C) e umidade (%) ambiente médias durante o período do estudo foram mínimas de 23,67°C e 47,5% e máximas de 32,86°C e 57,13%, respectivamente. Ao considerar a zona de conforto térmico para bezerros entre 15 e 25 °C segundo Davis e Drackley (1998), os animais foram expostos ao estresse calórico. Baseados nos valores do Índice de Temperatura e Umidade (ITU) médios máximo (83,23) e mínimo (69,75) (Figura 5), o estresse por calor atingiu níveis moderados em grande parte do período segundo Fidler e Vandevender (2011). Os bezerros em estresse por calor podem apresentar elevada concentração sérica de cortisol, reduzir o consumo de alimentos e desviar a energia corpórea para debelar calor, com isso ganham menos peso e comprometem o funcionamento do sistema imunológico, aumentando a susceptibilidade às doenças (Stull *et al.*, 2008; Drackley, 2008; Holt, 2014).

O contato entre os animais foi outro fator que pode ter contribuído com os casos de pneumonia, pois bezerros doentes podem secretar grande quantidade de agentes patogênicos via secreções nasais e orais. Esse contato aconteceu durante todo o experimento, na criação em baias nos 10 primeiros dias de vida (Figura 6-C), no *tié stall* com o contato com bezerro ao lado e durante a limpeza quando os bezerros eram agrupados. O contato entre bezerros é um método de transmissão importante e geralmente leva à maior prevalência da doença (Callan e Garry, 2002; Coutinho, 2005; Lago *et al.*, 2006). Quando ocorre infecção do trato respiratório a população de patógenos primários da doença respiratória aumenta nas secreções respiratórias, por exemplo, em casos de Mannheimiose ocorre predomínio de eliminação de *Mannheimia haemolytica* sorotipo A1, o mais frequentemente isolado em pneumonias (Frank *et al.*, 1994; Gaeta *et al.*, 2017). Isso pode, durante o contato, ser um fator de risco para disseminação da doença.

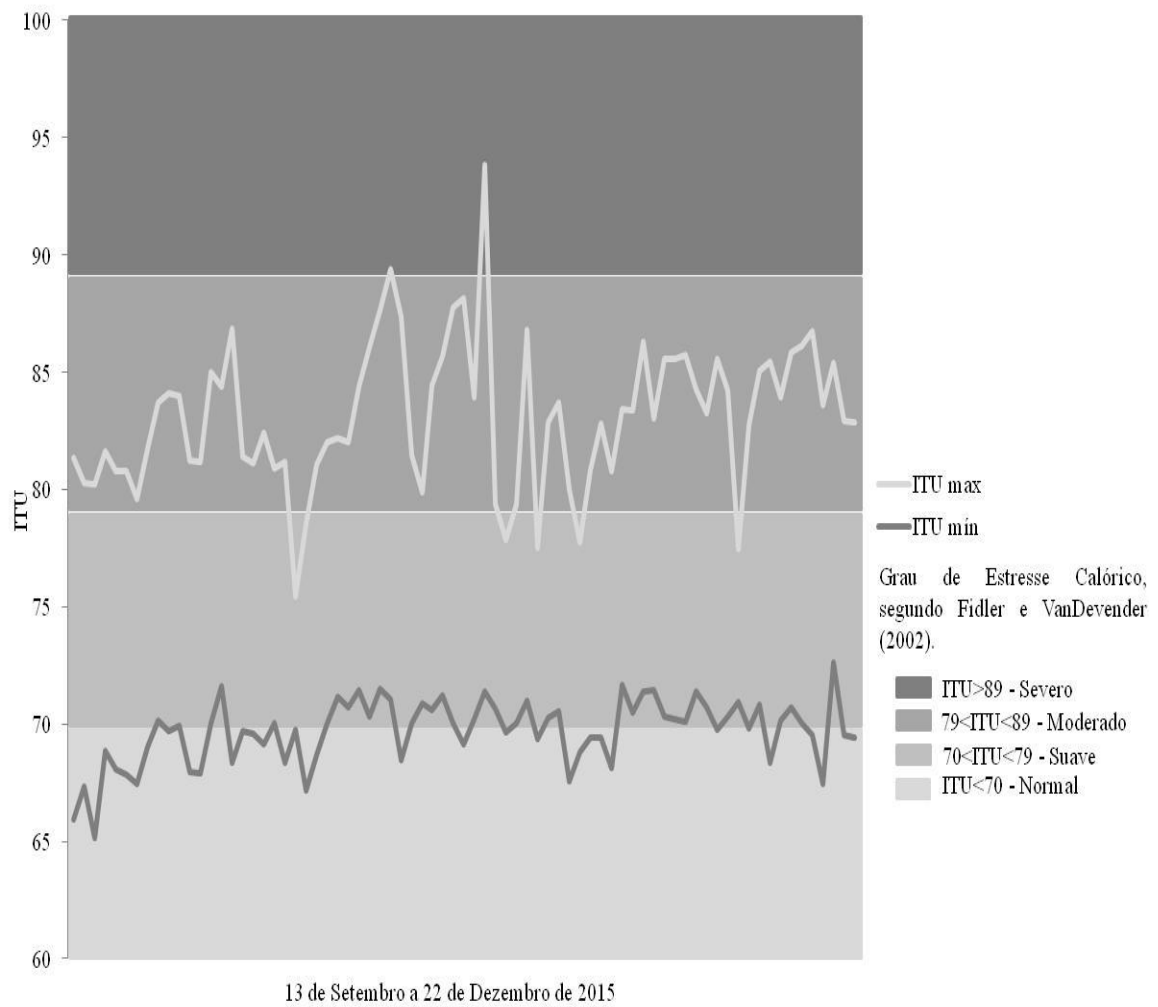


Figura 5: Distribuição dos Índices de Temperatura e Umidade (ITU), referente a temperatura e umidade máximas (ITU máx.) e mínimas (ITU mín.), observados durante o período do experimento, segundo classificação de Fidler e VanDevender (2002).



Figura 6 - Fatores de risco para doença pulmonar A- Bezerros com diarreia nas duas primeiras semanas de vida B- Onfalopatias, (bezerro com espessamento do umbigo externo e arqueado devido a dor provocada pela inflamação no umbigo); C- Bezerros em baias coletivas, D- Limpeza do galpão com água sobre pressão.

5. 2 Análise de concordância das técnicas de avaliação.

Dos 39 bezerros que iniciaram o experimento 8 foram a óbito e 36 avaliações foram perdidas, assim, no total foram realizadas 237 avaliações por técnica. Do total de animais avaliados, 31 bezerros foram positivos para doença respiratória em pelo menos uma das técnicas de avaliação e 22 foram positivos na mesma técnica em mais de uma avaliação.

Conforme a Tabela 3 e a Figura 7, as técnicas de Radiografia Torácica (23,63%) e Ultrassonografia Pulmonar (16,48%) apresentaram mais avaliações positivas comparadas à Auscultação Pulmonar (9,7%), ao Escore da CA (12,22%) e ao Escore de WI (11,82%). Isso porque os exames de imagem podem detectar alterações pulmonares sem que estas sejam acompanhadas de sinais clínicos e/ou alterações à Auscultação Pulmonar. Esse fato afetou o número de avaliações positivas e a concordância entre os métodos.

Tabela 3: Frequência de avaliações positivas e negativas nos métodos de diagnóstico para doença pulmonar: Ultrassonografia Pulmonar, Radiografia Torácica, Auscultação Pulmonar e Escore respiratório de WI e da CA, em bezerros até 59 dias de idade.

	Radiografia Torácica	Ultrassonografia Pulmonar	Auscultação Pulmonar	Escore de WI	Escore da CA
Positivo	23,63% (56)	16,88% (40)	9,70% (23)	11,82% (28)	12,22% (29)
Negativo	76,37% (181)	83,12% (197)	90,30% (217)	88,18% (209)	87,78% (208)
Total			100% (237)		

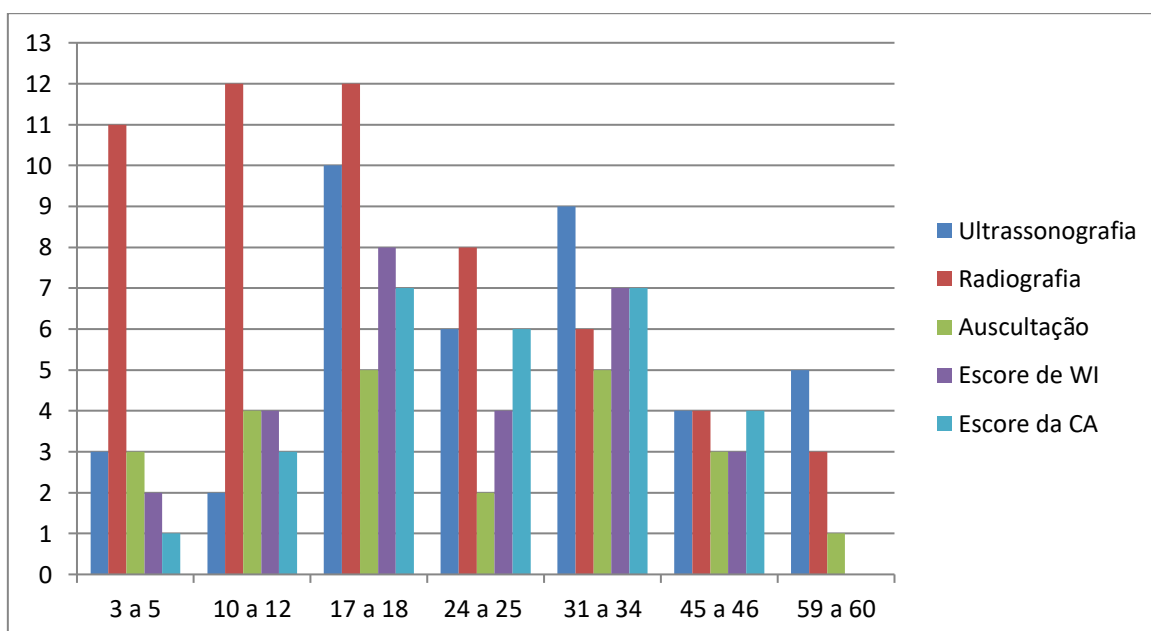


Figura 7: Distribuição do total de casos positivos por técnica nos 7 momentos de avaliação de acordo com a idade dos bezerros.

Na análise de concordância, apresentado na Tabela 4, houve diferença entre as técnicas utilizadas. Verificou-se concordância moderada entre as técnicas de Radiografia Torácica e Ultrassonografia Pulmonar (0,507), e entre Auscultação Pulmonar e métodos de Escore de WI (0,583), e da CA (0,482), e substancial entre os métodos de WI e CA (0,661). A concordância entre métodos de imagem e clínicos foram fracas e leves (0,088 a 0,283), segundo classificação dos valores de *Kappa* proposta por Landis e Koch (1977).

Tabela 4 - Análise de concordância entre os métodos de diagnóstico para doença pulmonar, Ultrassonografia Pulmonar, Radiografia Torácica, Auscultação Pulmonar, Escore respiratório de WI e da CA, em bezerros de três aos 59 dias de vida.

Técnicas de avaliação	Índice <i>Kappa</i> geral	Valor de p	Concordância
Ultrassonografia Pulmonar x Radiografia Torácica	0,507	0,001	Moderada
Radiografia Torácica x Auscultação Pulmonar	0,281	0,001	Leve
Radiografia Torácica x Escore de WI	0,261	0,001	Leve
Ultrassonografia Torácica x Auscultação Pulmonar	0,279	0,001	Leve
Ultrassonografia Pulmonar x Escore de WI	0,283	0,001	Leve
Auscultação Pulmonar x Escore de WI	0,583	0,001	Moderada
Escore de WI e Escore da CA	0,661	0,001	Substancial
Escore da CA x Auscultação Pulmonar	0,482	0,001	Moderada
Escore da CA x Radiografia torácica	0,088	0,042	Fraca
Escore da CA x Ultrassonografia Pulmonar	0,274	0,001	Leve

*Nível de significância (p<0,05)

Isso provavelmente foi decorrente da característica e da forma de identificação da doença pulmonar entre as técnicas. Os exames de imagem independem de sintoma clínico e as detectam em casos agudos e crônicos, já as técnicas clínicas podem ser mais efetivas em quadros agudos da doença pulmonar. É relatado que bezerros com consolidações pulmonares podem não ser identificados ao Escore WI (Bukzinsck *et al.*, 2014; Ollivett, 2014) e durante a Auscultação Pulmonar (Bukzinsck *et al.*, 2014). Além disso, alterações à Auscultação Pulmonar podem não ser observadas em bovinos com lesões crônicas ou graves (Tegtmeier e Arnbjerg, 2000; Flock, 2004).

Estudos prévios que fizeram análises correlacionando achados radiográficos e ultrassonográficos em bovinos são descritivos (Braun *et al.*, 1997; Jung e Bostedt, 2004). Jung e Bostedt (2004) observaram semelhança entre os achados radiográficos e ultrassonográficos em 23 de 30 bezerros com alterações respiratórias, porém todos os achados radiográficos foram classificados em moderados e graves, o que pode ter aumentado essa correlação. Na medicina humana, em casos de pacientes com dispneia aguda, Zanobetti *et al.* (2011) observaram concordância média entre os dois testes (0,7402), um pouco maior que a do presente estudo (0,507), porém foram avaliados apenas pacientes sintomáticos.

As correlações da Auscultação Pulmonar aos sistemas de Escore de WI e da CA foram moderadas. A utilização da hipertermia e o aumento da frequência respiratória como parâmetro nos sistemas de escore podem ter contribuído, pois a hipertermia leva ao aumento da frequência respiratória, que pode exercer influência direta na auscultação, aumentando o ruído respiratório. Gouda (2015) observou uma boa concordância entre Auscultação Torácica e Escore de WI. Entre 15 bezerros negativos no Escore WI houve ausência de alterações à auscultação e entre 15 animais positivos, 11 apresentaram estertores pulmonares.

Entre as técnicas, os Escores de WI e da CA foram os que apresentaram melhor concordância, provavelmente devido ao fato do Escore da CA ter sido produzido a partir do Escore WI. Aly *et al.*, (2014) observaram concordância de $k = 0,850$ ao avaliarem 100 bezerras, com média de idade de 62 dias. Assim como no presente estudo, a alta concordância entre os dois testes, permite que a escolha de um ou de outro possa ser baseada na facilidade de aplicação.

5.3 Nível de eficiência das técnicas considerando a Radiografia Torácica como “padrão ouro” no diagnóstico da doença pulmonar

Considerando a Radiografia Torácica como “padrão ouro” para o diagnóstico de doença pulmonar, a sensibilidade do exame de Ultrassonografia Pulmonar foi 52%, da Auscultação Pulmonar 25%, do Escore de WI 25% e no Escore da CA 18%. As especificidades das técnicas foram altas: 94%, 96%, 94% e 90%, respectivamente (Tabela 5).

Tabela 5 - Sensibilidade (Se), Especificidade (Es), Valor Preditivo Positivo (VPP) e Valor Preditivo Negativo (VPN) da Ultrassonografia Pulmonar, Auscultação Pulmonar, Escore de WI e Escore da CA, comparadas as avaliações a Radiografia Torácica, realizados em bezerros de três aos 59 dias de vida.

		Radiografia Torácica					
		Positivo	Negativo	Se	Es	VPP	VPN
Ultrassonografia Pulmonar	Positivo	29	11	52%	94%	73%	86%
	Negativo	27	170				
	Total	56	181				
Auscultação Pulmonar	Positivo	15	8	27%	96%	65%	81%
	Negativo	41	173				
	Total	56	181				
Escore WI	Positivo	14	11	25%	94%	56%	80%
	Negativo	42	170				
	Total	56	181				
Escore CA	Positivo	10	19	18%	90%	34%	78%
	Negativo	46	162				
	Total	56	181				

Em relação à Radiografia Torácica a que apresentou melhor sensibilidade foi a Ultrassonografia Pulmonar, com 52%. Tal valor de sensibilidade foi baixo e o principal fator que justifica o ocorrido é a alta frequência de padrões intersticial/bronquial (51,8%) na Radiografia Torácica (Tabela 6), dos quais apenas 24,14% foram detectados à Ultrassonografia Pulmonar.

Tabela 6 - Número de avaliações positivas à Radiografia Torácica classificadas nos Padrões Intersticiais/Bronquiais e Alveolares e correspondência destes nas técnicas de Ultrassonografia Pulmonar, Auscultação Pulmonar, Escore de WI e Escore da CA e as médias de Frequência Respiratória (FR) e Temperatura Retal (TR) nos dois padrões.

Radiografia Torácica		Ultrassonografia Pulmonar	Auscultação Pulmonar	Escore de WI	Escore da CA	FR (mpm)	TR (°C)
Padrão	Número de positivos						
PI/PB	29	24,14% (7/29)	17,24% (5/29)	13,79% (4/29)	10,34% (3/29)	40 ^A	38,9 ^A
PA	27	81,48% (22/27)	37,04%(10/27)	37,04%(10/27)	25,93% (7/27)	54 ^B	39,3 ^B
Total	56	51,79% (29/56)	26,78% (15/56)	25,00%(14/56)	17,86% (10/56)		

PI/PB- Padrão intersticial/ Padrão Bronquial observados em 29 avaliações (23 apresentaram padrão intersticial, 4 padrão bronquial e 2 padrão misto intersticial e bronquial), PA- Padrão Alveolar observada em 27 avaliações (18 padrão alveolar; 2 padrão misto de alveolar e bronquial; 3 padrão misto em alveolar e intersticial; 3 padrão misto padrão alveolar, bronquial e intersticial).

Letras maiúsculas diferentes na coluna significam diferença entre valores no nível de significância $p < 0,05$. FR - Frequência Respiratória (movimentos por minuto) $p = 0,0395$ / TR - Temperatura Retal $p = 0,0296$.

A baixa capacidade da Ultrassonografia Pulmonar em identificar os padrões Intersticiais e Bronquiais é esperada. Quando ocorre apenas o espessamento dos brônquios e do interstício pulmonar, o lúmen alveolar permanece preenchido por ar e provoca alta reflexão do ultrassom, formando um artefato de reverberação semelhante ao pulmão saudável. Jung e Bostedt (2004) observaram que a ultrassonografia só identificou broncopneumonias em bezerros quando essas foram moderadas e graves, pois levaram ao preenchimento dos alvéolos por fluido. Quando apresentaram pneumonia intersticial não mostraram alterações de imagem significativas à Ultrassonografia Pulmonar e só foram identificadas no exame histopatológico (Rabeling *et al.* 1998; Jung e Bostedt, 2004).

Apesar de caudas de cometa serem relacionadas ao espessamento do interstício pulmonar, no estudo optou-se por considerar apenas consolidações maior que 1 cm como indicativo de doença pulmonar de acordo com Buczinski *et al.* (2014). Se a presença de cauda de cometa fosse considerada como doença pulmonar aumentaria a sensibilidade do teste, pois aumentaria o número de casos positivos, mas reduziria a sua especificidade. Em bovinos e na medicina humana é relatado que artefatos de linhas B, “caudas de cometa”, podem estar associados à pneumonia intersticial (Jung e Bostedt, 2004; Streeter e Step, 2007; Sartori e Tombesi, 2010; Dexheimer Neto *et al.* 2012), contudo são pouco específicos e podem ocorrer em pulmão saudável, no edema pulmonar, irregularidade na pleura e áreas com atelectasia (Rabeling *et al.*, 1998; Flock, 2004; Jung e Bostedt, 2004; Blond e Buckzinsk, 2009; Buczinski *et al.*, 2014).

Os padrões alveolares foram observados em 48,2% (27/56) das Radiografias Torácicas positivas. Estes são característicos de lesões alveolares e assim, passíveis de serem identificados à Ultrassonografia Pulmonar e se justificou pela alta correspondência entre os testes, dos quais 81,48% (22/27) foram detectados a ultrassonografia (Tabela 6). A falta de correspondência em 19% (8/27) dos casos pode ser atribuída a possíveis lesões identificadas na Radiografia Torácica que estavam sobrepostas a uma porção de pulmão aerada em contato com a pleura. Assim, antes

de atingir a lesão, o ultrassom sofre reflexão, impossibilitando sua identificação. O fato de o tecido pulmonar aerado impedir a identificação de lesões à ultrassonografia é bem documentado (Rabeling *et al.*, 1998; Tidwell, 1998; Jung e Bostedt, 2004; Flock, 2004; Blond e Buckzinsk, 2009). Jung e Bostedt (2004) observaram que as lesões pulmonares identificadas à Radiografia Torácica em bezerros só foram identificadas à ultrassonografia quando estavam em contato com a pleura e Rabeling *et al.* (1998) observaram falha da ultrassonografia em identificar um abscesso pulmonar devido à sobreposição de tecido pulmonar aerado.

Considerando que as afecções pulmonares em bezerros ocorrem principalmente por via aerógena, os lobos pulmonares craniais são os primeiramente afetados. Na Ultrassonografia Pulmonar dos bezerros no presente estudo foi utilizado um transdutor convexo e isso não permitiu a avaliação dos primeiros espaços intercostais, por não permitir seu acoplamento sob a musculatura do membro anterior. Com isso, lesões iniciais presentes nas porções pulmonares sob o 1º e 2º espaço intercostal podem ter sido identificadas à Radiografia Torácica e não terem sido avaliadas à Ultrassonografia Pulmonar. Em estudos recentes, a utilização de transdutores lineares permitiu o acesso ao primeiro e segundo espaços intercostais, permitindo a avaliação completa do pulmão (Ollivett, 2014; Ollivett e Buczinski, 2016) e segundo Ollivett (2014) essas porções foram os locais de maior frequência de lesões no início do processo da pneumonia, principalmente a porção cranial do pulmão direito.

A Auscultação Pulmonar e os Escores WI e CA apresentaram maior sensibilidade em identificar os resultados positivos a Radiografia Torácica nos padrões alveolares. Esse padrão significou processos pulmonares mais graves e sinais clínicos mais evidentes comparados ao padrão intersticial, com maiores valores de frequência respiratória e temperatura retal (Tabela 6), favorecendo o diagnóstico nesses métodos. O aumento da frequência respiratória tem influência direta na auscultação por aumentar o ruído respiratório e no Escore da CA por alterar o padrão respiratório. A presença de hipertermia foi um parâmetro utilizado nos dois métodos de escore utilizados nesse trabalho.

A baixa sensibilidade de detecção do padrão intersticial à Auscultação Pulmonar estudo, pode ser justificada provavelmente por se tratarem de em sua maioria casos brandos, que não causaram inflamação intensa da rede bronquial e, por isso, provavelmente não houve alteração do ruído pulmonar, que segundo Dirksen *et al.*, (1993) só são produzidos quando ocorrem alterações na passagem do ar em vias aéreas com mais de 2mm de diâmetro. Ambas as técnicas de diagnóstico clínico apresentaram baixa sensibilidade, mostrando que lesões pulmonares identificadas à Radiografia Torácica podem não ser acompanhadas de alterações clínicas, mas ambos apresentaram alta especificidade sendo mais prováveis de serem positivos, quando o animal realmente possui doença pulmonar.

Os Métodos de Escore de WI e da CA apresentaram menores sensibilidade e especificidade. Provavelmente, esse valor foi baixo devido aos parâmetros utilizadas na técnica, como corrimento nasal, secreção ocular e posicionamento de orelha e cabeça serem pouco específicos, podendo estar alterados em infecções do trato respiratório superior (Radostits *et al.*, 2007; Ollivetti e Buczinsk, 2016) e o animal ser positivo no teste sem necessariamente ter alguma doença pulmonar.

Entre os dois métodos de escore, o Escore da CA apresentou menor sensibilidade e especificidade. No método de Escore da CA os escores não consideram intensidade, assim animais que apresentam febre, tosse e corrimento ocular, ganharam escore 2 em cada uma dessas alterações, já no Escore de WI essas alterações podem chegar a escore 3 quando severamente afetadas. Assim, apenas alterações em dois desses parâmetros podem resultar em um quadro positivo no

Escore de WI e na maioria das vezes, o Escore da CA necessitou de três parâmetros alterados, sugerindo que o Escore de WI é melhor para diagnóstico de quadros respiratórios iniciais com poucos parâmetros alterados.

Algumas características dos padrões Intersticiais/bronquiais e Alveolares podem ter afetado a sensibilidade e a especificidade das técnicas avaliadas. As 29 avaliações para padrão intersticial/bronquial foram originadas de 15 bezerros e em nenhum momento dessas avaliações esses animais foram tratados para pneumonia. Apenas dois desses, na avaliação seguinte apresentaram Padrão Alveolar, sendo uma possível evolução do quadro para um processo mais grave. Assim, pode-se inferir que ocorreu uma elevada porcentagem, 86,66% (13/15), de animais que recuperaram sem tratamento e isso pode ser uma característica desse padrão por estar relacionado a infecções virais e bacterianas brandas (Farrow, 1999; Luand *et al.*, 2008; Vervloet *et al.*, 2010) e com poucos sinais clínicos, justificando a baixa detecção nos métodos clínicos e reduzindo a sensibilidade dos mesmos.

Do total de avaliações positivas no Padrão Intersticial, 70,37% (19/25) ocorreram em 12 bezerros até os 18 dias de vida (Figura 6) e todos apresentaram diarreia, a qual teve início na primeira semana de vida e perdurou, em média, 6,13 dias ($\pm 5,33$ dias). O fato dos animais apresentarem diarreia pode ter contribuído para a presença de Padrões Intersticiais, pois pode ter favorecido as infecções respiratórias brandas, devido à acidose metabólica e à desidratação (Curtis *et al.*, 1988; Carson e Bruss 1998; Alckermann *et al.*, 2010) ou pode ter levado a quadros sistêmicos que causaram algum grau de edema pulmonar intersticial. Os principais agentes patogênicos da diarreia são *Escherichia coli*, *Salmonella* spp., *Coronavírus*, *Rotavírus*, *Cryptosporidium* spp e *Giardia* sp (Carvalho, 2013; Cho e Yoon, 2014) e esses podem induzir resposta inflamatória e liberação de endotoxinas, acarretando distúrbio circulatório sistêmico (Radostits *et al.* 2007), edema intersticial pulmonar com consequente padrão intersticial na imagem radiográfica (Luand *et al.*, 2008; Vervloet *et al.*, 2010).

Dezesseis bezerros foram responsáveis pelas 27 avaliações com Padrão Alveolar (Tabela 6). Destas, 15 vieram de animais que não foram tratados para pneumonia e 13 que recuperaram espontaneamente. Os outros 12 casos foram de bezerros que passaram por tratamento para pneumonia, sendo que 9 casos foram observados no dia do tratamento e os outros 3 nas semanas após o tratamento.

No Padrão Alveolar, a recuperação sem tratamento ocorreu principalmente em animais aos três dias de vida. Estes casos, somado aos casos de Padrão intersticial, mostraram que 11 bezerros apresentaram aumento de radiopacidade pulmonar nas avaliações entre 3 e 4 dias vida. É relatado como normal uma maior radiopacidade pulmonar em animais recém-nascidos uma vez que o pulmão ainda está na fase de maturação e apresenta uma maior quantidade de fluido remanescente da vida fetal (Fletcher *et al.*, 1970; Kutasi *et al.* 2009). Contudo, esse período é curto. Em potros saudáveis, esse padrão foi observado entre quatro e 12 horas após o nascimento (Kutasi *et al.* 2009) e em cordeiros, de uma a quatro horas de vida (Fletcher *et al.*, 1970). Em bovinos ainda não foram realizados trabalhos para determinar até quanto tempo após o nascimento isso é uma condição normal. Apesar de não terem sido realizados exames histopatológicos para confirmar a presença de um processo patológico, dos casos observados no estudo apenas dois bezerros foram positivos para doença pulmonar nos métodos clínicos e nove bezerros recuperaram sem tratamento, indicando que isso pode ser uma condição normal em bovinos. Além disso, três bezerros apresentaram áreas anecoicas/hipoecoicas >1cm na Ultrassonografia Pulmonar o que pode sugerir uma área de atelectasia que se tornou aerada posteriormente.

Já os casos de padrão alveolar após a primeira semana de vida foram relacionados a bezerras que passaram por pneumonia clínica, 63,2% (12/19) dos casos, e apresentaram alta correspondência as outras técnicas 100% (12/12) com a Ultrassonografia Pulmonar, 66,7% (8/12) a Auscultação Pulmonar, 66,7% (8/12) no Escore de Wisconsi e 58,3% (7/12) no Escore da CA. O padrão alveolar está relacionado a processo de infecções virais ou bacterianas graves (Lord, 1976; Farrow, 1999; Godoy *et al.*, 2007; Masseur *et al.*, 2008; Vervloet *et al.*, 2010) e por isso podem ser associados a lesões alveolares, sinais clínicos mais evidentes e baixas taxas de cura espontânea, contribuindo para maior correspondência entre as técnicas.

Entretanto, houve, em 19 avaliações positivas à Radiografia Torácica após a primeira semana de vida em que todas as outras técnicas foram negativas. Os casos foram principalmente do Padrão Intersticial (18/19) e como comentado anteriormente houve recuperação espontânea. Contudo, podem ter ocorrido casos falso-positivos na análise radiográfica, relacionadas à própria característica anatômica do bovino ou a técnica utilizada durante o experimento.

Os bovinos, quando comparados às outras espécies domésticas, apresentam o interstício pulmonar mais espesso, devido à presença de septos interlobulares (Breeze, 1988; Jackson e Cockcroft, 2002; Flock, 2004). Segundo Jackson e Cockcroft (2002) isso pode levar os bovinos apresentarem um interstício mais marcado ao exame radiológico em alguns casos, semelhante ao padrão intersticial em outras espécies, e com isso esse padrão pode ser pouco significativo de lesão pulmonar. Contudo, Masseur *et al.* 2008 observaram que na avaliação radiográfica de bovinos adultos houve uma sensibilidade de 64% e uma especificidade de 74% do Padrão Intersticial à Radiografia Torácica para detectar pneumonia intersticial quando comparado ao exame histopatológico *post mortem*. Assim, bovinos podem apresentar padrão intersticial devido à lesão pulmonar e também pode haver casos falsos positivos, no entanto não foi possível determinar a proporção em que isso ocorreu no presente estudo.

Outro motivo relacionado aos casos falso-positivos é o posicionamento radiológico latero-lateral esquerdo e direito. É relatada a ocorrência de atelectasia do pulmão referente ao decúbito lateral, devido à restrição da movimentação do tórax, compressão do pulmão pelo coração e da incursão cranial do diafragma, o que eleva a radiopacidade pulmonar por sobreposição, que pode ser interpretada como um padrão intersticial ou alveolar (Radostits *et al.*, 2007; Kutasi *et al.*, 2009; Thrall, 2013). Segundo Radostits *et al.* (2007), as atelectasias ocorrem em decúbito prolongado, >30 minutos, porém no presente estudo os animais não permaneceram mais que 5 minutos em decúbito durante a realização do exame. Para descartar essa possibilidade de erro na interpretação do posicionamento latero-lateral, Thrall (2013) recomenda a incidência na posição ventro-dorsal e/ou dorso-ventral para comparação das imagens e se nesses posicionamentos o pulmão estiver normal, provavelmente, foi uma alteração decorrente da técnica. Porém, esses posicionamentos não foram realizados no estudo devido ao maior estresse que seria provocado nos animais para colocados nos posicionamentos ventro-dorsal ou dorso-ventral e a dificuldade da técnica em ser realizada nos animais após 30 dias de vida.

Outro fato relacionado à técnica que poderia ter levado a alguma alteração da imagem foi a não padronização da distância entre o aparelho de Raios-x e o chassi. Com o aumento da distância a potência em que os raios-X atingem o paciente diminui e isso pode gerar imagens mais radiopacas (Thrall, 2013), já que o Kv foi padronizado. Quando isso ocorreu, as radiografias foram repetidas para evitar o mínimo de comprometimento das imagens.

5. 4 Nível de eficiência das técnicas considerando a Ultrassonografia Pulmonar como “padrão ouro” no diagnóstico da doença pulmonar

Nas avaliações à Ultrassonografia Pulmonar, 40 avaliações evidenciaram áreas pulmonares com consolidações maiores que um cm. As sensibilidades das outras técnicas para detectar essas lesões foram de 73% para Radiografia Torácica, 30% para Auscultação Pulmonar e 33% nos Escores de WI e da CA (Tabela 7).

Tabela 7: Sensibilidade (Se), Especificidade (Es), Valor Preditivo Positivo (VPP) e Negativo (VPN) da Radiografia Torácica, Auscultação Pulmonar, Escore WI e Escore CA comparadas aos casos positivos e negativos a Ultrassonografia Pulmonar, observados nas 237 avaliações realizadas em 39 bezerros, dos 3 aos 59 dias de vida.

		Ultrassonografia Pulmonar					
		Positivo	Negativo	Se	Es	VPP	VPN
Radiografia Torácica	Positivo	29	27	73%	86%	52%	94%
	Negativo	11	170				
	Total	40	181				
Auscultação Pulmonar	Positivo	12	11	30%	94%	52%	87%
	Negativo	28	186				
	Total	40	197				
Escore de WI	Positivo	13	15	33%	92%	46%	87%
	Negativo	27	182				
	Total	40	197				
Escore da CA	Positivo	13	16	33%	92%	45%	87%
	Negativo	27	181				
	Total	40	197				

A técnica mais sensível foi a Radiografia Torácica com 73%. Isso se deve a relação direta entre consolidação pulmonar à Ultrassonografia Pulmonar e aumento da Radiopacidade Pulmonar formando os Padrões Alveolares, que foram observados na Tabela 6 e mostrados na Tabela 8. Quanto maior a consolidação, maior foram a frequência de Padrão Alveolar. A menor especificidade da radiografia comparada aos outros métodos foi decorrente do número de Padrões Intersticiais à Radiografia Torácica, que ao contrário dos padrões alveolares, foram pouco correspondentes com consolidações e pouco detectados à Ultrassonografia Pulmonar, mostrado nas Tabelas 6 e 8. Jung e Bostedt (2004) observaram que áreas pulmonares consolidadas à Ultrassonografia Pulmonar foram correspondentes com as lesões na avaliação de Radiografia Torácica, que representou predomínio do Padrão Alveolar e em alguns casos, houveram Padrões Alveolar e Intersticial, com perda de visualização dos vasos pulmonares.

As avaliações à Ultrassonografia Pulmonar foram classificadas em Graus (0 a 5) de acordo com a intensidade da lesão e comparadas a correspondência desses com as outras técnicas de avaliação (Tabela 8).

Tabela 8 - Apresentação das 237 avaliações a Ultrassonografia Pulmonar divididas em Graus (0 a 5) e os respectivos casos que foram positivos nas técnicas de Radiografia Torácica, Auscultação Pulmonar, Escore de Wisconsin e Escore da Califórnia.

Ultrassom Grau	Radiografia torácica				Auscultação Pulmonar	Escore de WI	Escore da CA
	Total	PA	PI	PB			
0 (170)	11% (18)	2% (3)	9% (15)	0% (0)	4% (6)	7% (12)	8% (14)
1 (10)	40% (4)	10% (1)	30% (3)	0% (0)	10% (1)	10% (1)	10% (1)
2 (16)	31% (5)	6% (1)	25% (4)	0% (0)	25% (4)	13% (2)	6% (1)
3 (19)	79% (15)	47% (9)	6% (2)	27% (4)	16% (3)	26% (5)	21% (4)
4 (7)	14% (1)	14% (1)	0% (0)	0% (0)	29% (2)	14% (1)	29% (2)
5 (14)	93% (13)	86% (12)	7% (1)	0% (0)	50% (7)	50% (7)	50% (7)

Grau 0, pulmão sem alteração ou com poucas caudas de cometa; Grau 1, cauda de cometa incontáveis formando uma área homogênea; Grau 2, consolidação menor que 1 cm; Grau 3, consolidação entre 1 e 2 cm; Grau 4, consolidação entre 2 e 3 cm e Grau 5, consolidação maior que 3 cm.

PA- Padrão Alveolar; PI- Padrão Intersticial.

Ocorreu uma relação com o aumento do grau de consolidação pulmonar na Ultrassonografia Pulmonar, na ocorrência do Padrão Alveolar na Radiografia Torácica, pois no grau 3 47% das avaliações foi Padrão Alveolar e no grau 5 86% (Tabela 8). Contudo, nem todas as consolidações foram diagnosticadas à Radiografia Torácica. Para o grau 4 era esperado uma maior detecção do padrão alveolar comparado ao grau 3 porém essa foi menor. Isso pode ter ocorrido devido à localização da lesão, o tamanho da lesão e se essa era aguda ou crônica.

As sete avaliações no grau 4 foram de cinco bezerros, a única positiva foi do animal que tinha 3 dias de vida e recuperou-se posteriormente. As outras três avaliações foram de um bezerro que não foi tratado para pneumonia e foi negativo nos métodos clínicos durante as avaliações. Contudo, nas avaliações aos 3, 7 e 21 dias de vida apresentou padrão intersticial, e nas três últimas avaliações passou a ter consolidação grau 4 na região ventral da porção caudal do lobo pulmonar esquerdo próximo à borda cardíaca. Outras duas foram de 2 bezerros que passaram por tratamento para pneumonia e, posteriormente, apresentaram área de consolidação à Ultrassonografia Pulmonar.

Tudo isso, mostra que provavelmente consolidações pulmonares localizadas e crônicas em bezerros que passaram por tratamento de pneumonia ou apresentam uma área pulmonar consolidada, sem um processo infeccioso pulmonar ativo ou isolado nessa única área de consolidação, podem não ser detectadas à Radiografia Torácica. Outro fato é que ambos os bezerros apresentaram lesões na região pulmonar próximo ao coração e na região ventral do pulmão, um local de muito contraste e sobreposição cardíaca, que pode ter ocultado as lesões na imagem radiográfica. Nos estudos em pacientes humanos com doença pulmonar aguda a detecção de consolidação pulmonar à Ultrassonografia Pulmonar foi superior em comparação à Radiografia Torácica. Segundo Zanobetti *et al.* (2011), a ultrassonografia detectou 122 casos de consolidação contra 111 na radiografia em pacientes com suspeita de doença respiratória. Em outro trabalho Linchstent *et al.* (2014) observaram maior eficiência da ultrassonografia em detectar consolidação alveolar, comparada a Tomografia Computadorizada. De acordo com esses autores, a Ultrassonografia Pulmonar apresentou sensibilidade de 93% e especificidade de 100% e a Radiografia Torácica 68% e 95%, respectivamente, em pacientes com síndrome respiratória aguda.

Os métodos clínicos também apresentaram maior percentual de casos positivos nas lesões mais graves (Grau 5) identificada à Ultrassonografia Pulmonar. Contudo, ambos apresentaram baixa sensibilidade (30 a 33%) e isso pode ter ocorrido devido à presença de atelectasias que se apresentam como áreas anecoicas e não necessariamente significam um processo de pneumonia.

Neste estudo todas as áreas anecoicas/hipoecoicas à imagem ultrassonográfica foram consideradas como consolidação e isso pode ter levado a casos falso-positivos. Pagano *et al.* (2015) observaram seis casos falsos-positivos de consolidação de origem não inflamatória em pacientes humanos devido ao câncer, infarto e atelectasia. Em bovinos, os casos mais prováveis de falsos-positivos são as atelectasias, devido à baixa ventilação colateral e presença de septos interlobulares (Abutarbush *et al.*, 2012; Bukzinsk *et al.*, 2014). Para diferenciação, áreas consolidadas que são originadas num processo de pneumonia geralmente apresentam caráter anecoico heterogêneo com áreas hiperecogênicas (broncogramas aéreos) e as áreas com atelectasia são anecoicas e homogêneas (Streeter e Step, 2007; Babkine e Blond, 2009). Contudo, se essa diferença fosse adotada, como medida de diferenciação, poderiam diminuir os casos falso-positivos, mas provavelmente aumentaria os falso-negativos.

A sensibilidade da Auscultação Pulmonar pode ainda ter sido afetada pela característica do processo da consolidação ou da atelectasia, que correspondem a áreas do pulmão de pouca passagem ou ausência de passagem de ar em porções do parênquima pulmonar, que podem estar envolvendo áreas pulmonares maiores (Grau 5) ou pequenas áreas menores (Grau 3) e não alteram a sonoridade do ruído respiratório.

Por outro lado, tanto a Auscultação Pulmonar e os métodos de escore mostraram alta especificidade, ou seja, na presença de um quadro negativo a Ultrassonografia Pulmonar tem grande chance de serem negativos. Porém, os métodos clínicos apresentaram baixa sensibilidade, por falharem em detectar consolidações pulmonares que não foram acompanhadas de sinais clínicos.

A comparação da técnica de Ultrassonografia Pulmonar e métodos de exame clínico em bezerras é escassa na literatura e mostram variação entre sensibilidade e especificidade. Buczinski *et al.* (2014), após avaliação de 106 bezerras em aleitamento usando a Ultrassonografia Pulmonar com técnica semelhante à utilizada neste estudo, observaram baixa sensibilidade (5,9%) e alta especificidade média (98,93%) para a Auscultação Pulmonar quando havia consolidações pulmonares >1cm na Ultrassonografia Pulmonar. Os valores baixos de sensibilidade foram atribuídos à possível presença de quadros crônicos ou atelectasias pulmonares. A especificidade foi alta e maior que a do presente estudo (98,9% x 94,0%), provavelmente por não incluir o aumento do ruído respiratório como sinal de pneumonia, já que este pode ocorrer de forma inespecífica em casos de hipertermia e aumento da frequência respiratória.

Love *et al.* (2016) utilizando a técnica de ultrassonografia com transdutor linear e com a avaliação dos espaços intercostais mais craniais observaram uma sensibilidade da Auscultação Pulmonar superior (67%) e especificidade um pouco menor (88%). A alta sensibilidade observada por Love *et al.* (2016) pode ter sido decorrente da técnica Ultrassonográfica que envolveu a avaliação cranial do pulmão e essa detectou os casos agudos do processo pneumonia os quais são mais bem correlacionadas a sintomatologia clínica. Já a menor especificidade, pode ter sido decorrente da adoção do critério do elevado número de Caudas de Cometa como positivo à Ultrassonografia Pulmonar, que é sugerida por alguns autores como pouco significativa de doença respiratória em bovinos.

A avaliação clínica utilizando o método de Escores de WI e da CA mostraram uma sensibilidade e especificidade semelhante de 33% e 92%, respectivamente, em relação à técnica de

ultrassonografia. No estudo de Buczinski *et al.* (2014) e Francoz *et al.* (2015) foram observadas ao Escore de WI sensibilidades superiores, 55,4% e 57,0%, respectivamente. Contudo, uma especificidade bem inferior de 58,0% em ambos.

Love *et al.* 2016, utilizando como casos de doença pulmonar os bezerros positivos à Ultrassonografia Pulmonar e à Auscultação Pulmonar, observaram para o Escore de WI e da CA sensibilidade similares (46%) e especificidade (91,2%) no WI superior ao da CA (87,4%). Se o mesmo critério para casos positivos fosse utilizado no presente estudo, os resultados seriam similares, apesar de não terem sido avaliados os primeiros espaços intercostais e a utilização de Caudas de Cometa como casos positivos.

Ollivett e Buczinski (2016) sugerem a utilização conjunta dos resultados da ultrassonografia e do Escore de WI para inferir sobre o estado de doença respiratória de bovinos. Quando apenas o Escore WI é positivo se trata de doença do sistema respiratório superior, quando apenas o Ultrassom Pulmonar é positivo é pneumonia subclínica e quando ambos são positivos é pneumonia clínica. Se esse critério fosse adotado nesse estudo, 56%(15/27) dos casos positivos no Escore WI seriam doença respiratória superior, 33%(13/40) dos casos positivos a Ultrassonografia Pulmonar pneumonia clínica e 67%(27/40) pneumonia subclínica.

Apesar de poucos trabalhos publicados comparando ultrassonografia a métodos de diagnóstico clínico, assim como no presente estudo, os métodos clínicos tendem a ter uma menor sensibilidade e uma maior especificidade. Assim, esses podem ser utilizados para determinar o estado da consolidação pulmonar observada à Ultrassonografia. Se a doença for aguda, possivelmente será positiva nos métodos clínicos e se for crônica ou se tratar de uma atelectasia, possivelmente será negativa (Francoz *et al.* 2015; Love *et al.* 2016; Ollivett e Buczinski, 2016).

5. 5 Casos de pneumonia clínica comparados quanto a sua identificação nas técnicas de avaliação

Os parâmetros para estabelecer um quadro clínico de pneumonia foram à presença de estertor pulmonar, febre, redução de consumo de alimento, aumento da frequência respiratória e alteração de comportamento. Assim, ocorreram 11 casos de pneumonia clínica, observados em 10 bezerros ao longo do estudo.

Desses casos, na Ultrassonografia Pulmonar, oito apresentaram Grau 5, os outros Graus 4, 3 e 0, respectivamente. Na Radiografia Torácica, nove animais apresentaram Padrão Alveolar e dois foram negativos. Além disso, todos foram positivos nos Escores de WI e da CA (Tabela 9).

Tabela 9 - Avaliação dos casos de pneumonia clínica em bezerros anterior e posterior ao tratamento: Ultrassonografia Pulmonar (UL), Radiografia Torácica (RX), Auscultação Pulmonar (AU), Escore Respiratório de Wisconsi (WI) e Escore Respiratório da Califórnia (CA).

Casos	Avaliação anterior com exame físico e imagem					Diagnóstico da pneumonia clínica					Primeira avaliação posterior com exame físico e imagem				
	UL	RX	AU	WI	CA	UL	RX	AU	WI	CA	UL	RX	AU	WI	CA
B1	n	n	n	n	n	P	n	p	p	p	n	n	n	n	n
B10	n	n	n	n	n	P	p	p	p	p	óbito				
B16	p	p	n	n	n	P	p	p	p	p	p	p	n	n	n
B17	n	n	n	n	n	P	p	p	p	p	n	n	n	n	n
B19	p	p	n	n	n	P	p	p	p	p	p	p	n	n	n
B28	n	n	n	n	n	P	p	p	p	p	óbito				
B30	n	n	n	n	n	n	n	p	p	p	n	n	n	n	n
B33	p	p	n	p	p	P	p	p	p	p	p	p	n	n	n
B38	n	n	n	n	n	P	p	p	p	p	n	n	n	n	n
B39	n	n	n	n	n	P	p	p	p	p	n	n	n	n	n
B39	n	n	n	n	n	P	p	p	p	p	p	n	n	n	n

n-negativo/p-positivo

Todas as técnicas apresentaram alta capacidade de diagnosticar os quadros clínicos de pneumonia. Em três casos a imagem mostrou ser positiva antes do quadro clínico de pneumonia, em duas destas aos sete dias e uma aos três dias antes, mostrando que a imagem pode alterar mais precocemente comparada aos outros métodos.

Contudo analisando em conjunto os exames de Escore Clínico de WI e da CA e Auscultação Pulmonar, que foram realizados diariamente, na semana anterior ao diagnóstico do caso clínico, mostrado na Tabela 10, o Escore de WI já havia se mostrado alterado em sete animais, o Escore da CA em quatro e a Auscultação Pulmonar em cinco bezerros. Como os exames de imagem foram pontuais e os físicos diários não foi possível estabelecer qual foi o mais precoce.

Tabela 10 - Resultado dos exames de Auscultação Pulmonar (AU), Escore de Wisconsin (WI) e Escore da Califórnia (CA), até 7 dias antes do diagnóstico dos 11 casos de pneumonia clínica em bezerros avaliados no período de três aos 59 dias de vida.

Dias anteriores ao diagnóstico/tratamento																		Casos de pneumonia clínica				
-7			-6			-5			-4			-3			-2				-1			
AU	WI	CA	AU	WI	CA	AU	WI	CA	AU	WI	CA	AU	WI	CA	AU	WI	CA	AU	WI	CA		
n	p	p	n	n	n	n	p	p	n	p	p	n	n	n	n	p	p	p	p	p	B33	
n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	p	p	n	p	p	n	p	p	p	p	p	B39	
n	n	n	n	p	p	n	p	p	n	n	p	n	p	p	n	n	p	n	n	p	B19	
n	n	p	n	n	p	p	n	n	p	n	n	p	n	n	p	n	n	p	p	p	p	B16
n	n	n	n	p	n	n	p	p	p	n	n	n	p	n	n	p	n	p	p	n	B1	
n	n	n	n	n	n	n	p	p	n	n	n	n	n	n	p	n	n	n	p	n	B38	
p	n	n	n	n	n	n	n	n	p	n	n	p	n	n	p	n	n	n	n	n	B10	
n	n	n	n	n	n	n	n	n	p	n	n	n	n	n	p	n	n	n	n	n	B28	
n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	p	n	n	n	n	B30	
n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	B17	
n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	B39	

n-negativo/p-positivo

Em cinco casos os bezerros mostraram recuperação, negativos em todas as técnicas de avaliação após o tratamento para pneumonia clínica, em avaliações realizadas em um com três dias, em três com sete dias e outro com 15 dias após o tratamento. Um caso foi positivo apenas nas técnicas de imagem na avaliação seguinte com sete dias e depois negativo na avaliação com 15 dias após o tratamento. As lesões estabelecidas como crônicas, bezerros negativos nos exames clínicos e positivos na imagem em avaliações seguidas, foram observadas em três bezerros.

Assim, bezerros após tratamento para pneumonia podem apresentar lesões pulmonares aos exames de imagem, as quais podem recuperar ou ficarem crônicas, e nos dois casos os sinais clínicos podem não estar presentes. Exames radiográficos mostram que frequentemente bovinos se recuperam das lesões pulmonares, contudo a recuperação é gradual e são necessárias semanas para a recuperação e os sinais radiográficos podem persistir mesmo após o desaparecimento dos sinais clínicos (Farrow, 1999; Radostits *et al.*, 2007). Ollivett (2014), ao acompanhar a evolução de quadros de pneumonia induzida por *M. haemolytica* em bezerros até cinco dias, observou redução no número de consolidações pulmonares com o tempo assim como o número de animais positivos no Escore de WI.

Dos três bezerros tratados que foram a óbito, um passou por um novo exame e a imagem mostrou que a área pulmonar afetada havia aumentado. No dia do diagnóstico os exames de imagem trouxeram mais informações sobre o prognóstico do animal, mostrando a extensão da área pulmonar comprometida e informações sobre recuperação do bezerro. Isto é relatado ao exame de Ultrassonografia Pulmonar (Braun *et al.*, 1997; Rabeling *et al.*, 1998; Reinhold *et al.*, 2002; Flock, 2004; Gouda, 2015; Adams e Buczinski, 2016).

5. 6 Parâmetros clínicos e laboratoriais no diagnóstico da doença respiratória

Na Figura 8 está representada a distribuição da temperatura retal e frequência respiratória média dos bezerros 10 dias antes e 10 dias após o tratamento para pneumonia. A temperatura média no dia do tratamento/diagnóstico foi 40,0°C (min.39,4/máx.40,9) e a frequência respiratória 52 mrpm (min.24/máx.80). Considerando valores de temperatura fisiológicos 38,5 a 39,4 °C e frequência respiratória 30 a 45 mrpm segundo Dirksen *et al.* (1993), nove bezerros apresentaram hipertermia e nove taquipneia. Em casos agudos de pneumonia são observadas temperaturas entre 39,5 e 42°C e frequência respiratória de 46 a 100 mrpm (Coutinho, 2004; Divers e Peek, 2008; Ollivetti, 2014).

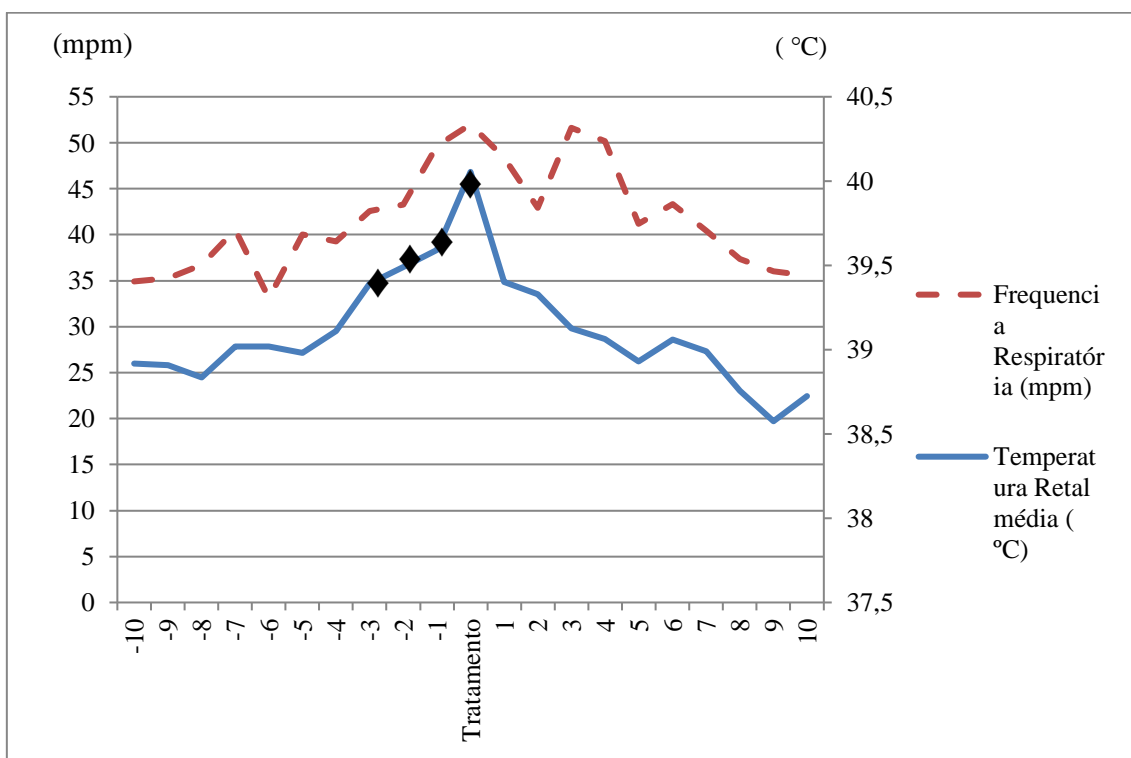


Figura 8 - Distribuição das médias de temperatura retal e frequência respiratória, 10 dias antes e 10 dias após o tratamento para pneumonia clínica.

*Os ♦ na linha indicam os momentos em que os valores médios passaram a ser diferentes ($p < 0,05$).

Apenas a temperatura retal apresentou diferença significativa entre os tempos, os momentos três, dois, um e no dia do tratamento/diagnóstico foram diferentes das outras médias ($p < 0,05$). Assim, o monitoramento da temperatura dos animais pode ser uma ferramenta mais útil no diagnóstico da pneumonia que a frequência respiratória. No monitoramento das pneumonias, bezerros que apresentam temperaturas superiores a 39,4°C por dois dias consecutivos são suspeitos segundo McGuirk (2009) e quando o tratamento é baseado na temperatura retal em animais confinados

Smith (1988) considera temperatura de corte de 40,3°C para bovinos adultos confinados e 39,7°C para bezerras.

A temperatura média dos bezerras positivos em todas as avaliações por técnica, também foram maiores que quando comparadas aos casos negativos na respectiva técnica de avaliação (Tabela 11), mostrando que a temperatura é um parâmetro importante na avaliação de doença pulmonar.

Tabela 11 - Valores médios de Fibrinogênio, Leucócitos Totais, Frequência Cardíaca, Frequência Respiratória e Temperatura Retal, dos casos positivo e negativos a avaliação de Ultrassonografia Pulmonar, Radiografia Torácica, Auscultação Pulmonar, Escore de Wisconsin e Escore da Califórnia, idade entre 3 e 59 dias de vida.

Técnica	Resultado	Fibrinogênio (mg/dl)	Leucócitos totais ($\times 10^3 \mu\text{L}$)	Frequência Cardíaca (bpm)	Frequência respiratória (mrpm)	Temperatura retal (°C)
Ultrassonografia Pulmonar	Positivo (n 40)	510 ^A	13,04 ^A	107,1 ^A	46,15 ^A	39,27 ^A
	Negativo (195)	435 ^A	11,17 ^A	103,36 ^A	44,35 ^A	38,93 ^B
Radiografia Torácica	Positivo (n 56)	446,6 ^A	11,91 ^A	104,8 ^A	46,73 ^A	39,15 ^A
	Negativo (180)	448,07 ^A	11,35 ^A	103,75 ^A	44,02 ^A	38,93 ^B
Auscultação Pulmonar	Positivo (n 23)	634,8 ^A	11,91 ^A	110,09 ^A	54,35 ^A	39,93 ^A
	Negativo (n 212)	427,6 ^A	11,44 ^A	103,33 ^A	43,6 ^B	38,89 ^B
Escore de WI	Positivo (n 28)	550,0 ^A	11,99 ^A	108,79 ^A	48,07 ^A	39,69 ^A
	Negativo (n 207)	434,0 ^A	11,42 ^A	103,35 ^A	44,2 ^A	38,89 ^B
Escore da CA	Positivo (n 29)	620,7 ^A	12,12 ^A	107,79 ^A	48,9 ^A	39,59 ^A
	Negativo (n 206)	423,56 ^B	11,4 ^A	103,46 ^A	44,06 ^A	38,9 ^B

Letras diferentes na coluna significam diferença estatística entre as medias em cada técnica de avaliação ($p < 0,05$).

Contudo se fosse utilizado um ponto de corte de febre 39,4°C para doença pulmonar, apenas 30,0% (12/40) dos casos positivos à ultrassonografia apresentaram febre e 23,21% (13/56) a Radiografia Torácica. Nos exames físicos a ocorrência de hipertermia foi superior: 52,17% (12/23) na Auscultação Pulmonar, 53,57% (15/28) no Escore de WI e 44,82% (13/29) no Escore da CA.

A presença de hipertermia possui relação direta com métodos clínicos, pois na presença dela ocorre aumento da frequência respiratória e assim o ruído respiratório e ainda faz parte dos parâmetros dos métodos de escore. Nos métodos de imagem foi visto que alterações pulmonares podem ocorrer sem a presença de hipertermia, nos casos de lesões crônicas ou ocasionais que se resolveram sem tratamento.

Trabalhos na literatura observaram a relação da hipertermia em casos agudos e crônicos de pneumonia. Ollivett (2014) observou que após indução de pneumonia por *M. haemolytica* em bezerros, as manifestações clínicas ao Escore de WI ocorreram após duas horas, a febre ($>39,4^{\circ}\text{C}$) com 12 horas, porém após 24 horas os sinais clínicos não eram tão presentes, demonstrando uma aparente capacidade dos animais em lidarem com o desafio endotóxico inicial. Contudo, a resolução das lesões pulmonares observadas à ultrassonografia, que já estavam presentes nas primeiras duas horas de inoculação, permaneceram até o quinto e último dia de avaliação. Scott (2013), ao avaliar vacas com pneumonia supurativa crônica que haviam sido tratadas, com antibioticoterapia há duas semanas, apresentaram lesões pulmonares na Ultrassonografia Pulmonar e na maioria dos casos a presença de febre não foi observada. Em bezerros com broncopneumonia moderada e grave a presença de febre mostrou-se inconstante ao diagnóstico clínico (Gonçalves, 2001).

Assim a utilização da temperatura retal pode ser mais eficiente se utilizada diariamente no monitoramento da saúde de bezerros, pois se mostrou elevada dias antes e no momento do diagnóstico de doença pulmonar clínica no estudo. Contudo, a utilização da temperatura pode ser pouco específica para doença pulmonar, pois foram observados que 39, 40% (13/33) dos casos de hipertermia ($>39,4^{\circ}\text{C}$) não foram positivos em nenhuma das técnicas de avaliação para pneumonia, mas apresentaram outras enfermidades como diarreia, onfalite e anaplasnose bovina. Mostrando que além do uso diário deve ser associada aos outros métodos de diagnóstico específicos.

Durante o experimento cinco animais foram diagnosticados/tratados para Anaplasnose e dois apresentaram sinais clínicos semelhantes a quadro agudo de pneumonia, com estertor pulmonar, febre, mudança de comportamento, aumento da frequência respiratória, aumento do ruído respiratório e um foi positivo no Escore WI e no Escore CA. Os exames de imagem não mostraram alterações pulmonares em nenhum dos animais e a *Anaplasma marginale* foi identificado ao exame complementar de esfregaço de ponta de cauda. A sintomatologia semelhante pode ser um desafio para diferenciação das duas doenças. Segundo Coelho (2007), bezerros com anaplasnose apresentam aumento da temperatura retal e aumento da frequência respiratória anteriores ao sinal de descoloração de mucosas, sendo este um parâmetro muito utilizado para diagnóstico a campo, porém observado no quadro tardio da doença e os casos agudos podem ser confundidos com os de pneumonia.

O comportamento das médias de temperatura retal e de frequência respiratória foram semelhantes (Figura 6) e apresentou correlação positiva de $\rho = 0,73$ ($p > 0,05$) na análise de correlação de *Pearson*, valor considerado como correlação forte segundo Moore (2005). Essa relação possivelmente devido ao aumento da frequência respiratória ser um mecanismo importante de perda de calor interno em bovinos (Radostits *et al.*, 2007). A Tabela 11 mostra que os animais positivos à Auscultação Pulmonar apresentavam maiores frequências respiratórias, provavelmente devido à relação direta entre o aumento do ruído respiratório e aumento da frequência respiratória.

Os outros parâmetros observados no dia do diagnóstico dos 11 casos clínicos de pneumonia foram o Fibrinogênio médio de 680mg/dL (mín. 200/máx. 1000), Leucócitos Totais $14,6 \times 10^3 \mu\text{L}$ (mín. 11,7/máx.19,8) e Frequência Cardíaca de 110bpm (mín.96/máx.140). Os valores médios de Fibrinogênio e Leucócitos Totais foram superiores ao padrão de normalidade proposto por Smith (1996) que é de 200 a 500 mg/dL e 4000 a $12000 \times 10^3 \mu\text{L}$. Contudo se analisados individualmente alguns animais apresentaram valores dentro dos parâmetros de normalidade. Além disso, não

houve diferença estatística ($p > 0,05$) entre os casos positivos e negativos por técnica (Tabela 11), sugerindo que esses parâmetros são de pouco valor no diagnóstico para doença pulmonar.

5.7 Avaliação *post mortem* e sua relação com as técnicas de diagnóstico

Durante o experimento oito animais foram a óbito (Tabela 12). Destes, três bezerros, B8, B35 e B32 não foram positivos nas técnicas de imagem e nos métodos clínicos na última avaliação antes do óbito e não apresentaram lesões macroscópicas no exame pulmonar *post mortem*. O B8 e B35 apresentaram tecido pulmonar normal ao exame histopatológico e o B32 apresentou congestão pulmonar.

Tabela 12 - Resultado da avaliação de Auscultação Pulmonar (AU), Escore de WI (EWI), Escore da CA (ECA), Ultrassonografia Pulmonar (UL) e Radiografia Torácica (RX) de oito bezerros anterior ao óbito.

Bezerro	Resultado da última avaliação anterior ao óbito					Dias até o óbito
	AU	WI	CA	UL	RX	
B8	n	n	n	n	n	2
B10	p	p	p	p	p	4
B19	p	p	p	p	p	1
B22	n	n	n	p	p	3
B27	p	n	n	n	p	2
B28	p	p	p	p	p	1
B32	n	n	n	n	n	6
B35	n	n	n	n	n	2

n-negativo/p-positivo

O bezerro B27 apresentou padrão intersticial à Radiografia Torácica e foi positivo na Auscultação Pulmonar com aumento do ruído respiratório na última avaliação. No exame macroscópico, durante a necropsia, não foram observadas alterações pulmonares. Contudo, o bezerro apresentou uma alteração cardíaca congênita e provavelmente o padrão intersticial observado ao exame radiográfico foi decorrente de alterações circulatórias. No exame histopatológico foi observado um quadro de congestão pulmonar.

O bezerro B22 apresentou Padrão Alveolar à Radiografia Torácica e áreas de consolidações grau 2 na região dorsal da porção caudal do lobo pulmonar esquerdo no exame de Ultrassonografia Pulmonar. A lesão à Ultrassonografia foi correspondente a uma pequena área firme e consolidada na superfície pulmonar durante a necropsia. Esse animal apresentou um quadro de uraquite purulenta e cistite que provavelmente levou um quadro clínico de sepse e conseqüente alterações pulmonares observadas nos exames de imagem e no exame histopatológico que mostrou um tecido pulmonar congesto compatível com congestão pulmonar intersticial. Em potros recém-nascidos, Kutasi *et al.* (2009) observaram que animais com infecção umbilical e com sinais clínicos de sepse, apresentaram Padrão Alveolar até três dias de vida quando vieram a óbito.

Os bezerros B10, B19 e B28 foram animais que morreram devido a complicações pulmonares e todos foram positivos em todas as técnicas na última avaliação *ante mortem* (Tabela 12). O B10 foi a óbito quatro dias após a última avaliação, com isso as lesões macroscópicas foram mais extensas às observadas no exame ultrassonográfico provavelmente devido à evolução do quadro. Ambos os três casos apresentaram broncopneumonia supurada avaliada ao exame histopatológico.

O bezerro B28 e B19 (Figura 9) apresentaram lesões macroscópicas similares aos locais de consolidação avaliados à Ultrassonografia Pulmonar e com padrão alveolar a Radiografia Torácica. Contudo as lesões que se estendem à porção cranial do lobo cranial esquerdo e direito não foram diagnosticadas a Ultrassonografia Pulmonar, fato também observado no B10. Essas áreas não foram avaliadas à ultrassonografia, mostrando a importância da sua avaliação por serem áreas envolvidas no início do processo de pneumonia como discutido anteriormente (Ollivett, 2014; Ollivett e Buczinsk 2016).

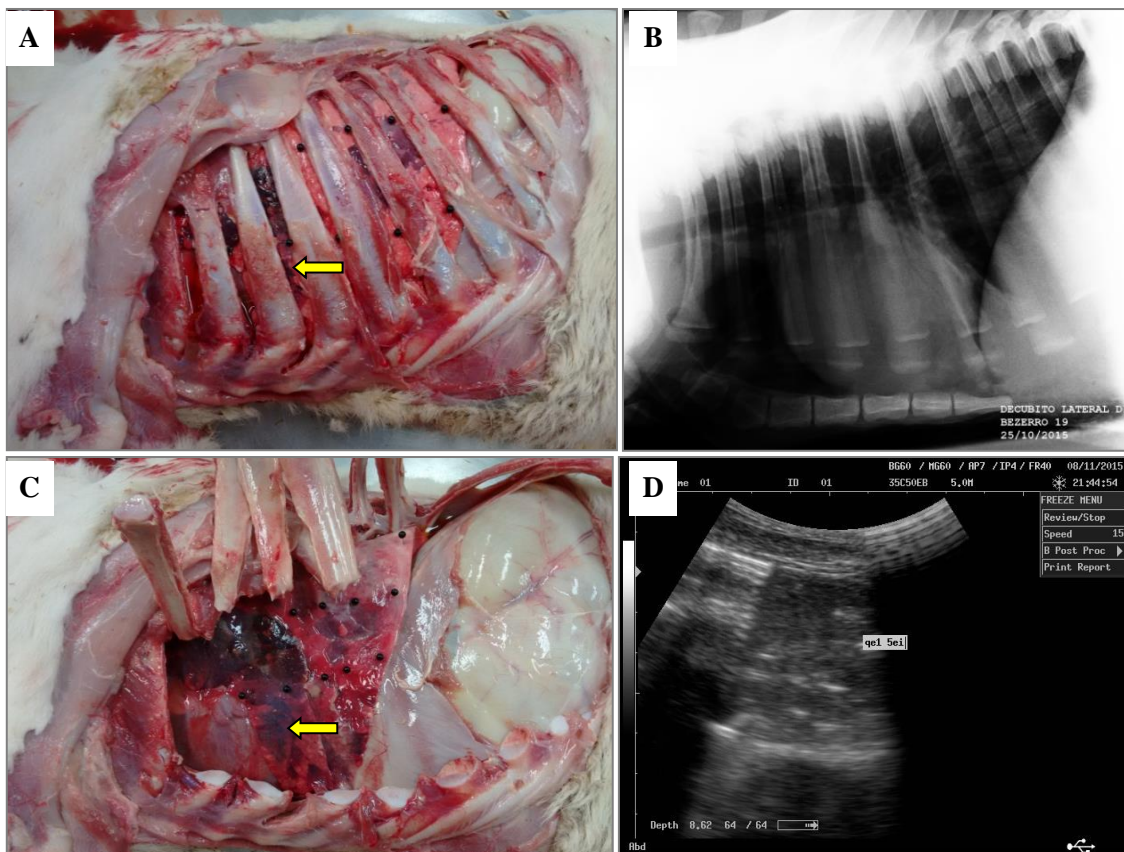


Figura 9- Necropsia do bezerro B19. A- Dissecção da musculatura para visualização da área examinável a ultrassonografia; B - Imagem radiográfica pulmonar apresentando alta radiopacidade pulmonar; C - Retirada das costelas e visualização das lesões pulmonares sobre todo lobo pulmonar cranial esquerdo e parte do caudal; D - Imagem Ultrassonografia Pulmonar, mostrando grande porção de pulmão consolidado, o local correspondente à imagem está indicado pela seta na figura C e D.

Neste estudo as técnicas apresentaram eficiência semelhante em identificar bezerros com lesões pulmonares *ante mortem*. Contudo, principalmente nos três casos de pneumonia a imagem foi superior em determinar a gravidade do quadro, pela observação da extensão das lesões comparada aos métodos clínicos.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os problemas respiratórios são frequentes e impactam negativamente a saúde dos bezerros. A associação de diferentes fatores de risco e as manifestações clínicas variáveis dificultam o diagnóstico e o monitoramento dessa doença.

Para o diagnóstico da doença pulmonar em bezerros todas as técnicas utilizadas no estudo foram úteis, contudo as particularidades das lesões, local, extensão e tempo de desenvolvimento (aguda ou crônica) podem interferir na eficiência dos métodos. Isso deixa claro pela necessidade de alterações clínicas para o diagnóstico nos métodos de Auscultação Pulmonar e de Escores ao passo que Radiografia Torácica e a Ultrassonografia Pulmonar foram capazes de identificar alterações pulmonares em animais assintomáticos.

Os métodos de imagem, além de ferramentas para diagnóstico podem indicar o prognóstico da doença pulmonar. Ao utilizá-los para análise de situação e monitoramento da doença pulmonar nos sistemas de produção de bovinos, permite identificar as lesões pulmonares em casos clínicos e subclínicos, ao mesmo tempo em que é possível fazer uma inferência sobre a proporção de animais doentes, indicar a eficiência dos protocolos de tratamento e do diagnóstico e avaliar o efeito das medidas de controle utilizadas.

Entre os dois métodos de imagem utilizados no estudo, a Ultrassonografia Pulmonar se destaca por ser uma ferramenta difundida para avaliação e procedimentos veterinários relacionados ao sistema reprodutivo. Desta forma, o uso pode ser ampliado para avaliação da doença pulmonar em bezerros, pois o Médico Veterinário habituado a operar o Ultrassom não enfrentará dificuldades com a máquina e o exame informa o resultado em tempo real sem exposição à radiação.

As necropsias realizadas durante o estudo permitiram avaliar a eficiência dos métodos em prever a doença pulmonar e identificar alterações patológicas que podem estar associadas. Os métodos de imagem conseguiram informar sobre a localização e gravidade das lesões confirmadas com as necropsias, com informações mais precisas que os métodos clínicos.

Os parâmetros de comportamento não fizeram parte da metodologia do estudo, porém o acompanhamento diário dos animais durante o estudo, permitiu a percepção das mudanças quando os mesmos estavam doentes, reduziram consumo de concentrado, precisaram de mais tempo para ingerir a mesma quantidade de leite que os saudáveis. Assim, estudos com associação de parâmetros de comportamento às técnicas de diagnóstico podem auxiliar no diagnóstico das doenças respiratórias.

Apesar das informações obtidas sobre as técnicas utilizadas, suas particularidades e indicações, são necessários maiores esforços em pesquisas para esclarecer como essas técnicas podem ser utilizadas e associadas no diagnóstico e monitoramento da doença pulmonar a campo. As interpretações dos resultados das técnicas devem estar associadas ao claro entendimento dos aspectos anatomofisiológicos do sistema respiratório dos bovinos e dos fatores de risco presentes que podem aumentar o desafio e reduzir a resistência dos animais no desenvolvimento da doença pulmonar.

7. CONCLUSÕES

- ✓ A frequência de animais diagnosticados com doença pulmonar durante o estudo foi alta.

- ✓ A concordância entre métodos de imagem foi moderada e entre métodos clínicos variou de moderada a substancial. Contudo, entre métodos clínicos e de imagem foram fracas a leves devido à capacidade da imagem identificar lesões assintomáticas.
- ✓ Considerando a Radiografia Torácica como “padrão ouro”, a sensibilidade das técnicas foram baixas devido a presença dos Padrões Intersticiais que eram assintomáticos e pouco detectados à Ultrassonografia Pulmonar, porém essa apresentou melhor sensibilidade devido sua alta correspondência com os padrões Alveolares. Já a especificidade foi alta e semelhante entre as técnicas.
- ✓ Considerando a Ultrassonografia Pulmonar como “padrão ouro” a sensibilidade foi alta à Radiografia Torácica e baixa entre métodos clínicos. Quanto maior a área de consolidação maior a frequência de padrão alveolar a Radiografia Torácica e de casos positivos nos métodos clínicos.
- ✓ Todas as técnicas apresentaram alta capacidade de diagnóstico da pneumonia clínica. Entre os parâmetros clínicos a temperatura retal, apesar de pouco específica, apresentou-se como uma ferramenta auxiliar importante no diagnóstico da doença pulmonar, principalmente, se for avaliada diariamente.
- ✓ Com relação ao exame *pos mortem*, as técnicas de imagem foram superiores em determinar a gravidade das lesões.
- ✓ Todas as técnicas foram úteis no diagnóstico da doença pulmonar e cada uma apresentou particularidades que as tornaram menos ou mais eficientes em decorrência da fase de desenvolvimento da doença respiratória. Assim, no diagnóstico da doença pulmonar, deve ser feita a associação das técnicas de imagem e clínicas.

8. REFERÊNCIAS

ABPA- Associação brasileira de proteína animal-Acesso em: <http://www.abpa-br.org/> Acessado do em:05/10/2016

ABUTARBUSH, S. M.; POLLOCK, C. M.; WILDMAN, B. K *et al.* Evaluation of the diagnostic and prognostic utility of ultrasonography at first diagnosis of presumptive bovine respiratory disease. *Can J Vet Res*, v. 76, p. 23–32, 2012.

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

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

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

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

BABKINE, M.; BLOND, L. Ultrasonography of the bovine respiratory system and its practical

- application. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.*, v. 25, n. 3, p. 633–649, 2009.
- BASKERVILLE, A. Mechanisms of infection in the respiratory tract. *N. Z. Vet. J.*, v. 29, n. 12, p. 235–238, 1981.
- BIRGEL, E. H. Patologia clínica veterinária. In: BIRGEL, E. H.; LARSSON, M.H.M.A.; HAGIWARA, M.K.; VASCONCELOS, S.A.; LARSSON, C.E.; BENESI, F. Patologia Clínica Veterinária. São Paulo: Sociedade Paulista de Medicina Veterinária., p. 2-45, 1982.
- BLOND, L.; BUCZINSKI, S. Basis of Ultrasound Imaging and the Main Artifacts in Bovine Medicine. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.*, v. 25, n. 3, p. 553–565, 2009.
- BORDERAS, T., A. DE PASSILLÉ, A.; RUSHEN, J. Behavior of dairy calves after a low dose of bacterial endotoxin. *J. Anim. Sci.* v. 86, p.2920-2927, 2008.
- BRAUN, U.; PUSTERLA, N.; FLÜCKIGER, M. Ultrasonographic findings in cattle with pleuropneumonia. *Vet. Rec.*, v. 141, n. 1, p. 12–7, 1997.
- BREEZE, R. Structure, function, and metabolism in the lung. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.*, v. 1, n. 2, p. 219–235, 1985.
- BUCZINSKI, S.; FORTÉ, G.; FRANCOZ, D. *et al.*. Comparison of thoracic auscultation, clinical score, and ultrasonography as indicators of bovine respiratory disease in preweaned dairy calves. *J. Vet. Intern. Med.*, v. 28, n. 1, p. 234–242, 2014.
- BUCZINSKI, S.; L OLLIVETT, T.; DENDUKURI, N. Bayesian estimation of the accuracy of the calf respiratory scoring chart and ultrasonography for the diagnosis of bovine respiratory disease in pre-weaned dairy calves. *Prev. Vet. Med.*, v. 119, n. 3–4, p. 227–231, 2015.
- CALLAN, R. J.; GARRY, F. B. Biosecurity and bovine respiratory disease. *Vet. Clin. Food Anim.*, v. 18, n. January 2015, p. 57–77, 2002.
- CARLSON, G. P. E; BRUSS, M. Fluid, electrolyte and acid-base balance, p.529-559. In: Kaneko J.J. Ed. *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*. 6^a ed. Academic Press, San Diego, 2008.
- CARPENTER, G. A. Dust in Livestock Buildings-Review of Some Aspects . *J. agric. Engng Res.*, v. 33,p. 227-24, 1986.
- CARVALHO, J. G. *Influência do volume de sucedâneo ingerido e do tratamento com antibiótico e anti-inflamatório sobre o perfil bioquímico, eletrolítico e a etiologia da diarreia em bezerros*. 2013. 92f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.
- CHO, Y.; YOON, K. Science An overview of calf diarrhea - infectious etiology , diagnosis , and intervention. *J. Vet. Sci.*, v. 15, n. 1, p. 1–17, 2014.
- CNA- Balanço 2014 perspectiva 2015. Acesso em: <http://www.canaldoprodutor.com.br/> Acessado em: 05/04/2016.

COELHO, L.C.T. *Anaplasmosse bovina: parâmetros clínicos e de patologia clínica em bezerros infectados experimentalmente*. 2007. 65f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

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

COHEN, J. A coefficient of agreement for nominal scales. *Educ. Psychol. Meas.* v. 20, p.37-46, 1960.

COUTINHO, A. S. Complexo das doenças respiratórias de bezerros. *II Simpósio Mineiro de Buiatria*, p. 1–19, 2005.

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 nasofaríngeano*. Tese (Doutor em Medicina Veterinária) -Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Botucatu, São Paulo , p. 186, 2004.

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

DOHOO, I.; MARTIN, W.; STRYHN, H. *Veterinary Epidemiologic Research*. AVC Inc., Charlottetown, Prince Edward Island, Canada, p. 114, 2003.

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

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

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

DIVERS, T. J.; PEEK, S. F. *Rebhun's diseases of dairy cattle*. Ed. 2, Saunders Elsevier.p.80-115, 2008.

DONOVAN, G. A.; DOHOO, I. R.; MONTGOMERY, D. M. *et al.* Calf and disease factors affecting growth in female Holstein calves in Florida, USA. *Prev. Vet. Med.*,v. 33, p.1-10, 1998.

DRACKLEY, J. K. Calf nutrition from birth to breeding. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.*, v. 24, n. 1, p. 55–86, 2008.

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

DYCE, J.M.; WENSING,C. J. G.; SACK, W. O. *Tratado de anatomia veterinária*. 4.ed. Rio de Janeiro: Elsevier. 2010. 856p

- FARROW, C. S. Bovine pneumonia. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.*, v. 15, n. 2, p. 301–358, 1999.
- FIDLER, A. P.; VANDEVENDER, K. Heat stress in dairy cattle. Division of Agriculture Research and Extension University of Arkansas System Agriculture and Natural Resources, 2011.
- FLETCHER, B. D.; SACHS, B. F.; KOTAS, R. V. Radiologic demonstration of postnatal liquid in the lung of newborn lambs. *Pediatrics*, v. 46, p. 252–258, 1970.
- FLÖCK, M. Diagnostic ultrasonography in cattle with thoracic disease. *Vet. J.*, v. 167, n. 3, p. 272–280, 2004.
- FRANCOZ, D.; BUCZINSKI, S.; BÉLANGER, A. M. *et al.* Respiratory pathogens in quebec dairy calves and their relationship with clinical status, lung consolidation, and average daily gain. *J. Vet. Intern. Med.*, v. 29, n. 1, p. 381–387, 2015.
- FRANQUET, T. Imaging of pneumonia: Trends and algorithms. *Eur. Respir. J.*, v. 18, n. 1, p. 196–208, 2001.
- GAETA, N. C.; LIMA, S. F.; TEIXEIRA, A. G. *et al.* Deciphering upper respiratory tract microbiota complexity in healthy calves and calves that develop respiratory disease using shotgun metagenomics. *J. Dairy Sci.*, p. 1–14, 2017.
- GAGEA, M. I.; BATEMAN, K. G.; VAN DREUMEL, T. *et al.* Diseases and pathogens associated with mortality in Ontario beef feedlots. *J. Vet. Diagn. Invest.* v. 18, p.18-28, 2006.
- GODOY, C. L. B.; PELLEGRINI, L. C.; SANTAROSA, I. M. *et al.* Medicina veterinária. Caderno didático, Santa Maria : Ed. da Universidade Federal de Santa Maria, p. 130, 2007.
- GONÇALVES, R. C. O sistema respiratório na sanidade de bezerros. *Ciênc. anim. bras.*, v. 1, p. 1–18, 2009.
- GONÇALVES, R. C.; KUCHEMUCK, M. R. G.; CURI, P. R. *et al.* . Diferenciação Clínica da Broncopneumonia Moderada e Grave em Bezerros. *Cienc. Rural*, v. 31, n. 2, p. 263–269, 2001.
- GONÇALVES, R. C.; LISBÔA, J. A. N.; SOUSA, M. V. *et al.* Aspectos clínicos e epidemiológicos da broncopneumonia dos bezerros em Botucatu, SP. *Ver. Bras. de Cienc. Vet.* , v. 7, n. 3, p. 144–147, 2000.
- GONÇALVES, R.C. e BARIONI, G. Exame clínico do aparelho respiratório de bezerros. *Rev. Educ. Cont. CRMV-SP.* v. 3, p. 4 - 13, 2000.
- GONÇALVES, R.C. *Semiologia do sistema respiratório.* In: FEITOSA, F.L.F. *Semiologia veterinária: a arte do diagnóstico.* São Paulo: Roca, 2004. cap.7, p.313-331.
- GORDEN, P. J.; PLUMMER, P. Control, management, and prevention of bovine respiratory disease in dairy calves and cows. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.* , v. 26, n. 2, p. 243–259, 2010.
- GOUDA, S. M. Ultrasonography as a decision making tool for respiratory affected calves. *J.*

Anim Health Prod., v. 3, n. 2, p. 43–47, 2015.

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

GULLIKSEN, S. M.; JOR, E.; LIE, K. I. *et al.* Enteropathogens and risk factors for diarrhea in Norwegian dairy calves. *J. Dairy Sci.*, v. 92, p. 5057–5066, 2009.

HEINS, B. D.; NYDAM, D. V.; WOOLUMS, A. R. *et al.* Comparative efficacy of enrofloxacin and tulathromycin for treatment of preweaning respiratory disease in dairy heifers. *J. Dairy Sci.*, v. 97, n. 1, p. 372–82, 2014.

HOLT, S. D. Ambient Temperature, Calf Intakes, and Weight Gains on Preweaned Dairy Calves 2014. 38 f. Thesis (Master of Science) in Animal, Dairy and Veterinary Sciences, Utah State University Logan, Utah.

HULBERT, L. E.; MOISÁ, S. J. Stress, immunity, and the management of calves 1. *J. Dairy Sci.*, v. 99, n. 4, p. 3199–3216, 2016.

IBGE – IBGE banco de dados agregados. Disponível em: www.sidra.ibge.gov.br, Acessado em: 05/10/2016.

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

JAIN, L.; EATON, D. C. Physiology of fetal lung fluid clearance and the effect of labor. *Semin. Perinatol.*, v. 30, n. 1, p. 34–43, 2006.

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

KUTASI, O.; HORVATH, A.; HARNOS, A. *et al.* Radiographic assessment of pulmonary fluid clearance in healthy neonatal foals. *Vet. Radiol. Ultrasound*, v. 50, n. 6, p. 584–588, 2009.

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

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

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

LAUAND, L. S. L.; SOUZA JUNIOR, E. B.; ANDRADE, B. J. *et al.* Contribuição da interpretação da radiografia simples de tórax na sala de emergência. *Arq Med Hosp Fac Cienc Med Santa Casa São Paulo*. v. 53, n. 2, p. 64–76, 2008.

LICHTENSTEIN, D.; GOLDSTEIN, I.; MOURGEON, E. *et al.* Comparative Diagnostic

Performances of Auscultation , Chest Radiography , and Lung Ultrasonography in Acute. *Anesthesiology*, n. 1, p. 9–15, 2004.

LISBÔA, J.A.N.; BENESI, F.J.; LEAL, M.L.R. *et al.* Efeito da idade sobre o equilíbrio ácido-básico de bezerras sadias no primeiro mês de vida. *Braz. Journ. of Vet Res. and Anim. Scic.*, v.39, p.136-142, 2002

LISCIANDRO, G.R. . Focused Ultrasound Techniques for the Small Animal Practitioner. Ed Willey-Blackwell, 3ª ed, Oxiford, p. 359, 2014.

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

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

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

MAC-VEAN, D. W.; FRANZEN, D.K.; KEEFE, T.J. *et al.* Airborne particle concentration and meteorologic conditions associated with pneumonia incidence in feedlot cattle. *Am. J. Vet. Res.*, v.47, p.2676–2682, 1986.

MAPA – Ministerio da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Projeções do agronegócio Brasil 2014/15 a 2024/25 Projeções de Longo Prazo. Ed. 6,p.1-133, 2015.

MASSEAU, I.; FECTEAU, G.; BRETON, L. *et al.* Radiographic detection of thoracic lesions in adult cows: A retrospective study of 42 cases (1995-2002). *Canadian Vet. J.*, v. 49, n. 3, p. 261–267, 2008.

MASSELLI, I. B. *Manual básico de ultrassonografia*. Departamento de Diagnóstico por Imagem da UNIFESP, p. 1–39, 2013.

MATKOVIC, K.; VUCEMILO, M.; VINKOVIC, B. *et al.* . Effect of microclimate on bacterial count and airborne emission from dairy barns on the environment. *Ann. Agric. Environ. Med.*, v. 13, n. 2, p. 349–354, 2006.

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

MCGUIRK, S. M. Disease Management of Dairy Calves and Heifers. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.*, v. 24, n. 1, p. 139–153, 2008.

MCGUIRK, S. M. Solving calf morbidity and mortality problems. *American Association of Bovine Practitioners*, p. 1–13, 2003.

MCGUIRK, S. M.; PEEK, S. F. Timely diagnosis of dairy calf respiratory disease using a standardized scoring system. *Anim. Health Res. Rev.*, v. 15, n. 2, p. 145–147, 2014.

- MEE, J. F. Newborn dairy calf management. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.*, v. 24, n. 1, p. 1–17, 2008.
- MOORE, D. S. *A estatística básica e sua prática*. 3. ed. Rio de Janeiro, p-101, 2005.
- NAYLOR, J.M.. A retrospective study of the relationship between clinical signs and severity of acidosis in diarrheic calves. *Can. J. Vet. Res.*, v.30, n.9, p.577-580, 1989.
- NYKAMP, S. G. *The Equine Thorax*, p.632-648 In: Thrall D.E. (Ed.), Textbook of veterinary diagnostic radiology. 6^a ed. Saunders Elsevier, Philadelphia, p.847, 20013.
- OLLIVETT, T. L. Understanding the diagnosis and risk factors for respiratory disease in dairy calves, 2014 153f. PhD Thesis. University of Guelph, Guelph, ON, Canada
- OLLIVETT, T. L.; BUCZINSKI, S. On-Farm Use of Ultrasonography for Bovine Respiratory Disease. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.*, v. 32, n. 1, p. 19–35, 2016.
- OLLIVETT, T. L.; CASWELL, J. L.; NYDAM, D. V. *et al.* Thoracic Ultrasonography and Bronchoalveolar Lavage Fluid Analysis in Holstein Calves with Subclinical Lung Lesions. *J. Vet. Intern. Med.*, v. 29, n. 6, p. 1728–1734, 2015.
- PANCIERA, R. J.; CONFER, A. W. Pathogenesis and pathology of bovine pneumonia. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.*, v. 26, n. 2, p. 191–214, 2010.
- RABELING, B.; REHAGE, J.; DÖPFER, D. *et al.* Ultrasonographic findings in calves with respiratory disease. *The Vet. record*, v. 143, n. 17, p. 468–71, 1998.
- RABELLO, S.S.A, LIMA JÚNIOR, A. D; CASTRO, R. S. *et al.* Sazonalidade da broncopneumonia em bezerros da microrregião de Garanhuns, Pernambuco (1983-1991). *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.48, p.19-26, 1996.
- RADOSTITS, O.M.; GAY, C.C.; HINCHCLIFF, K.W.; *et al.* *Veterinary Medicine: A textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs and goats*. 10 ed. Oxford, UK, Saunders Elsevier, 2007, 1737p.
- REBER A. J.; DONOVAN, D. C.; GABBARD, J. *et al.* Transfer of maternal colostral leukocytes promotes development of the neonatal immune system. Part II. Effects on neonatal lymphocytes. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, v.123, p.305–513, 2008.
- REGEV-SHOSHANI, G.; VIMALANATHAN, S.; PREMA, D. *et al.* Safety, Bioavailability and Mechanism of Action of Nitric Oxide to Control Bovine Respiratory Disease Complex in Calves Entering a Feedlot. *Res. Vet. Sci.*, v. 96, n. 2, p. 328-337, 2014.
- REINHOLD, P.; RABELING, B.; GÜNTHER, H. *et al.* , D. Comparative evaluation of ultrasonography and lung function testing with the clinical signs and pathology of calves inoculated experimentally with *Pasteurella multocida*. *Vet. record*, v. 150, n. 4, p. 109–14, 2002.
- SARTORI, S.; TOMBESI, P. Emerging roles for transthoracic ultrasonography in pulmonary diseases. *World J. Radiol.*, v. 2, n. 6, p. 203–214, 2010.

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

SLOCOMBE, R. F.; ROBINSON, N. E.; DERKSEN, F. J.; CARRIG, C. B. Thoracic inflation appearance in neonatal calves. *Vet. Res. Commun.*, v. 12, p. 259–272, 1988.

SMITH, B. P. Large animal internal medicine. 2^a ed, USA ,Ed. : Mosby, 1872 p., 1996

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

SOBSEY, M. D.; MESCHKE, J. S. Virus survival in the environment with special attention to survival in sewage droplets and other environmental media of fecal or respiratory origin. Report for the World Health Organization. Geneva, Switzerland, p. 70 pages, 2003.

SRIKUMARAN, S.; KELLING, C. L.; AMBAGALA, A. Immune evasion by pathogens of bovine respiratory disease complex. *Animal health research reviews / Conference of Research Workers in Animal Diseases*, v. 8, n. 2, p. 215–229, 2007.

STANTON, A. L.; KELTON, D. F., LEBLANC, S. J. *et al.* The effect of respiratory disease and a preventative antibiotic treatment on growth, survival, age at first calving, and milk production of dairy heifers. *J. Dairy Sci.*, v.95, p. 4950–49, 2012

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

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

TAYLOR, J. D.; FULTON, R. W.; LEHENBAUER, *et al.* The epidemiology of bovine respiratory disease: What is the evidence for predisposing factors?. *Can. Vet. J.*, v. 51, n. 3, p. 1095–102, 2010.

TEGTMEIER, C.; ARNBJERG, J. Evaluation of radiology as a tool to diagnose pulmonic lesions in calves, for example prior to experimental infection studies. *J. Vet. Med. B Infect. Dis. Vet. Public Health*, v. 47, n. 3, p. 229–234, 2000.

THOM, E. C. The discomfort index. *Weatherwise Patterns of transit losses. Livestock Conservation*, v.12, p.57–59, 1959.

THRALL, D. E. *The Canine and Feline Lung* p. 608-632 In: Thrall D.E. (Ed.), *Textbook of veterinary diagnostic radiology*. 6^a ed. Saunders Elsevier, Philadelphia, p.847, 2013.

THRALL, D. E.; WIDMER, W. R. *Radiation Protection and Physics of Diagnostic Radiology*, p. 2-21 In: Thrall D.E. (Ed.), *Textbook of veterinary diagnostic radiology*. 6^a ed. Saunders Elsevier, Philadelphia, p.847, 2013.

TICER, J.W. Radiographic technique in small animal practice. 2.ed. Philadelphia : Saunders, p.

274-343, 1987.

TIDWELL, A. S. Ultrasonography of the thorax (excluding the heart). *Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.*, v. 28, n. 4, p. 993–1015, 1998.

USDA. Dairy 2007, part I: reference of dairy cattle health and management. Practices in the United States, Fort Collins, 2007.

VERSCHOOTEN, F.; OYAERT, W.; DRUBBEL, R. Radiographic Diagnosis of Lung Diseases in Cattle. v. 15, p.49-59, 1974.

VERVLOET, L. A.; CAMARGOS, P. A. M.; SOARES, D. R. F. *et al.* Clinical, radiographic and hematological characteristics of *Mycoplasma pneumoniae pneumonia*. *J. Pediatr.*, v. 86, n. 6, p. 480–487, 2010.

VIRTALA, A. M. K.; MECHOR, G. D.; GRÖHN, Y. T. *et al.* The effect of calfhood diseases on growth of female dairy calves during the first 3 months of life in New York State. *J. Dairy Sci.*, v. 79, n. 6, p. 1040–1049, 1996.

WALTNER-TOEWS, D.; MARTIN, S. W.; MEEK, A. H. *et al.* Dairy calf management, morbidity and mortality in Ontario Holstein herds. *Prev. Vet. Med.*, v. 4, p. 103–124, 1986.

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










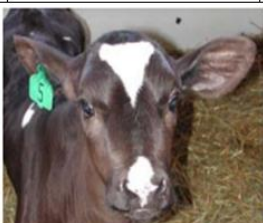


WINDEYER, M. C.; LESLIE, K. E.; GODDEN, S. M. *et al.* Factors associated with morbidity, mortality, and growth of dairy heifer calves up to 3 months of age. *Prev. Vet. Med.*, v. 113, n. 2, p. 231–240, 2014.

YOUNG, A.; ROOD, K. A. Dairy heifer raising “gold standards”. *Western Dairy News*. v. 10, p.111-112. Disponível em:
<http://www.cvmbs.colostate.edu/ilm/proinfo/wdn/2010/August%202010%20WDN.pdf>.
Acessado em: 15 de Novembro de 2016.

ZANOBETTI, M.; POGGIONI, C.; PINI, R. Can chest ultrasonography replace standard chest radiography for evaluation of acute dyspnea in the ED?. *Chest*, v. 139, n. 5, p. 1140–1147, 2011.













9. ANEXOS

Anexo 1 - Método de Escore Respiratório de Wisconsin para avaliação de doença pulmonar segundo McGuirk (2008).

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

Adaptado de McGuirk (2008).

Anexo 2 - Método de Escore da Califórnia, segundo Love *et al.* (2014), para avaliação de doença pulmonar de bezerras.

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

Adaptado de Aly *et al.* (2014).

Anexo 3 - Ficha para anotação do Exame de Ultrassonografia Pulmonar.

DATA	IDENTIFICAÇÃO				
CC/1	15				
Ausculta	QE1	QE2	QE3	QE4	QE5
	QD1	QD2	QD3	QD4	QD5

CHADOS	
QE 1	5e1
QE 2	4e1EP.
QE 3	6e1EP
QE 4	6e1EP.
QE 5	8e1EP

EI 2-3 PARTE CRANIAL DO LC/EI 3-4: PARTE CAUDAL DO LC EI 6-10 lob

QD 1	4E1 EP	LM EP
QD 2	4e1EP.	
QD 3	6e1EP.	
QD 4	6e1EP	
QD 5	8e1EP.	

EI1-2 PARTE CRANIAL DO LC/EI 3-4: PARTE CAUDAL DO LC EI 5: LONBO MÉDIO/ EI 6-10: LOBO CAUDAL

- | | | | |
|----|---------------------|----|------------------------|
| CC | cauda de cometa | EP | efusão pleural |
| C1 | consolidação <1 cm | IP | Irregularidade pleural |
| C2 | consolidação 1-3 cm | BA | Broncrogramas aéreos |
| C3 | consolidação <3 cm | BF | Broncrogramas fluidos |

Anexo 4 - Certificado de Aprovação Comitê de Ética



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

CEUA

COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

CERTIFICADO

Certificamos que o projeto intitulado "Aplicação de métodos de avaliação da saúde pulmonar em bezerros", protocolo do CEUA: 245/2016 sob a responsabilidade de Antonio Ultimo de Carvalho que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem) para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899 de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS, em reunião de 01/12/2016.

Vigência do Projeto	07/09/2016 a 15/11/2016
*Espécie/linhagem	Bovino178
Nº de animais	246
Peso/Idade	35kg / 3(dias)
Sexo	masculino
Origem	Fazenda

Considerações posteriores:

01/12/2016	Aprovado na reunião do dia 21/11/2016.
------------	--

Belo Horizonte, 07/01/2017.

Atenciosamente,

Sistema Solicite CEUA UFMG
https://aplicativos.ufmg.br/solicite_ceua/

Universidade Federal de Minas Gerais
Avenida Antônio Carlos, 6627 – Campus Pampulha
Unidade Administrativa II – 2º Andar, Sala 2005
31270-901 – Belo Horizonte, MG – Brasil
Telefone: (31) 3409-4516
www.ufmg.br/bioetica/ceua - ceua@prpq.ufmg.br