

Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro

Mestrado Integrado em Medicina Veterinária

## **Surto de Pneumonia nas Explorações de Vacas Leiteiras em Barcelos**



Inês Neves Oliveira Santos Costa

N.º 64912

Orientador: Ana Cláudia Correia Coelho

Data de defesa: 10 de fevereiro de 2023

Vila Real, 2023

“É preciso força para sonhar e perceber  
que a estrada vai além do que se vê.”

- Los Hermanos

### **Comunicação em painel no âmbito do trabalho de dissertação**

Costa I, Coelho AC, Silva J (2022). Grande Problema da Doença Respiratória Bovina (DRB) em Explorações de Leite. In: XXII Jornadas da Associação Portuguesa de Buiatria, Espaço Agros, Póvoa de Varzim, 14-15 de maio de 2022.

## **Agradecimentos**

À Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro obrigada por todos os desafios colocados e pelas pessoas colocadas no meu caminho.

À minha orientadora Professora Ana Cláudia Coelho, que se demonstrou sempre disponível com uma palavra de apoio e carinho durante toda a preparação e realização deste trabalho. Sem dúvida que teve um papel fulcral neste processo.

À equipa veterinária da UNICOL®, principalmente ao Dr. Bruno Mendes e Dr. João Fagundes, agradeço por me terem dado a oportunidade de fazer parte da equipa durante 3 meses, por me receberem tão bem, por tudo o que me ensinaram e ajudaram durante o estágio e por estarem sempre disponíveis para as minhas dúvidas. À Ilha Terceira e às pessoas maravilhosas que tive o privilégio de conhecer, agradeço por terem marcado esta etapa da minha vida como algo tão bonito.

Ao Dr. Paulo Capêlo, Dr. André e ao Dr. João Paulo agradeço todo o apoio, ajuda e boa disposição durante os 2 meses de estágio em Barcelos. Obrigada por tudo o que me ensinaram e por me demonstrarem a importância de trabalhar em equipa.

Agradeço aos meus pais, por todo o esforço que depositaram em mim e na minha irmã, por todo o amor que nos dão, por todo o apoio incondicional. Vocês são o meu exemplo, o qual tento seguir todos os dias. Obrigada por tudo o que fizeram até agora e por tudo o que ainda vão fazer. Não teria chegado até aqui sem o vosso apoio e sem o vosso amor. Obrigada por acreditarem sempre em mim e nas minhas capacidades e por ficarem tão felizes por todas as minhas conquistas e por serem o meu porto abrigo nas minhas derrotas. Amo-vos muito.

À minha irmã, agradeço pelo teu amor e preocupação constante. Acompanhaste-me em todas as minhas fases e mudanças e nunca deixaste de ser o meu braço direito. Viste-me crescer e estiveste sempre ao meu lado, para caso eu caísse me dares a mão. Sei que, independentemente do que possa acontecer, posso sempre contar com a tua ajuda. Obrigada por tudo o que fazes por mim e também por me aturares nos meus momentos mais malucos.

Ao resto da minha família, primos, tios e avós, obrigada por todo o carinho que me dão e por acreditarem sempre em mim.

À Carolina, Catarina, Francisca, Filipa e Paulo agradeço por terem contribuído para os melhores 6 anos da minha vida, por estarem sempre ao meu lado durante os longos serões de estudo e

por terem tornado Vila Real a minha segunda casa. Sem vocês nada disto tinha tido tanta graça. Adoro-vos e levo-vos para a vida.

Às equipas AEMV-UTAD e SOS estudante agradeço por me terem ensinado a trabalhar em equipa, por todas as longas reuniões, jornadas e jantaradas. Obrigada pela vossa amizade que espero levar para a vida.

A ti, Hugo, obrigada por acreditares em mim, por me apoiares, por me aturares e por amares todas as minhas virtudes e defeitos. Ajudaste-me a ultrapassar muitos desafios, sem nunca sair do meu lado. Amo-te.

A Vila Real por ser a mais bonita das histórias que irei guardar. Cada canto da cidade é uma memória feliz da minha vida académica e será sempre a minha segunda casa.

Por fim, faz este ano 4 anos que o meu avô faleceu e, por isso, dedico este relatório a ele. Infelizmente não pudeste acompanhar por perto o meu percurso, porém sei que onde quer que estejas estás a olhar por mim. Espero que estejas orgulhoso. O meu objetivo é ser metade daquilo que tu foste e ainda és. O teu carinho e o teu sorriso, do céu, irão acompanhar-me para sempre.

## Resumo

A Doença Respiratória Bovina (DRB) é um conjunto de doenças multifatoriais que afeta essencialmente os animais jovens. É considerada um dos maiores obstáculos da indústria de produção de leite por apresentar um elevado impacto ao nível económico e do bem-estar animal. Ao longo dos anos a comunidade científica tem tentado compreender o que pode estar na origem deste complexo de doenças, com o objetivo de diminuir a ocorrência nas explorações leiteiras, reduzindo os custos financeiros dos produtores. São conhecidos diversos agentes patogénicos que fazem parte da etiologia da DRB porém, atualmente já se compreende que os fatores extrínsecos associados à sanidade animal, como as condições de alojamento, o manejo dos animais, a qualidade do encolostramento e as características do indivíduo também devem ser tidos em conta pois são fatores de risco para a Doença Respiratória Bovina, facilitando o aparecimento de DRB e, posto isto, durante o tratamento dos animais doentes e eliminação do surto devemos de ter em atenção a estes fatores.

A realização deste trabalho teve como objetivo compreender o impacto que os fatores extrínsecos, principalmente o manejo animal, têm sobre o aparecimento da DRB e sobre a eliminação de surtos existentes nas explorações. Desta forma, entender e demonstrar aos produtores a importância da prevenção, provando que através desta conseguimos diminuir as perdas económicas.

Durante o período de estágio foram visitadas 12 explorações de produção de leite em Barcelos, as quais se encontravam bovinos que apresentavam quadro clínico respiratório compatível com quadro infeccioso. Foram realizados protocolos médico veterinários para os animais doentes e exploração em si. Isto é, foram recomendados métodos de controlo e prevenção da doença como melhoramento do manejo animal, condições do alojamento e do encolostramento e, iniciados protocolos vacinais. Nos animais com quadro clínico foram realizados tratamentos dirigidos ao quadro clínico. Ao longo do trabalho, as 12 explorações foram continuamente visitadas de modo a entender o desenvolvimento do surto respiratório e foram registadas a presença ou não de melhorias em cada uma das explorações, sendo que consideramos que ainda estamos perante um surto quando, através dos exames clínicos, continuamos a identificar animais clinicamente doentes e ainda temos uma mortalidade neonatal elevada. Perante os resultados obtidos, foram analisados quais dos fatores (patogénicos ou ambientais) demonstravam maior impacto no surto e qual dos métodos de tratamento (tratamento clínico, protocolos vacinais ou alteração do manejo) demonstrou melhores resultados, ou seja, melhorias.

Os resultados obtidos foram favoráveis na maioria das explorações visitadas, porém foi notória a diferença entre o grupo de explorações que alteraram o manejo realizado comparativamente às explorações onde apenas foi possível realizar o tratamento clínico e vacinação. Esta diferença revelou

que o grupo que melhorou as condições de manejo apresentou melhores resultados do que as restantes explorações.

Deste modo, o presente estudo sugere que a medicina preventiva é o melhor aliado de um produtor, pois ao prevenirmos as doenças conseguimos minimizar os custos dos tratamentos e dos prejuízos ocorridos quando estamos perante animais doentes ou com elevada mortalidade, sendo que, o início da prevenção começa pelas condições que fornecemos aos nossos animais, as quais devem ser adequadas para que estes tenham qualidade de vida e, conseqüentemente maior capacidade produtiva.

**Palavras-chave:** doença respiratória bovina, vitelos, vacarias de leite, manejo, impacto económico.

## **Abstract**

Bovine Respiratory Disease (DRB) is a set of multifactorial diseases that essentially occurs in young animals. It is considered one of the biggest obstacles in the dairy industry because it has a high impact on economic and animal welfare. Over the years, the scientific community has tried to understand what may be at the origin of this complex of diseases, with the aim of reducing the occurrence in dairy farms, reducing the financial costs of producers. Pathogens that are part of the etiology of DRB are well identified, however, it is now understood that extrinsic factors such as housing conditions, animal management, quality of colostrum and individual characteristics may also be taken into account as they are risk factors for bovine respiratory disease, facilitating the appearance of DRB and, therefore, during the treatment of sick animals and elimination of the outbreak, we must pay attention to these factors.

The purpose of this work is to understand the impact that extrinsic factors, mainly animal management, have on the appearance of DRB and on the elimination of existing outbreaks in farms. In this way, understand and demonstrate to producers the importance of prevention, proving that through this we can reduce economic losses.

During the internship period, 12 dairy farms in Barcelos were visited, which were with animals that presented respiratory clinical signs. Veterinary medical protocols were carried out for the sick animals and the farm itself, that is, methods of disease prevention were recommended, such as: improvement of animal management, housing and colostrum conditions, vaccination protocols were initiated; in animals with clinical signs, clinical treatments were performed. During the study, the 12 farms were continuously visited in order to understand the development of the respiratory outbreak and the presence or absence of improvements in each of the farm, and we consider that we are still facing an outbreak when, through clinical examinations, we continue to identify clinically sick animals and we still have high neonatal mortality. In view of the results obtained, we analyzed which of the factors (pathogenic or environmental) had the greatest impact on the outbreak and which of the treatment methods (clinical treatment, vaccination protocols or change in management) showed better results.

The results obtained were positive in most of the farms visited, but the difference between the group of farms that changed the management performed compared to farms where it was only possible to carry out clinical treatment and vaccination was evident. This difference revealed that the group that improved management conditions presented better results than the other farms.



In this way, the study was able to prove that preventive medicine is the best allied of a producer, because by preventing diseases we are able to minimize the costs of treatments and the damage felt when we are dealing with sick animals or with high mortality, and the beginning of the Prevention starts with the conditions we provide to our animals, which must be adequate for them to have quality of life and, consequently, greater productive capacity.

**Keywords:** bovine respiratory disease, calves, dairy farms, management, economic impact.

# Índice

Agradecimentos.....	iv
Resumo.....	vi
Abreviaturas .....	xiv
Atividades de Estágio.....	xv
1. Revisão bibliográfica .....	1
1.1. Doença Respiratória Bovina.....	1
1.2. Etiologia .....	1
1.3. Fatores Infeciosos.....	3
1.3.1. <i>Mannheimia haemolytica</i> .....	3
1.3.2. <i>Pasteurella multocida</i> .....	4
1.3.3. <i>Histophilus somni</i> .....	4
1.3.4. <i>Mycoplasma bovis</i> .....	5
1.3.5. Herpesvírus Bovino – 1 .....	6
1.3.6. Parainfluenza 3 .....	7
1.3.7. Vírus Respiratório Sincicial Bovino.....	7
1.3.8. Coronavírus .....	8
1.3.9. Vírus da Diarreia Vírica Bovina.....	9
2. Fatores de risco .....	11
2.1. Fatores Ambientais.....	11
2.1.1. Ambiente .....	11
2.1.2. Stresse.....	13
2.2. Fatores do Indivíduo .....	13
2.2.1. Fatores Imunitários e Características da Espécie .....	13
3. Resposta Imunitária e Mecanismos de Defesa.....	15
3.1. Sistema Imunitário Inato .....	16
3.1.1. Trato Respiratório Superior.....	16
3.1.2. Trato Respiratório Inferior .....	16
3.2. Sistema Imunitário Adquirido.....	17
3.2.1. Importância do Colostro na Imunidade do Vitelo .....	18

4.	Sinais Clínicos e Lesões.....	21
5.	Diagnóstico .....	23
6.	Tratamento .....	26
7.	Controlo e Prevenção .....	28
8.	Impacto Económico .....	30
	Objetivos .....	32
	Material e Métodos .....	33
	Fase 1 .....	33
	Fase 2.....	34
	Resultados .....	37
	Fase 1 .....	37
	Fase 2.....	38
	Discussão .....	43
	Conclusão.....	47
	Referências Bibliográficas .....	48

## Índice de Figuras

<b>Figura 1-</b> Diferenças anatômicas do pulmão de cavalo (A), bovino (B) e porco (C) .....	14
<b>Figura 2-</b> Comparação das concentrações de IgG séricas de vitelos que foram alimentados com 4L de colostro e 2L de colostro .....	20
<b>Figura 3</b> – Pulmões com áreas avermelhadas de tecido lesionado, comparativamente ao tecido saudável, mais claro, típico de Pneumonia .....	37
<b>Figura 4</b> – Percentagem dos agentes infecciosos presentes nas amostras analisadas pelos exames complementares ELISA e PCR nos laboratórios Segalab e OvisLab.....	38
<b>Figura 5-</b> Percentagem de explorações que realizavam, no início do estudo, o manejo geral dos animais de forma correta e incorreta.....	39
<b>Figura 6</b> - Percentagem (%) de mortos durante e após o surto de Pneumonia no Grupo 1 – Explorações de Bom Maneio. ....	42
<b>Figura 7</b> - Percentagem (%) de mortos durante e após o surto de pneumonia no Grupo 2 – Explorações de Mau Maneio. ....	42

## Índice de Tabelas

<b>Tabela 1-</b> Tabela que representa os diferentes graus de severidade da DRB e os sinais clínicos associados a cada grau. ....	22
<b>Tabela 2-</b> Descrição resumida dos testes complementares utilizados no diagnóstico de DRB, para que são utilizados, as suas vantagens e desvantagens.....	25
<b>Tabela 3</b> – Grupos das explorações consoante a alteração de manejo. ....	35
<b>Tabela 4-</b> Descrição dos fármacos utilizados no tratamento clínico dos animais com quadro clínico respiratório nas explorações analisadas. ....	36
<b>Tabela 5-</b> Vacinas utilizadas durante o estudo, escolhidas pelos produtores das explorações. ....	36
<b>Tabela 6</b> – Descrição da fase de produção e da qualidade do manejo e encolostramento das explorações visitadas. ....	39
<b>Tabela 7</b> - Percentagem de óbitos durante os diferentes semestres de 2021 e 2022, nas diferentes explorações estudadas .....	40
<b>Tabela 8</b> - Percentagem de mortes nos diferentes semestres de 2021 e 2022 nas explorações que desempenham um bom manejo animal. Diminuição da percentagem de mortes em 2022 nas explorações D, H, I, L (resultado positivo).....	41
<b>Tabela 9</b> - Percentagem de mortes nos diferentes semestres de 2021 e 2022 nas explorações que desempenham um mau manejo animal. Aumento da percentagem de mortes em 2022 nas explorações A, E, F e J (resultado negativo).....	41

## **Abreviaturas**

**AINES's** – Anti-inflamatórios Não Esteróides

**BCoV** – Coronavírus Bovino

**BHV-1** – Herpesvírus Bovino - 1

**BRSV** – Vírus Respiratório Sincicial Bovino

**BVD** – Diarreia Viral Bovina

**DRB** – Doença Respiratória Bovina

**ELISA** – Ensaio de Imunoabsorção Enzimática

**FTIP** – Falha na transferência da imunidade passiva

**Ig** - Imunoglobulina

**IS** – Intervalo de Segurança

**HN** - Hemaglutinina-neuraminidase

**PCR** –Reação em Cadeia da Polimerase

**PI3** – Parainfluenza 3

**Th** – Linfócitos T-helper

**TIP** – Transferência da imunidade passiva

## **Atividades de Estágio**

O estágio curricular foi dividido em duas partes, começou a 1 de outubro de 2021 na UNICOL® na Ilha Terceira, Açores, tendo o seu término a dia 20 de dezembro de 2021. Durante este período tivemos a oportunidade de acompanhar a equipa médico-veterinária, participar nas tarefas realizadas pela equipa e aprender sobre diversas áreas de Medicina Veterinária tal como Sanidade, Clínica, Cirurgia, Reprodução, Nutrição e Podologia de Bovinos.

A segunda fase do estágio curricular ocorreu em Barcelos, durante o dia 1 de fevereiro até dia 31 de março de 2022, onde tivemos a oportunidade de acompanhar o Dr. Paulo Capêlo e a sua equipa e participar nas tarefas médico veterinárias nas diferentes áreas: Sanidade, Clínica, Cirurgia, Reprodução e Qualidade de Leite. Adicionalmente, ao longo desta etapa tivemos a oportunidade de acompanhar várias explorações de bovinos, maioritariamente bovinos leiteiros e, observar diferentes doenças, como por exemplo, pneumonias.

No decurso deste trabalho será abordada uma revisão bibliográfica sucinta sobre surtos de pneumonia onde será mencionada a etiologia desta doença, os sinais clínicos, o tratamento utilizado nestes animais, o prognóstico e o que deve ser realizado como prevenção.

Após revisão dos conteúdos bibliográficos será relatado os diversos surtos de pneumonia encontrados nas explorações de Barcelos e, será mencionado todos os aspetos observados pela equipa veterinária, todos os tratamentos utilizados e todas as recomendações fornecidas aos produtores. Por fim, será realizada uma comparação do antes (durante o surto) e o após (após as recomendações fornecidas), de modo a entender as melhorias notadas nas explorações e perceber quais os principais problemas e a principal etiologia de pneumonia nestes locais.

# **1. Revisão bibliográfica**

## **1.1. Doença Respiratória Bovina**

A Doença Respiratória Bovina (DRB) é um conjunto de doenças multifatoriais que afetam tanto o trato respiratório inferior e pulmões como o trato respiratório superior (Vandermeulen et al., 2016).

A DRB promove bastante preocupação por demonstrar ter um impacto notável na indústria de produção de bovinos de carne e de leite, devido à elevada morbidade, mortalidade, às elevadas perdas económicas e diminuição do bem-estar animal. Encontramos frequentemente este tipo de doença em vitelos, sendo uma das principais causas de morte nesta fase. Os animais que conseguem sobreviver à DRB ficam normalmente mais fragilizados, manifestando dificuldade no desenvolvimento, crescimento e, desempenho do animal ao longo da sua vida adulta (Vandermeulen et al., 2016).

Embora atualmente já tenhamos mais conhecimento sobre a patogenia desta doença, dos tratamentos e da correta prevenção que deve ser efetuada, os estudos demonstram que a percentagem de animais afetados e de mortes por doença respiratória não teve grande alteração desde 1990, mantendo-se como uma das doenças mais fatais em explorações leiteiras (Gorden & Plummer, 2010).

## **1.2. Etiologia**

De modo a entendermos a Doença Respiratória Bovina devemos perceber os fatores que são fundamentais para o aparecimento da mesma. Como mencionado anteriormente, o complexo respiratório bovino pode ter vários fatores associados à sua origem, sendo que os mais conhecidos e mais abordados na bibliografia são os fatores infecciosos (bactérias e vírus), porém, devemos mencionar também os aspetos ambientais (ambiente e manejo) e características do hospedeiro que têm vindo a revelar elevada importância para o aparecimento desta doença (Constable et al., 2016).

As características do hospedeiro são importantes para o surgimento de DRB, como por exemplo, a predisposição e resistência que o próprio animal apresenta contra os agentes patogénicos, como a capacidade que o hospedeiro tem de defesa e a qualidade da sua resposta imunitária. Desta forma, um animal que se encontre imunodeprimido ao entrar em contacto com um agente imunossupressor como os agentes infecciosos que provocam DRB, como por exemplo, o herpesvírus bovino 1 não vai conseguir desencadear uma resposta de defesa, levando ao desenvolvimento de doença. Adicionalmente, as bactérias comensais imigram e colonizam o trato respiratório inferior e



iniciam infecções secundárias que vão levar a inflamação e pneumonia. Por outro lado, as diferenças anatômicas da espécie em questão também facilitam a tendência que os bovinos têm para o aparecimento de doenças respiratórias.

Em relação aos fatores ambientais temos de ter em conta as condições de alojamento e do manejo dos animais. Quando estas condições não promovem o bem-estar animal, como acontece em casos de sobrepopulação, heterogeneidade dos lotes de animais (idades diferentes, fase diferente de produção, animais doentes com animais saudáveis), pobre ventilação, higienização desadequada, oscilações climáticas, vai haver o aparecimento de stresse nas explorações, sendo este um aspeto muito relevante na etiologia da doença respiratória bovina, uma vez que vai interferir com a capacidade que o organismo tem em defender o aparelho respiratório contra a doença ao afetar o sistema imunitário do animal (Simonini et al., 2008).

As bactérias que se encontram na origem da DRB são *Mannheimia haemolytica*, *Pasteurella multocida*, *Histophilus somni* e *Mycoplasma bovis* (Peek et al., 2018). Já os agentes virais comuns são o Herpesvírus Bovino 1 (BHV-1), o vírus Parainfluenza 3 (PI3), o vírus respiratório sincicial bovino (BRV), o vírus da Diarreia Viral Bovina (BVDV) (Edwards, 2010). É importante perceber que podemos encontrar apenas um agente, viral ou bacteriano, na origem da infeção causadora de DRB ou, encontramos uma combinação, isto é uma infeção em simultâneo, que geralmente demonstra ter uma gravidade superior a uma infeção com apenas um agente infeccioso (Chai et al., 2022).

Frequentemente as infeções bacterianas são graves quando existe uma coinfeção com um agente viral pois os vírus comprometem o hospedeiro facilitando a multiplicação bacteriana e, desenvolvimento de infeções mais graves. Os vírus conseguem auxiliar as bactérias ao danificar o trato respiratório superior, ao nível da mucosa nasal, facilitando a colonização bacteriana. Para além disso, danificam a mucosa traqueal, diminuindo a capacidade mucociliar e, mais uma vez, facilitam a colonização bacteriana. Por outro lado, os agentes víricos lesionam o sistema imunitário inato do hospedeiro, atacando as células principais do mecanismo de defesa do animal (macrófagos e neutrófilos), tornando difícil a criação de uma resposta imunitária correta. Por último, os vírus são agentes imunodepressores, impossibilitando a capacidade de gerar uma resposta à lesão (Chai et al., 2022).

### 1.3. Fatores Infeciosos

#### 1.3.1. *Mannheimia haemolytica*

*Mannheimia haemolytica* é uma bactéria Gram-negativa, imóvel, não esporulada, que faz parte da família Pasteurellaceae, que se encontra na microbiota do trato respiratório superior de um animal saudável, incluindo fossas nasais, nasofaringe e tonsilas e é uma das principais causas de doença respiratória bovina, ovina, de mastites e septicemia. *M. haemolytica* é uma bactéria oportunista que se apodera do trato respiratório inferior, nomeadamente do pulmão, quando o hospedeiro se encontra imunodeprimido (Cozens et al., 2019; Rice et al., 2007).

Segundo a bibliografia, a bactéria apenas altera o seu estado para patogénico quando existe alguma alteração na imunidade do animal ou quando existe uma coinfeção (com um vírus por exemplo). Um animal que se encontre em stresse (stresse térmico, devido ao transporte, infeções víricas ou outras situações) favorece a multiplicação, o desprendimento da mucosa, a inalação da *Mannheimia haemolytica* para o trato respiratório inferior (Confer & Ayalew, 2018), dificulta a ativação dos mecanismos de defesa e promove uma infeção, como acontece na doença conhecida como Febre dos Transportes (Mannheimiose). Quando estamos perante uma coinfeção, isto é, infeção viral e infeção por *Mannheimia haemolytica*, a taxa de mortalidade aumenta e pode chegar aos 30% – 50% (Peek et al., 2018).

A capacidade patogénica de *Mannheimia haemolytica* deve-se às características e propriedades do microrganismo. Esta apresenta uma cápsula, que protege contra fagocitose, produz uma leucotoxina, que é considerada como o principal fator virulento, a qual é letal para as células inflamatórias alveolares (macrófagos, neutrófilos e monócitos) e, uma endotoxina que vai permitir que a bactéria se mantenha aderida à mucosa no trato respiratório superior e depois, em situações favoráveis, permite a conversão para uma versão mais virulenta. Adicionalmente, divide-se em 12 serótipos capsulares A1, A2, A5, A6, A7, A8, A9, A12, A13, A14, A16, A17 (Mason et al., 2022). Os serótipos A1 e A2 são encontrados no trato respiratório superior de um animal saudável, sendo que o serótipo A2 está em maior concentração e o A1 em menor concentração. A presença de elevadas concentrações do serótipo A1 nos pulmões indica que o animal apresenta pneumonia e, tal aumento de concentração acontece quando existem fatores (como stresse ou presença de infeções virais em simultâneo) permitem o aumento de A1 (Cai et al., 2020; Mason et al., 2022; Rice et al., 2007).

### **1.3.2. *Pasteurella multocida***

*Pasteurella multocida* apresenta muitas semelhanças com *Mannheimia haemolytica*. É uma bactéria Gram-negativa que pertence à família Pasteurellaceae e tal como *Mannheimia* a bactéria está presente nas mucosas de animais saudáveis, principalmente ao nível da orofaringe e apenas quando o animal está imunodeprimido, com stresse ou com uma infeção viral, é que *Pasteurella multocida* passa a ser patogénica (Snyder & Credille, 2020), sendo considerada portanto uma bactéria oportunista (Hasan & Hug, 2022).

*Pasteurella multocida* é uma das bactérias mais relevantes e encontradas na doença respiratória bovina, que neste caso é conhecida como pneumonia enzoótica dos vitelos, sendo responsável por várias doenças em bovinos para além da DRB como septicemia hemorrágica, mastite, abortos e infeções localizadas. Podemos encontrar este agente bacteriano em animais de todas as idades, quer vitelos, quer animais adultos e também em humanos (Harper & Boyce, 2017; Jamali et al., 2014; Peng et al., 2019; Smith et al., 2021).

*Pasteurella* é definida por 5 serótipos capsulares (A, B, D, E e F) e ao contrário da *Mannheimia* apresenta 16 serótipos (1-16) (Peng et al., 2019), sendo que o serótipo A3 é o que é mais encontrado em casos de doença respiratória bovina (Snyder & Credille, 2020) e o B é mais comum em casos de hemorragia septicémica. Segundo Shayegh et al. (2010), a bactéria sozinha não costuma desencadear casos graves/letais da doença, contudo, quando associado a outro agente patogénico pode se revelar letal. *Pasteurella multocida* apresenta vários fatores virulentos onde estão incluídos: endotoxinas, lipopolissacáridos e polissacáridos da cápsula (Harper & Boyce, 2017; Verma et al., 2013).

Segundo Dabo et al. (2007), *P. multocida* é uma das principais bactérias associadas à DRB, sendo que este autor indica que esta bactéria tem uma prevalência mais significativa do que a *Mannheimia haemolytica* em vitelos de leite, ao contrário do que se acreditava antigamente.

### **1.3.3. *Histophilus somni***

*Histophilus somni* também conhecido como *Haemophilus somnus* é uma bactéria Gram-negativa, não esporulada, que faz parte dos principais agentes bacterianos que estão na origem da doença respiratória bovina. *H. somni* pode causar doenças localizadas ou septicémicas (Pérez et al., 2010). Para além da DRB encontra-se também na origem de septicemia, meningoencefalite trombótica, miocardite, arterite, aborto e infertilidade em bovinos e ovinos (Goldspink et al., 2015; Pan et al.,

2018). *H. somni* foi classificada em três espécies: *Haemophilus somnus* (bovinos), *Haemophilus agni* e *Histophilus ovis* (ovinos) (Sandal & Inzana, 2010).

*H. somni* é encontrada na mucosa do trato respiratório, bem como, no aparelho reprodutivo em animais saudáveis e, tal como, as restantes bactérias, tem ação patogénica em situações de stress e imunodepressão, sendo classificada como uma bactéria oportunista (Harhay et al., 2021; Siddaramappa et al., 2011).

*Histophilus somni* atua nas células pulmonares, células endoteliais e células inflamatórias (neutrófilos, macrófagos) limitando a capacidade de ocorrer fagocitose, produção de oxigénio e consequentemente eliminação da bactéria, promovendo, deste modo, apoptose das células e diminuindo a ação bactericida destas células (Hellenbrand et al., 2013).

#### **1.3.4. *Mycoplasma bovis***

*Mycoplasma bovis* pertence à família Mycoplasmataceae e é uma bactéria Gram-positiva que na sua constituição apresenta uma membrana celular com três camadas em vez de uma parede celular, o que ajuda a bactéria a ter resistência a antibióticos do grupo  $\beta$ -lactâmicos, como penicilinas e cefalosporinas (Caswell & Archambault, 2007; Dudek et al., 2020). *M. bovis* foi identificado como agente etiológico de pneumonia em vitelos em 1976 (Caswell & Archambault, 2007) e, para além de pneumonia está muitas vezes associada a mastites, poliartrites, otites, meningites, endocardites e outras doenças (Dudek & Szacawa, 2020) e pode afetar todas as faixas etárias em bovinos de qualquer setor, carne ou leite (Askar et al., 2021; Dudek et al., 2020).

Os fatores de virulência da bactéria incluem as proteínas de superfície variável (VSPs) que atuam como as adesinas, promovendo a adesão da bactéria às células do hospedeiro e, adicionalmente, são responsáveis pela variação fenotípica e pela evasão da resposta imune do hospedeiro (Gelgie et al., 2022). Como esta bactéria atua na resposta imunológica do hospedeiro, vai facilitar a invasão por outros agentes patogénicos (que podem ser outras bactérias, *Mannheimia haemolytica*, *Pasteurella multocida* e *Histophilus somni* ou então agentes víricos). Trata-se de uma bactéria pouco resistente no meio ambiente e, por este motivo, é dependente do hospedeiro para obter os nutrientes necessários para a sua sobrevivência e a sua via de transmissão mais comum é através de contacto direto (Confer, 2009; Gille et al., 2020). Os animais afetados eliminam a bactéria através do trato respiratório durante meses ou até anos, ficando como reservatórios de infeção, sendo os vitelos (entre o primeiro e quarto meses de idade) os animais com maior prevalência (Haapala et al., 2021).

Segundo Radaelli et al. (2008), há muitos anos acreditava-se que *Mycoplasma bovis* estaria presente no trato respiratório de animais saudáveis e que atuava como oportunista. Contudo, estes autores mencionavam que atualmente é conhecido que quando encontramos *M. bovis* no trato respiratório estamos perante lesões inflamatórias, as quais estão descritas como graves quando esta bactéria está presente, sendo muitas vezes fatal. Por outro lado, Maunsell (2011) menciona que a bactéria é frequentemente encontrada em animais saudáveis, demonstrando que a presença de *Mycoplasma bovis* não significa que estamos perante doença e, não implica que o agente não esteja a ser transmitido aos restantes animais.

### 1.3.5. Herpesvírus Bovino – 1

BHV-1 foi dos primeiros agentes víricos a ser isolado em 1950 (Fulton, 2020), pertence à família Herpesviridae, subfamília Alphaherpesvirinae e género *Varicellovirus* (Romero-Salas et al., 2018). O Herpesvírus bovino-1 é o agente causador da Rinotraqueíte Infeciosa Bovina, mais conhecida por IBR.

A via de transmissão mais comum é através de contacto direto (nariz a nariz) e, também através de aerossóis, em curtas distâncias. BHV-1 entra através das vias respiratórias superiores e entra nas células epiteliais. A entrada do vírus nas células depende da estrutura do vírus e dos recetores celulares. O Herpesvírus bovino-1 não apresenta tropismo para nenhuma célula específica, podendo conectar com os recetores de várias células do trato respiratório, também a nível sistémico e no trato genital, podendo levar a falhas na fertilidade e abortos (Graham, 2013; Jones, 2019), sendo considerados uma das principais causas de abortos na América do Norte (Jones, 2019).

Um aspeto importante da família Herpesviridae é o facto de tornar o animal infetado portador para o resto da vida, contudo, isto não significa que o animal apresenta sinais clínicos de imediato e constantemente, pois o vírus pode permanecer inativo (período de latência) até o animal passar por stresse, imunodepressão, administração de corticosteroides (De Brun et al., 2021; Petrini et al., 2022). Deste modo, a prevenção de novas infeções é o mais importante a ser realizado nas explorações que têm BHV-1, visto que não existe tratamento capaz de eliminar o vírus, apenas melhora o bem-estar animal e os sinais clínicos da doença.

Quando estamos perante uma infeção simples causada pelo BHV-1 em bovinos, esta pode ser resolvida rapidamente num período de 7-10 dias, porém, é mais comum haver infeções complicadas/graves devido à presença de uma infeção bacteriana (por exemplo com *Mannheimia*

*haemolytica*, *Pasteurella multocida*) em simultâneo, que dificultará a resolução da doença, podendo muitas vezes ser fatal. Esta co-infecção é possível porque o vírus apresenta uma ação imunodepressora facilitando a multiplicação das bactérias, que são muitas vezes comensais ao animal, até haver um fator, como a imunodepressão/stresse, que contribui para o aparecimento de uma infeção bacteriana secundária (Hou et al., 2017; Jones, 2019).

### **1.3.6. Parainfluenza 3**

O vírus Parainfluenza pertence à família Paramyxoviridae, subfamília Paramyxovirinae, género *Respirovirus* e apresenta dois tipos, Parainfluenza 1 e 3. Na doença respiratória bovina o tipo que é frequentemente encontrado como etiologia é Parainfluenza 3 (PI3). O vírus PI3 pode afetar humanos, cães, macacos, ovinos e bovinos estando maioritariamente associado a doença respiratória quer em animais adultos ou jovens (Du et al., 2020).

O vírus Parainfluenza 3 é dividido em 3 génotipos A, B e C, os quais são encontrados em localizações diferentes como por exemplo, o génotipo A é mais encontrado nos EUA, China, o génotipo B na Austrália e o C na China, Coreia do Sul (Leal et al., 2019).

A via de transmissão mais comum é através de aerossóis e contacto direto. O PI3 é inalado para o trato respiratório e entra em contacto com o muco. O envelope do vírus contém uma molécula que se liga ao ácido siálico que há no muco. Esta ligação é muito importante para a entrada do PI3 nas células epiteliais alvo (Ellis, 2010). O vírus da Parainfluenza bovina 3 tem várias proteínas que são importantes para a patogenia da infeção, sendo que as mais destacadas são a proteína F (responsável pela ligação do vírus às células alvo) e a hemaglutinina-neuraminidase (HN) (responsável pela ligação aos recetores e hemoaglutinação das hemácias) (Ueda et al., 2021).

Os sinais clínicos não são patognómicos neste vírus, deste modo o diagnóstico vírico não pode ser baseado no quadro clínico, porém sabemos que a infeção pode ser ligeira a grave, sendo que geralmente nos casos graves existe co-infecção com agentes bacterianos (Albayrak et al., 2019).

### **1.3.7. Vírus Respiratório Sincicial Bovino**

O vírus respiratório sincicial bovino é dos principais agentes patogénicos da doença respiratória bovina em animais jovens. É membro da família Paramyxoviridae, subfamília Pneumovirinae e género *Pneumovirus* (İnce et al., 2021).

Como mencionado anteriormente, afeta principalmente animais jovens, entre os 3-12 meses de idade, porém qualquer animal de qualquer idade ou sexo pode ser afetado (Ínce et al., 2021). A infecção nos jovens é tendencialmente mais grave do que nos animais adultos (Gershwin, 2007). Segundo Guzman e Taylor (2015), é comum encontrarmos surtos provocados por este vírus no inverno, nos animais jovens.

A principal via de transmissão é através de aerossóis e secreções respiratórias, contacto direto ou indiretamente por fômites (Affonso et al., 2012; Ínce et al., 2021), sendo que uma das principais fontes de infecção são os animais adultos assintomáticos que se encontram na exploração. Os sinais clínicos não são, mais uma vez, patognômicos, pelo que, o diagnóstico definitivo necessita de outros meios complementares.

O vírus respiratório sincicial bovino tem a capacidade de desenvolver uma infecção atuando sozinho, ou seja, uma infecção primária ou atuar em conjunto com outros agentes virais e ainda provocar danos ao longo do trato respiratório facilitando a entrada de agentes bacterianos e infecções secundárias, as quais são, por norma, mais graves (Larsen, 2000).

É um vírus sensível às condições ambientais devido às suas características morfológicas (vírus de RNA e tem envelope) (Affonso et al., 2012). Ao nível do envelope do vírus, o BRSV apresenta três glicoproteínas que são fundamentais para o desencadeamento da doença, as quais são: glicoproteína G (tem como função promover a ligação do vírus à célula alvo, aderindo à membrana celular), proteína F (promove a fusão, penetração do vírus nas células alvo) e proteína SH (hidrofóbica) (Gershwin, 2012; Guzman & Taylor, 2015). Estas proteínas, principalmente a proteína F, vão desencadear uma resposta imunitária no hospedeiro, quando promovem a adesão do vírus às células epiteliais do trato respiratório (Guzman & Taylor, 2015).

### **1.3.8. Coronavírus**

O coronavírus bovino (BCoV) é membro da família Coronaviridae, ordem Nidovirales e género *Betacoronavirus*. É um vírus muito conhecido por afetar o trato intestinal, estando na etiologia da diarreia em vitelos e disenteria de inverno em bovinos adultos. Contudo, o BCoV tem um papel importante na doença respiratória bovina (Rahe et al., 2022), sendo descrito como um vírus pneumoentérico, afetando tanto o trato respiratório superior, inferior e o intestino (Vlasova & Saif, 2021). Vários autores, incluindo Ellis (2019), continuam a debater a possibilidade do coronavírus que

provoca doença entérica e o que provoca doença respiratória sejam o mesmo, podendo apenas estar em diferentes fases do ciclo ou apresentarem ligeiras alterações genéticas.

A principal via de transmissão do coronavírus é feco-oral e, de seguida através de aerossóis. Animais adultos infetados, mas assintomáticos, constituem dos principais meios de disseminação do vírus. Adicionalmente, os cães revelam ter um papel notável na disseminação do vírus, pois o coronavírus respiratório canino está geneticamente relacionado com o BCoV (Lotfollahzadeh et al., 2020; Zhu et al., 2022). Segundo Zhu (2022), os vitelos são os animais afetados, sendo que os animais com 4 (ou mais) semanas de idade apresentam maior probabilidade (44,44%). Contudo, o mesmo autor sugere que os animais adultos também podem ser afetados e, normalmente, a doença é mais grave, mais fatal.

Tal como BRSV é sensível no meio ambiente devido às suas características morfológicas, como a presença de envelope, que o torna facilmente inativado por desinfetantes. O envelope contém uma glicoproteína S que tem como função a fusão da membrana viral com a membrana celular do hospedeiro e a proteína haemaglutinina-esterase (HE) que também tem um papel para a ligação do vírus ao animal (Vlasova & Saif, 2021). Alterações na proteína S levam à variação do tropismo que este vírus tem pelas células alvo e até mesmo pelo hospedeiro (Saif, 2010).

### **1.3.9. Vírus da Diarreia Vírica Bovina**

O vírus da diarreia vírica bovina pertence à família Flaviridae e ao género *Pestivirus*. O BVD pode apresentar dois biótipos diferentes, sendo que um deles promove degeneração celular (denominado por citopático) e o outro não promove degeneração (denominado não citopático) (de Oliveira et al., 2020). A infeção por BVD pode levar ao surgimento de síndromes: diarreia vírica bovina (caracterizado, como o próprio nome indica, pelo aparecimento de diarreias) e doença das mucosas. Ainda sobre os biótipos do vírus, segundo Gomez-Romero (2021), o biótipo mais comum é o não citopático, sendo que o biótipo citopático é raro e por vezes é encontrado em casos graves da doença das mucosas.

Ao longo dos anos vários autores têm revelado a importância do vírus da diarreia vírica bovina no complexo de doenças respiratórias. Este vírus não atua como agente primário na doença respiratória, porém, potencia o aparecimento da mesma. Animais jovens que estão infetados com BVD, persistentemente infetados ou não, estão sujeitos ao aparecimento de infeções bacterianas secundárias que podem originar doença respiratória e, por outro lado, são animais imunodeprimidos, pois BVD



trata-se de uma doença imunodepressora, que como já mencionado anteriormente é um fator predisponente para o surgimento de DRB. Desta forma, conseguimos entender que o BVD usualmente não atua diretamente na doença respiratória bovina, proporcionando apenas um ambiente favorável para a multiplicação de bactérias, como por exemplo *Mannheimia haemolytica* ou o aparecimento de outras infecções virais, como BHV-1 e, ao ser um agente imunodepressor impede a correta resposta imunitária (Ridpath et al., 2020).

De acordo com Burciaga-Robles et al. (2010), o risco de necessidade de tratamento para DRB é 43% superior quando se trata de um animal persistentemente infectados comparativamente com um animal que não foi previamente exposto a BVD.

## 2. Fatores de risco

Numa doença como a doença respiratória dos bovinos é importante compreender não só qual é o agente ou os agentes patogénicos que fazem parte da etiologia, mas também entender alguns aspetos individuais, isto é, fatores imunitários e outros aspetos ambientais que ajudam no aparecimento de DRB.

### 2.1. Fatores Ambientais

#### 2.1.1. Ambiente

Quando estamos perante uma doença infecciosa é muito comum começarmos a pesquisa da etiologia pelos fatores infecciosos, de modo a descobrir qual o agente patogénico causador da doença, colocando a hipótese, muitas vezes, que este será o único problema. Ao longo dos anos tem-se apercebido que os agentes infecciosos não são os únicos fatores de risco que podem desencadear doenças infecciosas, sendo que se deve estar sempre atento a fatores extrínsecos, como o ambiente, como possíveis aspetos que fazem parte da etiologia. O complexo de doenças respiratórias em bovinos não é exceção e cada vez mais encontramos novos fatores que levam ao seu aparecimento.

O **manejo intensivo** dos animais, comparativamente ao manejo extensivo, contribuiu com muitos aspetos para o surgimento de DRB, como por exemplo, através de sobrepopulação, transporte, acesso a água, comida e a exposição a múltiplos agentes (Mosier, 2015). As características do meio ambiente que envolve os vitelos e os restantes animais presentes na exploração são muito importantes, visto que afetam diretamente o bem-estar e a saúde dos animais. Os aspetos que devem ser estudados são o clima, temperatura, ventilação, humidade, presença de poeiras, densidade populacional e higienização da exploração (Snowder et al., 2006).

Os bovinos são animais que toleram mal **alterações climáticas**, sendo que estas são prejudiciais à saúde promovendo **stress térmico**, o qual influencia de forma negativa a capacidade de produção do animal e a capacidade de resposta do sistema imunitário, principalmente quando estão perante picos de temperatura, quer seja temperatura elevada ou muito reduzida (Mosier, 2015). Os vitelos, comparativamente às vacas adultas, são ainda mais sensíveis às alterações climáticas. Segundo Godden(2008), o frio afeta a capacidade de absorção intestinal nos vitelos e também, indiretamente, a capacidade de se colocarem em estação. As **correntes de ar** são perigosas para os animais (permite o levantamento de poeiras) mas, por outro lado, a **falta de circulação** de ar também é prejudicial, pois o ar poluído da exploração (pelos gases tóxicos como o amoníaco, agentes e poeiras) fica condensado

(Garcia & Daly, 2010), facilitando o aparecimento de DRB. Posto isto, é necessário haver uma **correta ventilação** de modo a promover uma troca de ar eficaz, de forma a evitar os riscos mencionados anteriormente. Ainda sobre a qualidade do ar, devemos estar atentos à % de **humidade**, a qual não deve ser superior a 75% (Gorden & Plummer, 2010; Yamaguchi et al., 2021).

A **densidade populacional** e a sua **heterogeneidade** (grupo de animais com diferença de idade superior a 2 meses) são fatores importantes de serem avaliados e evitados numa exploração de bovinos, visto que este aspeto facilita a transmissão de agentes, por contacto direto (Karle et al., 2019). Segundo Dubrovsky e Karle (2019), estudos feitos nos Estados Unidos e no Canadá sugerem que os vitelos têm maior probabilidade de apresentarem doenças respiratórias durante o outono/inverno, na altura mais fria do ano, porque normalmente encontram-se no interior das explorações, agrupados e com má ventilação.

A falta de **higiene** nos locais onde os vitelos se encontram desde o início da sua vida, ou seja, o local do parto (maternidade) e o alojamento durante a fase de recria (viteleiro), é altamente prejudicial para a saúde do animal. A higiene do alojamento dos animais deve ser realizada recorrentemente e obrigatória quando há troca de lote animais, pois revela ter um papel importante na diminuição da transmissão de agentes patogénicos entre animais (Heinemann et al., 2021). Devemos de ter em conta que não podemos realizar a higienização do local com o animal perto, pois irá haver movimento de poeiras, que como visto anteriormente é prejudicial para a saúde do trato respiratório (Dubrovsky et al., 2019b).

As características do **alojamento** são também pormenores relevantes. A divisória entre cada vitelo, segundo Kenneth e Nordlund (2007), deve ser sólida de modo a impedir o contacto direto entre animais, prevenindo a transmissão dos agentes. A cama dos vitelos é fundamental para a manutenção da temperatura corporal. A cama deve estar feita corretamente, de modo a ter altura suficiente para cobrir os cascos do vitelo, não húmida (humidade na cama facilita a perda de calor corporal) e higienizada. O material usado para o abrigo dos animais também já foi estudado, sendo que a utilização de madeira e plástico tem mostrado bons resultados, enquanto que o metal pode intensificar a absorção de calor, prejudicando o animal (Dubrovsky et al., 2019b)

A qualidade de **nutrição** fornecida aos animais pode ser um fator de risco, pois o alimento é fundamental para o crescimento dos vitelos, mas também para ajudar no desenvolvimento do sistema imunitário. Adicionalmente, o **desmame** é normalmente um período stressante para os animais e, por este motivo é recomendado realizar um período de habituação ao novo alimento, tentando dar uma alimentação palatável antes do desmame (Barry et al., 2020).

### **2.1.2. Stresse**

Segundo Dobson et al. (2001), a definição de stresse utilizada é a que identifica os animais que estão expostos a mudanças ambientais, as quais impedem que o animal consiga expressar o seu potencial genético.

No mundo da produção animal há vários procedimentos que provocam stresse nos animais como é o caso do transporte, troca de grupo ou troca de alojamento, desmame, processos cirúrgicos como castração e outras intervenções médico-veterinárias e também alterações da temperatura. Todos estes momentos promovem a secreção de hormonas que estão relacionadas com o stresse (cortisol) para tentar responder aos estímulos. A resposta do animal ao stresse afeta o crescimento, reprodução e o sistema imunitário do animal (Burdick et al., 2011).

Em relação à DRB e a outras doenças infecciosas o stresse é definitivamente um fator de risco, pois como mencionado anteriormente afeta diretamente a capacidade do animal gerar uma resposta imunitária, quer seja inata ou adquirida, permitindo a entrada e a multiplicação dos agentes patogénicos no trato respiratório do hospedeiro e facilita também o aparecimento de coinfeções (Taylor et al., 2010).

## **2.2. Fatores do Indivíduo**

### **2.2.1. Fatores Imunitários e Características da Espécie**

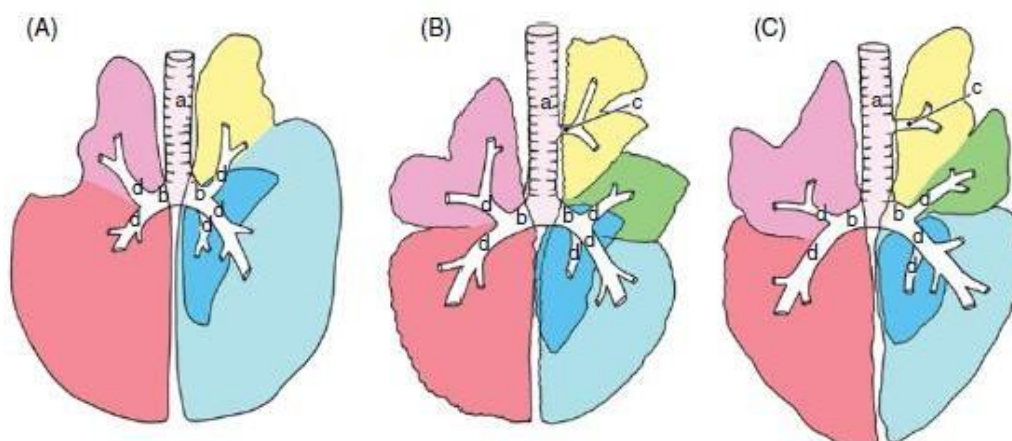
Em relação aos fatores do indivíduo há vários aspetos que fazem parte deste grupo, como por exemplo: a predisposição que a própria espécie tem para a doença quer a nível de diferenças anatómicas e/ou fisiológicas, quer diferenças ao nível do sistema imunitário (Constable et al., 2016).

Em relação ao sistema imunitário dos bovinos é importante ter em conta que, ao contrário de outros animais, os vitelos nascem com um sistema imunitário frágil pois não apresentam quase nenhum anticorpo, visto que a anatomia da placenta da vaca não permite transferências destas glicoproteínas. Posto isto, o recém-nascido necessita de adquirir os anticorpos através da ingestão de colostro nas primeiras 6h de vida, visto que após este período o vitelo deixa de ter capacidade de absorver estas substâncias ao nível do intestino. Deste modo, todos os vitelos que não recebam o colostro durante este período ou, se o colostro utilizado não apresentar boa qualidade (a qualidade do colostro é avaliada através da contagem de proteínas totais no colostro), apresentam elevada predisposição para o aparecimento de doenças respiratórias e outras doenças (Lee et al., 2022).

Por outro lado, os bovinos apresentam diferenças anatômicas e fisiológicas ao nível do pulmão comparativamente às outras espécies, as quais facilitam o aparecimento da doença respiratória bovina (Ackermann et al., 2010; Constable et al., 2016).

Segundo Cooper e Brodersen (2010), os bovinos apresentam características anatômicas e fisiológicas que podem aumentar a predisposição para o aparecimento de pneumonias comparativamente a outros mamíferos. Anatomicamente, o pulmão esquerdo apresenta apenas dois lobos: cranial e caudal, enquanto o direito apresenta quatro lobos: cranial, caudal, médio e acessório (Figura 1) (Fails et al., 2018). Esta divisão pode afetar a oxigenação e, conseqüentemente, prejudicar os mecanismos de defesa. Em relação ao trato respiratório anterior os bovinos têm as vias aéreas mais estreitas, que proporcionam um aumento de pressão e suspensão de partículas. Fisiologicamente, os bovinos apresentam uma limitação na capacidade de trocas gasosas que irá perturbar, de igual forma, a defesa do trato respiratório e, para além disso, vários autores afirmam que o muco dos bovinos apresenta características diferentes aos restantes animais, o que pode aumentar a suscetibilidade desta espécie a infeções. Para além de todos os aspetos mencionados anteriormente, um aspeto importante é o facto dos bovinos serem manuseados em grupo, facilitando a suscetibilidade de se infetarem e transmitirem agentes patogénicos (Ackermann et al., 2010; Constable et al., 2016).

**Figura 1** - Diferenças anatômicas do pulmão de cavalo (A), bovino (B) e porco (C). No pulmão de bovino (B) lobo cranial esquerdo (cor-de-rosa claro), lobo caudal esquerdo (cor-de-rosa escuro), lobo cranial direito (amarelo), lobo médio (verde), lobo acessório (azul escuro) e lobo caudal direito (azul claro). (Fails et al., 2018)



### 3. Resposta Imunitária e Mecanismos de Defesa

Num animal saudável o trato respiratório e o parênquima pulmonar apresentam mecanismos de defesa para impedirem a entrada de agentes, fazendo com que o pulmão fique praticamente isento de microrganismos patogénicos que poderão causar lesão ou infeção. O trato respiratório superior, mesmo num animal saudável, é habitado por várias bactérias como *Mannheimia hemolytica*, *Pasteurella multocida* e *Histophilus somni* (Deepak et al., 2021) as quais, nestes animais são, não provocam doença. Relativamente ao trato respiratório inferior acreditava-se que este fosse um local estéril, onde os mecanismos de defesa eram os responsáveis para que a esterilidade se mantenha, contudo, segundo um estudo realizado na Dinamarca, 63% dos animais saudáveis testados apresentavam bactérias no fluido broncoalveolar (Angen et al., 2009).

É através do sistema imunitário do animal que este consegue arranjar mecanismos de defesa contra as lesões que vão surgindo. O sistema imunológico é um conjunto de interações dos órgãos linfoides, células e fatores humorais, que juntos reconhecem e eliminam os contaminantes (Bertoni et al., 2015). O sistema imunitário é dividido em duas partes, imunidade inata e a imunidade adquirida, as quais apresentam papéis diferentes nos mecanismos de defesa do organismo (Sompayrac, 2019).

A **imunidade inata** constitui a primeira linha de defesa do organismo perante uma agressão, independentemente da agressão em si (Banse et al., 2014). Está descrita como uma resposta rápida e não específica e abrange os elementos físicos, químicos e celulares do sistema imunitário. As principais células que fazem parte da imunidade inata são os neutrófilos, monócitos, macrófagos, citocinas e proteínas (Bertoni et al., 2015; Sompayrac, 2019). Segundo Bertoni et al. (2015) 95% das agressões infecciosas são resolvidas por respostas do sistema imunitário inato.

Por outro lado, a **imunidade adquirida** (adaptativa ou específica) não está presente no organismo desde o nascimento, sendo que ela apenas existe após o animal ter entrado em contacto com o agente patogénico. É importante perceber que a imunidade adquirida atua especificamente em antígenos específicos, daí também ser conhecida como imunidade específica e, demora algum tempo a ser desenvolvida. As vacinas ajudam na construção desta imunidade bem como a transferência de imunidade materna pelo colostro (Lopez & Heinrichs, 2022).

O pulmão apresenta capacidade de desencadear uma variedade de respostas imunitárias, quer seja através de resposta inata ou adquirida (Ackermann et al., 2010).

### **3.1. Sistema Imunitário Inato**

#### **3.1.1. Trato Respiratório Superior**

A proteção do sistema respiratório começa a nível superior, na cavidade nasal, através do epitélio das vias aéreas que criam uma barreira física (Cai et al., 2020). O mecanismo de defesa do trato respiratório superior tem como principal função prevenir a aderência de substâncias estranhas e do movimento destas até ao pulmão. As principais células que são utilizadas para atingir este objetivo são: células mucociliares e células epiteliais ciliadas (Day & Schultz, 2014; Sompayrac, 2019), que promovem a secreção de muco e criam movimento para a eliminação do muco com os agentes, impedindo a adesão destes à mucosa (Srikumaran et al., 2007).

A filtração do ar é um processo fundamental para a possível eliminação de agentes, tal como, o espirro e a presença de anticorpos nesta estrutura anatómica. Adicionalmente, o reflexo laríngeo, a tosse, o mecanismo de transporte mucociliar são também métodos importantes de defesa no trato respiratório superior (Constable et al., 2016).

Como referido anteriormente, a secreção de muco é muito importante para a defesa mecânica do pulmão, visto que este aprisiona e transporta os agentes que foram previamente inalados e, de seguida, as células ciliares empurram estas partículas, de forma que estas sejam depois deglutidas, tossidas ou então removidas pelo nariz (Day & Schultz, 2014). Adicionalmente tem um papel importante na humidificação e hidratação do ar e da mucosa e, contém anticorpos importantes para a defesa imunitária. Alguma alteração ao nível da qualidade do muco pode predispor a doença. A tosse é igualmente importante uma vez que favorece a eliminação de secreções e exsudados que se encontravam nos pulmões. Quando um animal apresenta tosse como sinal clínico significa que este ainda apresenta uma das ferramentas importantes para a defesa do organismo. A quebra de um destes mecanismos de defesa promove a entrada de agentes e a sua multiplicação, desencadeando uma possível infeção. A presença de pelagem na cavidade nasal atua como barreira física para a inalação de substâncias de largo calibre (Constable et al., 2016).

#### **3.1.2. Trato Respiratório Inferior**

Já no trato respiratório inferior a resposta imunológica criada é uma resposta inflamatória, que tem como objetivo matar e remover os agentes patogénicos do local, através de fagocitose. Os macrófagos alveolares e os anticorpos têm um papel fulcral para o desenvolvimento desta resposta, sendo que os macrófagos são as primeiras células a matarem as substâncias invasoras ou os seus

antigénios e a apresentarem-nas aos linfócitos para que estes estimulem a resposta imunitária (Sun et al., 2020). Os macrófagos por serem as primeiras células a intervir são também conhecidas como células sentinela (Sompayrac, 2019).

Adicionalmente, os neutrófilos apresentam um papel fundamental na eliminação dos agentes patogénicos juntamente aos macrófagos, havendo autores que consideram os neutrófilos as células principais do sistema imunitário inato (Sompayrac, 2019). O conjunto destas células consegue reconhecer, captar e destruir vários agentes patogénicos. Por outro lado, tanto os neutrófilos como os macrófagos produzem substâncias tóxicas que ajudam a matar os agentes bacterianos (Srikumaran et al., 2007).

As células fagocíticas (macrófagos, neutrófilos, monócitos, entre outras), para além de fagocitarem e eliminarem o agente patogénico produzem certos mediadores e citocinas, reconhecem o corpo estranho através dos recetores e apresentam o material fagocitado às células B e T, contribuindo para a ativação do sistema imunitário adquirido (Riera Romo et al., 2016). Todo o processo vai desencadear uma resposta inflamatória, que tem o objetivo de neutralizar e conter o agente patogénico (Day & Schultz, 2014).

### **3.2. Sistema Imunitário Adquirido**

O sistema imunitário adquirido promove uma resposta a um antigénio específico e as principais células a atuarem são os linfócitos B e T. Esta resposta imunitária caracteriza-se por memória imunológica, a qual permite o desenvolvimento de uma resposta após exposição repetida a um agente patogénico específico. A imunidade adquirida está dividida em: imunidade celular (onde as células protagonistas são os linfócitos T) e a imunidade humoral (onde as células principais são os linfócitos B) (Banse et al., 2014).

Como mencionado anteriormente, as células responsáveis pela imunidade celular são os linfócitos T. Estas células protegem o hospedeiro de agentes patogénicos intracelulares como vírus, bactérias, entre outros. Os linfócitos T dividem-se em células T-helper (Th) e células T-citotóxicas. As células Th são responsáveis pela produção de citocinas, as quais ajudam a ativar e a melhorar a resposta das células imunológicas. As células T-helper são essenciais para haver a indução da resposta imunitária adquirida. Por outro lado, as células T-citotóxicas reconhecem as células do hospedeiro que estão infetadas a nível intracelular e são consideradas como células anormais pelas T-citotóxicas, acabando as últimas por eliminar as células infetadas (Banse et al., 2014).



A imunidade humoral é mediada por imunoglobulinas, termo geral utilizado para descrever as moléculas de anticorpos. As imunoglobulinas apresentam diversas funções, podendo promover ou suprimir a inflamação e influenciar as células do sistema imunitário (Day & Schultz, 2014). Os linfócitos B produzem os anticorpos, mas para tal ser possível estas células têm de ser ativadas anteriormente (Sompayrac, 2019). Porém esta ativação apenas ocorre aos linfócitos que ainda não produziram um anticorpo e que não reconhecem o antígeno que lhe foi apresentado. Caso a célula B reconheça o antígeno apresentado não precisa de ativação pois já vai ter o anticorpo produzido. A ativação dos linfócitos B pode ser por dois processos, sendo que um deles é mediado pelas células T-helper (Sompayrac, 2019).

### **3.2.1. Importância do Colostro na Imunidade do Vitelo**

Ao contrário de vários mamíferos, a placenta dos bovinos não permite que ocorram trocas de imunoglobulinas e outras moléculas entre a mãe e o feto durante a gestação, como tal, o vitelo quando nasce apresenta uma concentração mínima de imunoglobulinas, as quais só conseguem ser adquiridas na forma adequada através da ingestão de colostro (Day & Schultz, 2014).

O colostro é uma fonte nutricional e de energia para os vitelos recém-nascidos, sendo que 20% dos sólidos totais presentes no colostro são gorduras altamente digestíveis, as quais são importantes para o vitelo visto que este nasce com pouca gordura corporal (Soufleri et al., 2021). Sendo a gordura uma das principais fontes de energia, a presença de gordura no colostro é imprescindível para o vitelo. Adicionalmente, segundo Lopez e Heinrichs (2022), o colostro apresenta maiores quantidades de minerais, vitaminas, açúcares e oligossacáridos que o leite normal, sendo então um alimento muito nutritivo para o vitelo e, para além destes componentes, o colostro apresenta na sua constituição imunoglobulinas (Igs).

Em relação aos efeitos imunológicos é através da ingestão do colostro que o vitelo consegue absorver Igs pelo intestino, visto que a placenta dos bovinos não permite que ocorra esta transferência de imunidade. Porém, a absorção intestinal só é rentável nas primeiras 6h de vida do vitelo, pois é neste período que a permeabilidade intestinal é mais elevada, favorecendo a absorção (Day & Schultz, 2014; Lopez & Heinrichs, 2022). Posto isto, é fundamental que haja um manejo correto dos recém-nascidos, pois uma ingestão de colostro incorreta leva a uma falha na transferência de imunidade passiva e o animal fica desprotegido, facilitando o aparecimento de infeções, como o caso de DRB e doenças gastrointestinais e por consequência, aumenta a mortalidade neonatal (Mason et al., 2022).

Para além da importância que o horário da ingestão do colostro tem na qualidade da passagem de imunidade, há outros fatores que também devemos de ter em conta como: a qualidade do colostro, a quantidade de colostro ingerida pelo vitelo e o método de ingestão. Todos estes fatores vão influenciar a quantidade de Igs ingeridas e absorvidas pelo vitelo (Lopez & Heinrichs, 2022).

A qualidade do colostro é avaliada principalmente pela concentração de Igs que este apresenta. Um colostro considerado de boa qualidade apresenta mais de 50g Ig/L (Godden et al., 2019; Kuralkar, 2010). Por norma, as novilhas apresentam colostros com menor qualidade, sendo que normalmente são utilizados colostros de vacas mais velhas. Sendo que uma das causas de ocorrer falha na transferência passiva pode ser a reduzida concentração de Igs no colostro fornecido ao vitelo, os produtores são recomendados a medir esta concentração antes de administrar ou conservar o colostro.

Nas explorações são muito utilizados métodos indiretos, por serem mais fáceis de serem realizados, como o colostrómetro (hidrómetro) que mede a densidade específica do colostro, pois existe uma correlação entre a gravidade do colostro e a concentração de Ig's (Godden et al., 2019). Através do resultado conseguimos saber se o colostro é de boa ou má qualidade. Porém, vários autores afirmam que não é o método mais eficaz e correto para classificar a qualidade do colostro, visto que há vários fatores que influenciam o resultado, como é o caso da temperatura do colostro (que deve estar entre os 20-25°C) (Godden, 2008). Por exemplo, se a temperatura do colostro for inferior ao referido vai haver uma leitura incorreta da qualidade do colostro, pois com uma menor temperatura o colostrómetro indica que a densidade é maior e o produtor pensa que há uma maior concentração de imunoglobulinas, o que está incorreto. Assim, apesar de se tratar de um método fiável, barato e de fácil aplicação não é o mais indicado a ser utilizado.

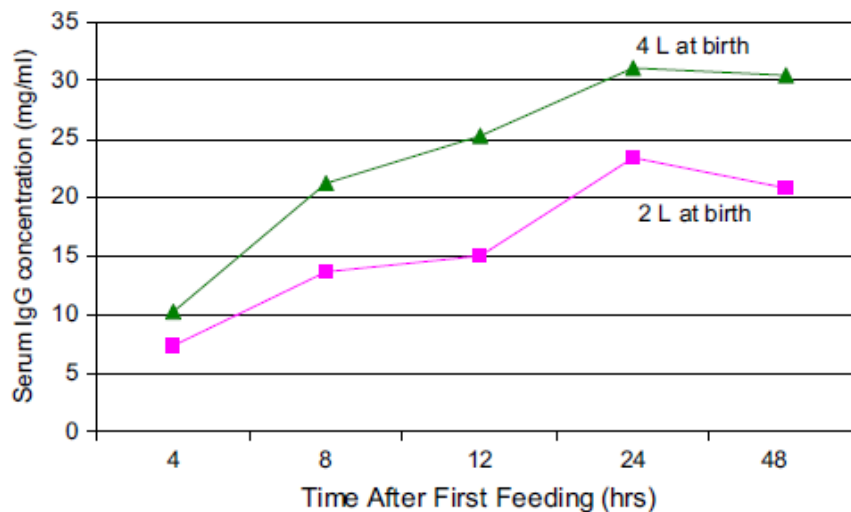
Adicionalmente, existe outro método indireto que é mais utilizado e indicado pelos médicos veterinários, por ser menos afetado pela temperatura e outros fatores, o refratómetro (Lopez & Heinrichs, 2022). Existem dois tipos de refratómetros: refratómetro de Brix ou refratómetro eletrónico. O mais utilizado é o refratómetro de Brix, visto que este obtém a concentração de Igs através da medição dos sólidos totais presentes no colostro (Godden et al., 2019; Soufleri et al., 2021).

Para além de avaliarem a qualidade do colostro, os médicos veterinários utilizam muito os próprios vitelos para descobrir se o encolostramento está a ser realizado corretamente. Como Godden (2019) menciona, através da recolha de uma amostra de sangue do vitelo podemos estimar a quantidade de imunoglobulinas que o vitelo apresenta e entender através do resultado se houve ou não falha na transferência da imunidade passiva (FTIP). Os animais escolhidos devem ter entre 24h-48h de vida e aquilo que realmente detetamos através do plasma e do refratómetro são as proteínas totais. Caso a

concentração de proteínas totais do vitelo seja  $> 5,5$  g/dL significa que houve uma transferência correta (Lopez & Heinrichs, 2022; McGuirk & Collins, 2004) .

A quantidade de colostro que o recém-nascido ingere é fundamental para haver uma correta absorção e aproveitamento das Ig's que provém do colostro. Segundo Godden (2019) o recém nascido deve ingerir cerca de 3L-4L de colostro nas primeiras 6h de vida, que corresponde a cerca de 10%-12% do seu peso e, 12h depois deve ser repetida a toma de colostro com 2L (Figura 2). É aconselhado que o método mais correto para administrar o colostro seja através de biberões, sem forçar o animal, contudo, caso seja necessário, pode ser recorrido à entubação do animal (Godden et al., 2019).

**Figura 2-** Comparação das concentrações de IgG séricas de vitelos que foram alimentados com 4L de colostro e 2L de colostro (Godden, 2008).



#### **4. Sinais Clínicos e Lesões**

A deteção precoce da DRB é fundamental para conseguirmos prevenir um mau prognóstico e consequentemente diminuir os gastos económicos do tratamento do animal, posto isto, é muito importante conhecermos os sinais clínicos comuns da doença respiratória em bovinos. Normalmente, o produtor começa por perceber que o animal deixa de ter apetite ou que a sua condição corporal diminuiu e apresenta temperatura retal elevada. O facto destes sinais serem os primeiros a serem identificados pelos cuidadores é preocupante, pois significa que não está na fase inicial da doença, por isso, devemos fornecer conhecimento aos cuidadores sobre mais sinais clínicos que possam indicar que estejam na presença de DRB.

Os principais sinais clínicos que estão associados a DRB são tosse espontânea ou através da compressão da traqueia, depressão, aumento temperatura retal, respiração atípica, corrimento nasal ou ocular, orelhas caídas, auscultação pulmonar alterada e em casos graves pode haver dispneia e emaciação (Ames, 1997; Vandermeulen et al., 2016). Em relação aos diferentes agentes patogénicos que fazem parte da etiologia da doença respiratória bovina, as alterações dos sinais clínicos não são muito evidentes e, por este motivo, o diagnóstico não é realizado através dos sinais clínicos dos animais doentes.

Segundo McGuirk & Peek (2014), diferentes vitelos com DRB podem demonstrar sinais clínicos diferentes ou com um grau de gravidade diferente, ou seja, existem vários graus de severidade da doença. Assim sendo, estes autores descrevem uma escala que nos ajuda a perceber, consoante os sinais clínicos que o animal apresenta, em que grau da doença se encontra, podendo este ir desde o grau 0 ao grau 3, sendo o grau 0 um animal normal sem DRB e o grau 3 um animal com DRB num estado grave (Tabela 1).

Nos casos em que o prognóstico é mau os animais podem acabar por não resistir ou, mesmo que sobrevivam, acabam por apresentar sequelas, as quais podem impedir o desenvolvimento normal do animal através do atraso no crescimento (a carcaça do animal apresenta peso e conformação desfavoráveis à comercialização, caso seja pretendido) e, diminuição da capacidade produtiva e reprodutiva do animal (Simonini et al., 2008).

**Tabela 1-** Tabela que representa os diferentes graus de severidade da DRB e os sinais clínicos associados a cada grau (McGuirk & Peek, 2014).

Sinal Clínico	Pontuação e descrição			
	0	1	2	3
Temperatura Retal	37,7°C- 38,3°C	38,3°C-38,8°C	38,8°C-39,4°C	>39,4°C
Tosse	Sem tosse	Tosse induzida	Tosse induzida ou ocasionalmente espontânea	Tosse espontânea frequente
Corrimento nasal	Normal, corrimento seroso	Pouca quantidade, unilateral, corrimento turvo	Bilateral, turvo ou excesso de muco	Abundante, bilateral, corrimento mucopurulento
Olhos e orelhas	Normais	Ligeiro corrimento ocular e agitar das orelhas	Corrimento ocular moderado, bilateral ou ligeiro corrimento unilateral no ouvido	Corrimento ocular abundante, inclinação da cabeça grave ou corrimento bilateral do ouvido

A realização de necropsia de campo quando estamos perante um surto revela ser importante para auxiliar o diagnóstico final e entender a causa da morte do animal. No caso da doença respiratória bovina vamos encontrar alterações ao nível do aparelho respiratório, nomeadamente nos pulmões, onde vamos encontrar lesões na zona mais ventral dos lobos pulmonares. As zonas lesionadas vão apresentar, por norma, coloração diferente do tecido saudável, podendo estar vermelha ou roxa. Adicionalmente, o órgão nesses locais vai estar mais denso. Os gânglios linfáticos mediastínicos encontram-se reativos, com aumento do seu tamanho. As lesões que nós encontramos durante a necropsia vão depender da etiologia (Andrews, 2004).

## 5. Diagnóstico

O diagnóstico correto e precoce de DRB é imprescindível para um bom prognóstico e para a realização de um tratamento adequado. Cada vez mais é mencionada a importância da escolha acertada do tratamento clínico por parte dos médicos veterinários devido ao uso em excesso de antibióticos. A doença respiratória bovina não é exceção e é muito comum a realização de um tratamento empírico com antibióticos até se descobrir exatamente qual a doença e quais os agentes patogénicos envolvidos, o que vai contra o paradigma One Health. Posto isto, é necessário recorrer a métodos complementares para o diagnóstico preciso da DRB, de modo a conseguirmos diminuir o uso de antibióticos e, conseqüentemente, diminuir as resistências aos mesmos, diminuir os gastos financeiros, melhorar o prognóstico e diminuir as recidivas.

Segundo Cooper & Brodersen (2010), durante o processo de diagnóstico de DRB temos de ter em atenção a vários fatores que ajudam na eficácia do processo e devemos de ter em atenção que caso alguma informação não esteja correta vai influenciar negativamente e vai levar a um diagnóstico errado. Os fatores que devemos de ter em conta são: **seleção animal** (devemos de escolher o grupo de animais que aparenta estar nas primeiras fases da doença e que não realizaram qualquer tipo de tratamento, esta escolha é realizada através da observação dos sinais clínicos), **história clínica** (realização de uma boa anamnese é fundamental e ajuda o médico veterinário a conseguir pensar nos diagnósticos diferenciais, no método complementar mais adequado para o caso e perceber a existência de fatores de risco que possam predispor ao aparecimento desta doença), **métodos complementares** (depois do médico veterinário obter toda a informação necessária deve escolher quais os métodos de diagnóstico favoráveis no caso em questão).

Segundo Pardon & Buczinski (2020) a utilização de análises laboratoriais como método complementar é fundamental para conseguirmos descobrir qual o agente envolvido. Porém, devemos de ter em conta que estes exames apresentam elevado custo económico e, por este motivo, não é muitas vezes procurado pelos produtores. Posto isto, os médicos veterinários muitas vezes recorrem ao diagnóstico através dos sinais clínicos e dos sistemas de pontuação existentes. O recurso a este método não aparenta ser o mais adequado pois acabamos por não saber qual é o agente envolvido e por realizar o tratamento empírico, que como mencionado anteriormente deve ser evitado por ir contra o paradigma One Health. Outra desvantagem deste meio de diagnóstico é o facto de ser recorrida a ajuda do produtor e seus funcionários para estarem atentos aos sinais clínicos, levando a muitos erros no diagnóstico.

Os métodos laboratoriais e necropsia são os métodos preferenciais no diagnóstico de DRB e, para além destes, os médicos veterinários podem também recorrer à ultrassonografia e radiografia

torácica para diagnosticar doenças respiratórias. Todos estes métodos apresentam como desvantagem o custo financeiro elevado e a necessidade de ser realizado por alguém experiente (Love et al., 2014).

Relativamente ao recurso de necropsia como método de diagnóstico tem como objetivo a deteção de lesões ao nível do trato respiratório e tentar diferenciar essas lesões com os respetivos agentes patogénicos. Contudo, vários agentes podem produzir lesões semelhantes que podem induzir em erro o diagnóstico, pelo que este método é utilizado para recolha de amostras, por exemplo, do pulmão (Fulton & Confer, 2012).

Os métodos laboratoriais utilizados no diagnóstico de DRB são: serologia (ELISA – Ensaio de Imunoabsorção Enzimática), cultura de amostras para isolamento do agente, PCR, imunohistoquímica (Tabela 2) (Fulton & Confer, 2012).

Através do teste **ELISA** (teste serológico) conseguimos detetar a presença de anticorpos, o que nos indica qual o vírus que faz parte da etiologia e se o animal está ou já esteve em contacto com o mesmo. Este teste é muito utilizado para a deteção de anticorpos virais e também para identificação de anticorpos contra bactérias. Contudo, é um teste que apresenta algumas desvantagens, sendo a primeira o custo para obtermos os resultados visto que é um teste de rebanho e não individual (Caswell et al., 2012). Para além disso, nos animais vacinados sem vacinas marcadas, o teste ELISA não consegue diferenciar os anticorpos virais dos vacinais (Fulton & Confer, 2012) e adicionalmente, os anticorpos maternos podem influenciar de igual forma (nos animais até 6 meses de idade).

É possível isolar o agente patogénico através de culturas celulares. Normalmente, são recolhidas amostras de zaragoas nasofaríngeas profundas ou zaragoas oculares, lavagens broncoalveolares ou traqueais ou recolha de lesões no órgão (pulmão) (Pardon & Buczinski, 2020). As zaragoas nasais são mais utilizadas para a deteção de vírus e micoplasmas e não recomendadas para o diagnóstico de bactérias, pois os resultados não são totalmente fidedignos. As lavagens broncoalveolares ou traqueais, por outro lado, são utilizadas para identificar vírus, micoplasmas, bactérias e parasitas (Constable et al., 2016). O correto armazenamento das amostras (devem ser mantidas no frio) é importante para conseguirmos obter resultados fidedignos. Ao realizar este teste conseguimos observar a replicação do vírus ou bactéria. O período de incubação tem duração de 7 dias, logo conseguimos entender que uma das desvantagens deste método é o tempo necessário para obtermos os resultados e que a cultura de vírus não é realizada em qualquer laboratório de microbiologia.

A **imunohistoquímica** deteta a presença de antigénio nas lesões do pulmão. É um teste que tem vindo a ser muito utilizado pela comunidade veterinária, pois quando é encontrado um antigénio na lesão é quase certo que o agente patogénico correspondente ao antigénio encontrado é o causador da doença respiratória a ser tratada (Fulton & Confer, 2012).

O diagnóstico através de **PCR** deteta a presença do vírus ou bactéria, sendo que tem sido muito utilizado pelos médicos veterinários, visto que conseguimos detetar múltiplas bactérias e vírus presentes, sendo isto uma mais-valia pois ajuda a descobrir coinfeções e a escolher adequadamente o tratamento para estas situações (Love et al., 2014).

**Tabela 2-** Descrição resumida dos testes complementares utilizados no diagnóstico de DRB, para que são utilizados, as suas vantagens e desvantagens (Fulton & Confer, 2012)

Teste	Uso	Vantagens	Desvantagens
Serológico (ELISA)	Deteção anticorpo	Deteta resposta vacinal e infeções passadas	Não diferem anticorpos induzidos por vacinas dos anticorpos adquiridos na infeção
Imunohistoquímica	Deteção antigénio na lesão do pulmão	Pode-se localizar o agente infeccioso dentro da lesão. Forte evidência de que o agente encontrado está relacionado com a infeção	A sensibilidade e a especificidade dependem da presença de soro imune específico e de anticorpos monoclonais
PCR	Deteção de material genético do agente	Evidência que o agente infeccioso está ou esteve recentemente na amostra	Falha na deteção do agente infeccioso.



## 6. Tratamento

A administração de um tratamento clínico adequado é fundamental para obtermos um bom prognóstico, não devendo ser, contudo, o único a ser aplicado. O tratamento da doença respiratória bovina costuma ser caracterizado pela utilização de antibioterapia e, caso o médico veterinário ache essencial, anti-inflamatórios (Constable et al., 2016).

A maioria das infecções do trato respiratório promovem o aparecimento de uma reação inflamatória como resposta à agressão. Por este motivo, a utilização de **anti-inflamatórios** tem demonstrado resultados positivos no que toca à diminuição de alguns sinais clínicos, pois apresentam um papel fundamental na inibição de substâncias pró-inflamatórias como as citocinas e as interleucinas. Dentro das substâncias ativas anti-inflamatórias podemos usar fármacos do grupo dos Anti-inflamatórios Não Esteróides (AINE's) e os glucocorticoides. Os AINE's têm-se demonstrado eficazes a melhorar o bem-estar animal, ao evitar a depressão, a febre e a anorexia do doente (Mahendran, 2020). Um AINE muito utilizado no tratamento de DRB é o Meloxicam, pelas suas propriedades antipiréticas, analgésicas e anti-inflamatórias (Achard et al., 2018). Por outro lado, os glucocorticoides também são utilizados frequentemente, sendo o mais utilizado a Dexametasona (Beveridge et al., 2008).

No que toca aos **antibióticos** cada vez mais é abordado a necessidade de se diminuir a administração de antibióticos, sendo que apenas devemos utilizá-los quando é crucial para a recuperação do animal. Por este motivo e como mencionado anteriormente, é fundamental saber qual o agente patogénico que faz parte da etiologia da doença respiratória em questão, para que a escolha do antibiótico a utilizar seja a adequada. Para além disto, podem ainda ser feitos antibiogramas para descobrir a sensibilidade que os agentes têm aos antibióticos (Constable et al., 2016).

Os antibióticos são moléculas químicas utilizadas na área da Medicina Veterinária e Medicina Humana que têm ação ao nível dos fungos e bactérias e, podem ser divididos em dois grupos consoante o seu mecanismo de ação: bacteriostáticos, aqueles que inibem as bactérias, ou, bactericidas, quando as matam (Coetzee et al., 2020). Cada vez mais, a nível mundial, a utilização de antibióticos se tem tornado um fator preocupante e, por este motivo, há países que apresentam regras para diminuir ao máximo o uso destas moléculas, sendo que, por exemplo, estas nunca podem ser utilizadas para profilaxia (Rajala-Schultz et al., 2021), como é o caso da Dinamarca, Finlândia, Noruega e Suécia. Esta preocupação deve-se ao facto de haver grande ligação entre a antibioterapia e problemas de saúde pública, problemas na saúde animal e problemas financeiros (Nascimento et al., 2001). Desta forma, ao longo dos anos tem havido vários alertas para a importância da diminuição da utilização dos antibióticos, da aplicação minuciosa e correta destes, isto é, princípio ativo correto e dose correta para

a situação em questão, evitando aplicar quando não são necessários e como profilaxia (Chai et al., 2022).

A resistência a antibióticos tem sido um dos grandes problemas a nível global (McDermott et al., 2002) pois tem demonstrado grandes implicações a nível da área clínica quer em animais, quer em humanos. A utilização de antibióticos na medicina veterinária tem relação indireta com a existência de resistência a antibióticos no Homem pois, através da cadeia alimentar, as bactérias resistentes são transmitidas de um ser para o outro. Este facto é relevante, uma vez que, torna complexo e limitado o tratamento de doenças infecciosas nos humanos (McEwen & Collignon, 2018).

No caso de DRB os antibióticos que eram aconselhados são os beta-lactâmicos, tetraciclina, fluorquinolonas, macrólidos, anfenicóis e cefalosporinas (Constable et al., 2016). Contudo, devido à resistência aos antimicrobianos, a União Europeia lançou recentemente regulamento (Regulamento Delegado (UE) 2021/578 da Comissão de 29 de janeiro de 2021, 2021), onde coloca os diferentes grupos de antibióticos em diferentes níveis (A,B,C,D) sendo que, a categoria A corresponde aos antibióticos que não estão autorizados a serem utilizados em Medicina Veterinária, apenas são utilizados em Medicina humana, a categoria B são os antibióticos que são muito importantes para o uso humano só devem ser aplicados em ultimo caso, a categoria C podem ser usados com precaução quando a categoria D não demonstrou resultados e por último, a categoria D estão os antibióticos que podem ser utilizados em medicina veterinária. Posto isto, os antibióticos que estão aconselhados para tratamento clínico de DRB, atualmente, são os beta-lactâmicos, tetraciclina, anfenicóis e macrólidos, sendo que as fluorquinolonas e as cefalosporinas que se encontram na categoria C só podem ser utilizados quando nenhum dos outros grupos de antibióticos apresenta resultados positivos.

## 7. Controle e Prevenção

Durante muitos anos em Medicina Veterinária, a resposta e solução para todas as doenças encontrava-se, exclusivamente, no tratamento clínico através de administração de medicação. Contudo, nos últimos anos tem-se vindo a provar que para conseguirmos controlar uma doença devemos atuar antes desta começar através da medicina preventiva, promovendo protocolos de prevenção nas explorações de animais de produção (Pfuetzenreiter et al., 2004).

De modo a ser possível criar protocolos de prevenção adequados às explorações que estão a ser avaliadas no momento, é necessário entender a patogenia da doença respiratória bovina e perceber quais os fatores de risco que predispõe ao aparecimento desta doença nas explorações, para além de conhecer os agentes patogénicos que fazem parte da etiologia da doença. As doenças infecciosas do trato respiratório têm origem numa combinação de fatores (fatores infecciosos, fatores ambientais e fatores imunitários), como mencionado anteriormente, os quais devemos ter conhecimento para criar estratégias de controlo e prevenção (Edwards, 2010).

Deste modo, os protocolos de prevenção têm como objetivo minimizar a exposição dos animais aos agentes patogénicos e aos fatores de risco (Wilson et al., 2017), maximizar a capacidade de resposta imunitária inata do animal, garantindo que os animais se encontram saudáveis e sob um manejo adequado e, maximizar a resposta imunitária adquirida através de administração de protocolos vacinais nas explorações (Constable et al., 2016; Urban & Grooms, 2012).

**Minimizar a exposição dos animais aos agentes patogénicos** é possível se criarmos protocolos de biossegurança, os quais revelam ter um impacto favorável no controlo de DRB. Nestes protocolos deve-se incluir: separação dos animais doentes e possivelmente infetados com os agentes de DRB dos animais saudáveis, separar os locais de alimentação e os bebedouros, ter o cuidado de comprar animais de explorações que não apresentam DRB e que apresentem protocolo vacinal, realizar um período de quarentena a todos os animais que entram na exploração, garantir a qualidade das instalações onde os animais se alojam (Callan & Garry, 2002; Urban & Grooms, 2012).

Um dos principais focos que devemos ter na prevenção de DRB é **maximizar a capacidade de resposta imunitária inata** do animal, de modo a promover que o animal seja capaz de controlar e combater qualquer doença com o seu próprio sistema imunitário (Yamaguchi et al., 2021). De forma a conseguirmos atingir este objetivo é essencial atuar nas mães dos futuros vitelos, através da realização de protocolos vacinais adequados antes e durante o período de gestação, para que a imunidade materna seja corretamente transmitida à cria (Dudek et al., 2014; Windeyer et al., 2017). O estado de saúde destas progenitoras deve ser o melhor possível, assim como estas devem estar livres

de qualquer fator de stresse e fator de risco. Um vitelo recém-nascido apresenta um sistema imunitário muito débil, pois a transferência passiva é realizada já fora da placenta através da ingestão de colostro, ao contrário do que acontece com outras espécies, como por exemplo no ser humano, que através da placenta existe a transferência passiva de imunidade materna (Day & Schultz, 2014).

Assim, o correto encolostramento é fundamental para gerar um sistema imunitário eficaz (Yamaguchi et al., 2021) e, para que tal seja possível de ser concretizado há vários fatores que devem ser tidos em conta e cumpridos: **momento de administração** do colostro é crucial, sendo que segundo a literatura deve ser realizado nas primeiras 6h de vida (ainda existe capacidade intestinal para absorver), sendo que é aconselhado que seja o mais perto da hora do nascimento; **quantidade de colostro** administrado é importante e deve ser por volta dos 4L; **qualidade do colostro** é um aspeto muito importante e muitas vezes esquecido, não importa se administramos a quantidade correta e no momento adequado se tivermos um mau colostro. De modo a conseguirmos ter um colostro de boa qualidade devemos de garantir que a recolha é realizada corretamente para não haver contaminação e que o seu acondicionamento (o colostro pode ser congelado) é o correto, para além disso devemos de avaliar a densidade do colostro com a ajuda de um refratómetro (Gorden & Plummer, 2010).

É possível **maximizar a resposta imunitária adquirida** ao realizarmos protocolos vacinais adequados, sendo que estes protocolos fazem parte dos protocolos de biossegurança da exploração. As vacinas são indicadas para prevenir o aparecimento de doença clínica e a transmissão dos agentes patogénicos. A utilização de protocolos vacinais é uma tarefa desafiante pois não existem vacinas contra todos os agentes, a eficácia das vacinas não é 100% e varia consoante a vacina utilizada. Existem vacinas contra vírus, bactérias e parasitas e existem vacinas que atuam contra vários agentes patogénicos em simultâneo e a escolha baseia-se no objetivo que cada exploração tem, no preço e, na eficácia que cada vacina garante. Adicionalmente, aplicar protocolos vacinais em vitelos é também complicado visto que não conhecemos totalmente o sistema imunitário dos vitelos, sendo este ainda muito imaturo e complexo, devendo de ter em conta que os vitelos bem encolostrados apresentam no início de vida imunidade materna, a qual vai conseguir combater os agentes patogénicos (Windeyer et al., 2012, 2017). A via de administração que tem mais eficácia a ultrapassar os anticorpos maternos, nestas idades, é a via intranasal sendo, deste modo, a mais utilizada nestes animais (Gorden & Plummer, 2010; Windeyer et al., 2017).

## 8. Impacto Económico

A doença respiratória bovina afeta de várias maneiras a indústria de produção de bovinos, quer seja de leite ou de carne, prejudicando, de forma geral, o desempenho do animal e, por este motivo, revela ter um impacto significativo na economia das explorações (Nobre, 2017; Peel, 2020). Como mencionado anteriormente, a DRB pode afetar qualquer animal, independentemente da idade e sexo. No setor de laticínios a doença respiratória bovina tem impacto nos seguintes aspetos:

- Crescimento e desenvolvimento do animal: independentemente do setor, um vitelo com DRB apresenta alterações no desenvolvimento e crescimento (Windeyer et al., 2012). Posto isto, o peso da carcaça será menor, levando à desvalorização económica da mesma. Para além disso, o crescimento e desenvolvimento adequados das vitelas é fundamental visto que estes animais serão, no futuro, as produtoras de leite da exploração e, estes dois fatores estão diretamente relacionados com a idade ao primeiro parto e com a capacidade produtiva do animal. Em suma, uma taxa de crescimento e desenvolvimento retardada, como acontece em animais com DRB, promove uma diminuição da produção de leite, um aumento da idade ao primeiro parto e desvalorização da carcaça (Hurst et al., 2022; Sivula et al., 1996; Virtala et al., 1996).
- Mortalidade: a doença respiratória bovina é considerada como a segunda causa mais comum de morte em vitelos recém-nascidos e a primeira após o desmame (Gorden & Plummer, 2010). Segundo estudos realizados em explorações de leite 20 a 50% da mortalidade é causada por DRB. Nas novilhas, a taxa de mortalidade pode aumentar cerca de seis vezes quando estamos perante DRB. Já nos animais mais velhos, a taxa de mortalidade com DRB pode rondar os 95% (Ames, 1997; Peel, 2020; Sivula et al., 1996). Numa exploração a perda de um animal significa perda financeira, sendo que é preocupante haver uma taxa de mortalidade elevada, principalmente na recria, pois isto significa que vamos ter menos animais a chegar a novilhas e os que chegam podem acabar por morrer nesta fase.
- Abate: bovinos leiteiros com episódios de doença respiratória bovina apresentam um risco superior aos bovinos leiteiros saudáveis de serem abatidos. Segundo Andrews (2004), a taxa de abate por pneumonia é de 3,6%. Este aumento é preocupante, principalmente nos animais jovens (vitelos e novilhas), pois as novilhas são o futuro da exploração pois acabarão por substituir as vacas produtoras e são um grande investimento da exploração.
- Fertilidade: ao nível da fertilidade o problema não está presente apenas nas fêmeas, mas também nos machos reprodutores que quando são afetados por DRB diminuem a qualidade do sémen (Wathes et al., 2020). No caso das fêmeas, Wathes et al. (2020) estudaram o impacto de

vários vírus na fertilidade, como o BHV-1, e concluiu que existe uma maior probabilidade de haver infecções uterinas e abortos.

- Idade ao primeiro parto: a idade ao primeiro parto nas Holstein Frísia foi relatada que costuma ser entre o 24 e os 25 meses de idade. Este fator é muito importante e um dos principais objetivos das explorações é conseguir colocar os partos dentro do intervalo ideal, isto porque há mais probabilidade de termos uma produção de leite ao longo da vida e lucratividade maximizada e, para além disto, diminui a probabilidade de partos distócicos. Adicionalmente, o intervalo entre partos é também muito importante, porque quanto menos tempo a vaca passar por fases improdutivas menor será a possibilidade de refugo. Por outro lado, a condição corporal da fêmea não pode ser colocada de parte, sendo um aspeto relevante para o primeiro parto. Desta forma, animais com DRB vai aumentar a idade ao primeiro parto, havendo custos associados a cada dia que o período é alongado (Hendrick et al., 2013; van der Fels-Klerx et al., 2002).
- Tratamento: sem dúvida que os custos médico veterinários para o tratamento dos animais doentes provocam um impacto financeiro direto (Blakebrough-Hall et al., 2020). Segundo Peel (2020), entre o ano 1999 e 2011 o custo do tratamento da doença respiratória bovina duplicou o preço. A prevenção e o diagnóstico precoce são a chave para minimizar estes custos. Contudo, os protocolos vacinais apresentam também custos elevados.
- Perda de produtividade: a capacidade produtiva do animal perante uma infeção encontra-se diminuída (Peel, 2020). No caso da DRB a infeção por BRSV demonstra ter um maior impacto na produção de leite.
- Qualidade do leite; a imunodepressão causada pela infeção do animal pelos agentes da DRB pode promover o aparecimento e surgimento de outras doenças, como mamites. Segundo o estudo de Ohlson et al. (2014), que pretendeu pesquisar a presença de BRSV e coronavírus no leite, nas explorações onde o leite se encontrava positivo a BRSV tinham as células somáticas mais elevadas, sendo que poderiam rondar as 218 000 cels/mL. Este fator é importante de ter em conta, pois um aumento no número das células somáticas indica uma diminuição na qualidade do leite e isto por sua vez provoca um efeito económico negativo.

## **Objetivos**

Cada vez mais se entende que o agente patogénico não é a única nem a principal origem de uma doença e, por este motivo, o estudo tem como objetivo perceber as principais causas que estão na origem do aparecimento de surtos de pneumonias nas explorações leiteiras e entender a evolução da doença respiratória perante os tratamentos desenvolvidos nas explorações em questão.

Adicionalmente, pretende-se perceber a importância da prevenção da Doença Respiratória Bovina através da realização de protocolos vacinais e de manejo dos animais da exploração corretos, de forma a compreender qual será a melhor abordagem que deve ser realizada perante um surto, com a intenção de garantirmos o bem-estar animal e minimizar as perdas económicas da exploração.

## **Material e Métodos**

Durante o período de 1 de fevereiro até 31 de março de 2022 foi realizado um estudo em 12 explorações leiteiras intensivas de Barcelos (explorações A-L). Em cada exploração avaliada, foi analisado um grupo de animais, onde todos os animais observados tinham idade inferior a 1 ano.

O estudo foi composto por duas fases, com objetivos diferentes: na primeira fase o objetivo era determinar a etiologia mais frequente nos surtos de pneumonia nas explorações estudadas (quais os agentes infecciosos presentes e, qual o mais comum) e na segunda fase, o objetivo era identificar a técnica que demonstra ter melhores resultados na diminuição/minimização dos casos de pneumonia nas explorações (tratamento clínico, protocolos vacinais ou manejo e, encolostramento adequado).

### **Fase 1**

Inicialmente, cada grupo de animais foi examinado recorrendo ao exame clínico, isto é, realização de anamnese, medição da temperatura retal, auscultação pulmonar, visualização da condição corporal dos animais, do seu aspeto (observação de corrimentos nasais ou oculares) e comportamento. No caso dos animais que já se encontravam mortos na exploração, foram realizadas necrópsias de campo de modo a investigar a causa da morte, quais os órgãos afetados e o tipo de lesões encontradas.

De seguida, com o objetivo de realizar exames complementares para auxiliar o diagnóstico clínico, foram recolhidas amostras aos animais mais afetados, ou seja, com sinais clínicos mais exuberantes e que ainda não tinham sido medicados, através de recolha de amostras de sangue e zaragatoas nasais. As amostras obtidas foram para laboratórios, os quais foram escolhidos pelos produtores de cada exploração: Segalab e OvisLab.

Os exames complementares que foram selecionados foram: exame serológico (ELISA) e a PCR, sendo que as explorações A, G, H, J, I realizaram o exame ELISA e as explorações B, C, D, E, F, K, L realizaram a técnica de PCR.

Nas explorações que realizaram o exame serológico pretendíamos encontrar a presença de anticorpos de possíveis agentes patogénicos nas amostras testadas. Por outro lado, através da realização do teste de PCR, pretendíamos detetar material genético de agentes infecciosos, isto é, identificar a presença do agente infeccioso no momento ou de uma infeção recente. Em suma, a realização de exames complementares teve como objetivo entender se os surtos de pneumonia das explorações analisadas seriam de causa infecciosa e, perceber qual o agente mais comum nas explorações, dentro dos seguintes:



BHV-1, BRSV, Coronavírus respiratório, PI3, *Mycoplasma bovis*, *Mannheimia haemolytica*, *Pasteurella multocida*.

## **Fase 2**

Perante os dados obtidos pela anamnese realizada na Fase 1 do estudo, foi realizada uma análise descritiva da percentagem de mortalidade, recorrendo aos dados de cada exploração, durante os surtos de pneumonia em cada exploração.

O ano de 2021 foi dividido em semestres, sendo que o primeiro semestre inclui os meses de janeiro a junho de 2021 e, o segundo semestre os meses de julho a dezembro de 2021. Adicionalmente, foi anotada também a percentagem de mortalidade no semestre de 2022, considerado o terceiro semestre do estudo, que inclui os meses de janeiro a abril de 2022. Este procedimento serviu de comparação e visualização dos resultados no final do estudo, pois o objetivo da segunda fase consistiu em compreender qual das técnicas demonstrava ter melhores resultados, ou seja, melhoria/diminuição dos surtos de pneumonia, sendo que neste estudo tiramos uma conclusão através da observação da evolução da percentagem de mortalidade ao longo do terceiro semestre e, a persistência de animais com quadro de pneumonia.

Durante as visitas às explorações foram observados outros fatores como: o manejo, o alojamento e o encolostramento, pois como foi mencionado anteriormente neste trabalho, são considerados possíveis fatores de risco que podem estar na origem do surto de DRB. Dentro deste parâmetro foram apenas avaliados os viteleiros e parque de recria, bem como, a sala de ordenha e maternidade. Pretendemos avaliar em cada um dos locais as condições de higiene, a qualidade da cama dos animais, a presença ou não de poeiras e correntes de ar nas instalações e o método de encolostramento.

Nas explorações onde o manejo era indesejável, foi recomendado realizar alterações nas falhas de cada exploração: alteração no manejo geral dos animais, corrigir as condições de higiene do estabelecimento (principalmente na sala de ordenha, maternidade, viteleiro e parque de recria), corrigir a qualidade da cama nos viteleiros e no parque de recria (cama adequada que deve estar seca, limpa e deve cobrir os cascos do vitelo), individualizar os viteleiros, isto é, ter apenas um animal em cada cama, mudar a localização do viteleiro para evitar a presença de poeiras e correntes de ar e, corrigir o método de encolostramento (medição da qualidade do colostro através de um refratrómetro,

administração do colostro durante as primeiras 6h de vida do vitelo, 4L e, repetir 12h depois, 2L, com garrafas higienizadas).

Contudo, nem todas as explorações cederam às indicações recomendadas, pelo que foram criados dois grupos (Tabela 3): Grupo 1, denominado “Explorações de Bom Maneio” onde encontramos as explorações que seguiram as indicações recomendadas e alteraram as condições de manejo indesejáveis e ainda realizaram o tratamento clínico e o protocolo vacinal - **C, D, H, I, L**; Grupo 2, denominado “Explorações de Mau Maneio, só Tratamento” onde encontramos as explorações que não alteraram as condições de manejo, apenas realizaram o tratamento clínico e aplicação dos protocolos vacinais - **A, B, E, F, G, J, K**.

*Tabela 3 – Grupos das explorações consoante a alteração de manejo.*

<b>Grupo</b>	<b>Explorações</b>	<b>Condições</b>
Grupo 1	C, D, H, I, L	Alteraram as condições de manejo indesejáveis Tratamento Clínico + Protocolo Vacinal
Grupo 2	A, B, E, F, G, J, K	Não alteraram as condições de manejo indesejáveis + Tratamento clínico + Protocolo Vacinal

De seguida, foram realizados tratamentos clínicos, tanto às explorações do Grupo 1 como às do Grupo 2, utilizando medicamentos que estão descritos na bibliografia científica como adequados para pneumonias em vitelos: a junção de dois antibióticos (Oxitetraciclina e Florfenicol) e um corticosteróide (Dexametasona) ou administração em dose única de um antibiótico (Tilmicosina) e um anti-inflamatório não esteróide (Cetoprofeno), nas doses recomendadas para doenças respiratórias em vitelos (Constable et al., 2016) (Tabela 4).

**Tabela 4-** Descrição dos fármacos utilizados no tratamento clínico dos animais com quadro clínico respiratório nas explorações analisadas.

<b>Fármaco</b>	<b>Grupo</b>	<b>Dose</b>
Dexametasona	Corticoesteróide	0,06 mg/Kg de peso corporal
Florfenicol	Antibiótico, Fenicol	20 mg/Kg de peso corporal
Oxitetraciclina	Antibiótico, Tetraciclina	20 mg/Kg de peso corporal
Tilmicosina	Antibiótico, Macrólido	10 mg/Kg de peso corporal
Cetoprofeno	Anti-inflamatório não esteróide	3 mg/Kg de peso corporal

Por último, foram colocados em prática protocolos vacinais contra o surto em questão e todos os outros agentes que podem facilitar a imunodepressão e, conseqüentemente, o aparecimento de DRB (como é o caso do vírus da BVD) tanto no Grupo 1 como no Grupo 2 do estudo. As vacinas utilizadas em cada exploração foram escolhidas consoante a preferência do produtor (Tabela 5).

**Tabela 5 -** Vacinas utilizadas durante o estudo, escolhidas pelos produtores das explorações.

<b>Vacina</b>	<b>Explorações</b>	<b>Laboratório</b>	<b>Dose</b>	<b>Agentes Infeciosos</b>
Bovilis Bovipast ®	A, C, D, F, G, I, L	MSD, Animal Health	5mL por animal	BRSV, PI3, <i>Mannheimia haemolytica</i>
Bovilis Intranasal ®	B, J, K	MSD, Animal Health	2mL por animal	BRSV, PI3
Bovilis IBR ®	B, I, J	MSD, Animal Health	2mL por animal	BHV-1
Hiprabovis Balance ®	B	HIPRA	3mL por animal	PI3, BRSV, BVD
Rispoval 4 ®	E, F, G, L	Zoetis	5mL por animal	IBR, BVD
Rispoval Pasteurella ®	H	Zoetis	2mL por animal	<i>Mannheimia haemolytica</i>
Bovilis Rotavec Corona ®	E	MSD, Animal Health	2mL por animal	Rotavírus e Coronavírus

Por fim, após terem sido realizadas alterações no manejo indesejável das explorações, de ter sido realizado tratamento clínico e protocolos vacinais, foram registados os resultados.

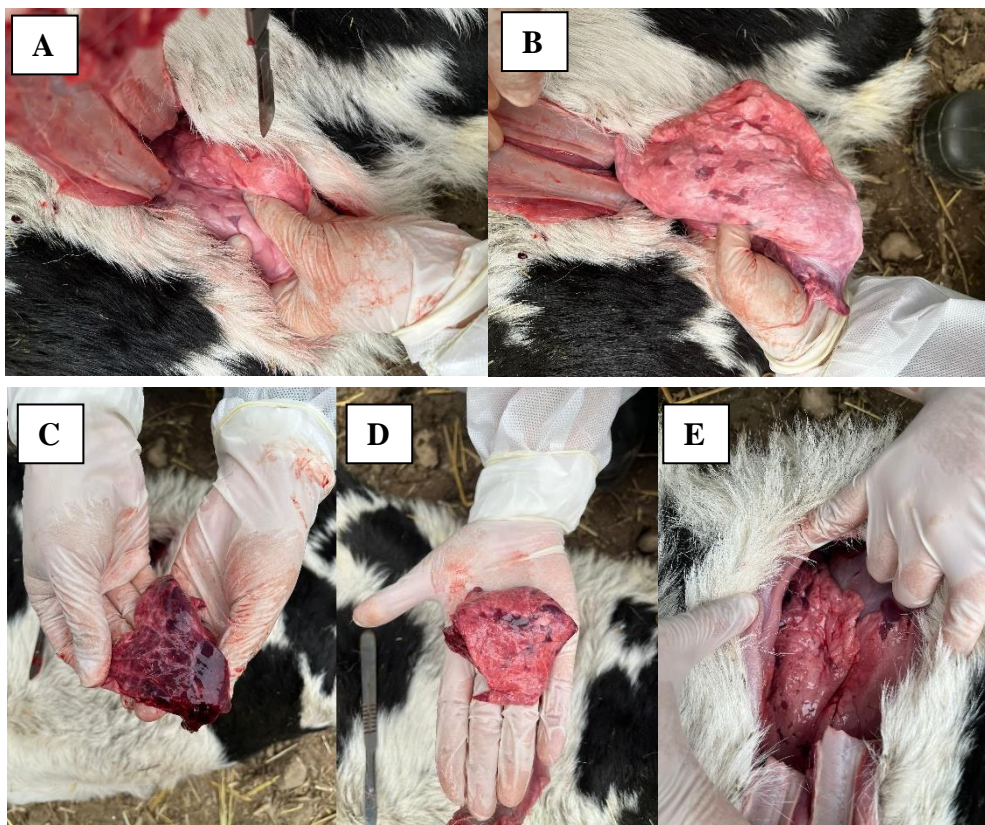
## Resultados

### Fase 1

Relativamente aos resultados do exame clínico efetuado aos animais de cada exploração, todos os grupos demonstraram ter sinais clínicos do quadro respiratório, apresentando nomeadamente: tosse (sinal clínico muitas vezes observado de forma natural, outras vezes através da palpação da traqueia do animal), espirros, corrimento nasal, respiração anormal (taquipneia) durante a auscultação pulmonar e observada também pelos barulhos realizados pelos animais, febre e elevado número de animais mortos.

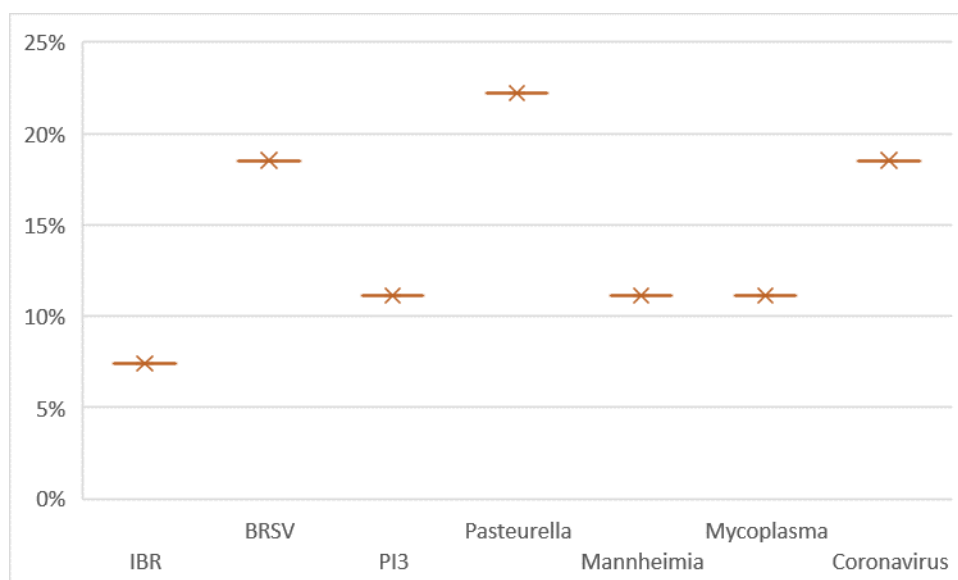
Durante a realização das necrópsias de campo que foram permitidas, a principal cavidade a ser estudada foi a cavidade torácica (Figura 3 (A)(E)), com o objetivo de observar os órgãos que fazem parte do sistema respiratório, ou seja, os pulmões. Em todas as necrópsias realizadas o órgão respiratório apresentava lesões, as quais eram caracterizadas por terem coloração diferente do tecido saudável (Figura 3 (B)(C)(D)) e, ao nível do toque, o órgão nesses locais encontrava-se mais denso, características típicas em animais com pneumonia.

**Figura 3** – Pulmões com áreas avermelhadas de tecido lesionado, comparativamente ao tecido saudável, mais claro, típico de Pneumonia. (A)(E) – Abertura da cavidade torácica com visualização do lobo direito do pulmão. (B)(C)(D) – Pulmão com cor heterogênea, com áreas mais escuras, avermelhadas de tecido lesionado e, áreas mais claras de tecido pulmonar saudável.



Através da realização dos exames complementares foi possível descobrir os agentes infecciosos que fazem parte da origem dos surtos de pneumonia das 12 explorações estudadas. O agente que apresentou maior ocorrência, comprovando ser o mais comum nos surtos avaliados foi a bactéria *Pasteurella multocida* (22,2%). Pelo contrário, o Herpesvírus Bovino 1 (7,4%) foi o que teve menos presente nas amostras analisadas. Os restantes agentes apareceram com a seguinte frequência: BRSV e Coronavírus respiratório com 18,5% 3, Parainfluenza 3, *Mannheimia haemolytica* e *Mycoplasma bovis* com 11,1% (Figura 4).

**Figura 4** – Percentagem dos agentes infecciosos presentes nas amostras analisadas pelos exames complementares ELISA e PCR nos laboratórios Segalab e OvisLab.



## Fase 2

Ao longo das visitas às 12 explorações, como mencionado anteriormente, foram observadas as condições das instalações e os métodos de manejo geral dos animais, bem como os métodos de encolostramento. Perante o que foi observado foi identificado que das 12 explorações estudadas 58% não realizava um manejo geral adequado e apenas 42% realizavam um bom manejo (Figura 5 e Tabela 6).

**Figura 5-** Percentagem de explorações que realizavam, no início do estudo, o manejo geral dos animais de forma correta e incorreta.



**Tabela 6** – Descrição da fase de produção e da qualidade do manejo e encolostramento das explorações visitadas.

<b>Exploração</b>	<b>Idade/Fase de produção</b>	<b>Manejo</b>	<b>Encolostramento</b>
A	Recria	Mau	Mau
B	Recria	Mau	Mau
C	Recria	Bom	-
D	Recria e Vacas produtoras	Bom	-
E	Recria	Mau	-
F	Recria	Mau	-
G	Recria	Mau	-
H	Recria	Bom	-
I	Recria	Bom	-
J	Recria	Mau	Mau
K	Recria	Mau	-
L	Recria	Bom	-

Após termos obtido os resultados anteriores sobre cada exploração, foram então aplicadas as sugestões de alterações do manejo em cada exploração e, perante a receptividade de cada produtor às alterações propostas foram criados os grupos 1 e 2 de estudo, como mencionados anteriormente. O tratamento clínico e os protocolos vacinais foram aplicados em ambos os grupos, sendo a nossa variável a “alteração do manejo geral”. Deste modo, tentou-se perceber se havia melhorias tanto no aparecimento de sinais clínicos nos animais como também diminuição do nível de animais mortos.

Relativamente aos sinais clínicos concluiu-se que através do tratamento clínico conseguimos diminuir a gravidade do quadro clínico que os animais doentes apresentavam, porém em alguns casos foi necessário recorrer à medicação novamente. Assim, entendemos que o tratamento clínico não é suficiente para diminuir/eliminar os surtos de pneumonia, apenas ajudam a controlar sintomatologia no momento.

Em relação ao número de mortos, através dos dados das explorações conseguimos obter a percentagem de mortalidade de cada exploração estudada, em cada semestre, como vimos na seguinte tabela (Tabela 7).

**Tabela 7** - Percentagem de óbitos durante os diferentes semestres de 2021 e 2022, nas diferentes explorações estudadas

<b>Exploração</b>	<b>1º semestre 2021 (%)</b>	<b>1º semestre 2021 (%)</b>	<b>3º semestre 2022 (%)</b>
A	16,67%	14,00%	20%
B	17,65%	15,00%	3,00%
C	22,22%	24,10%	41,18%
D	33,33%	43,00%	27,27%
E	11,39%	21,00%	33,00%
F	51,19%	64,29%	96,00%
G	31,25%	38,89%	22,72%
H	12,50%	19,23%	13,04%
I	26,03%	42,00%	41,00%
J	33,78%	44,06%	51,72%
K	26,32%	11,00%	15,00%
L	21,28%	40,91%	38,71%

Através dos resultados obtidos (Tabela 7) e ao focarmos na evolução das percentagens ao longo dos semestres, em cada exploração, percebemos que no total das explorações 41,7%, ou seja, 5 em 12 explorações, continuaram com um número crescente de mortes no 3º semestre do estudo. Deste resultado, apenas uma das explorações (exploração C) pertencia ao Grupo 1 – Explorações de Bom Maneio e, as restantes 4 explorações pertenciam ao Grupo 2 – Explorações de Mau Maneio, como vemos mais sintetizado nas tabelas seguintes (Tabela 8 e 9).

As restantes 7 explorações (o correspondente a 58,3%) demonstraram uma diminuição notória da percentagem de mortes durante os semestres, sendo que a maioria (4 em 7) pertenciam ao Grupo 1 – Explorações de Bom Maneio, como vemos mais sintetizado nas tabelas seguintes (Tabela 8 e 9).

**Tabela 8** - Percentagem de mortes nos diferentes semestres de 2021 e 2022 nas explorações que desempenham um bom maneio animal. Diminuição da percentagem de mortes em 2022 nas explorações D, H, I, L (resultado positivo).

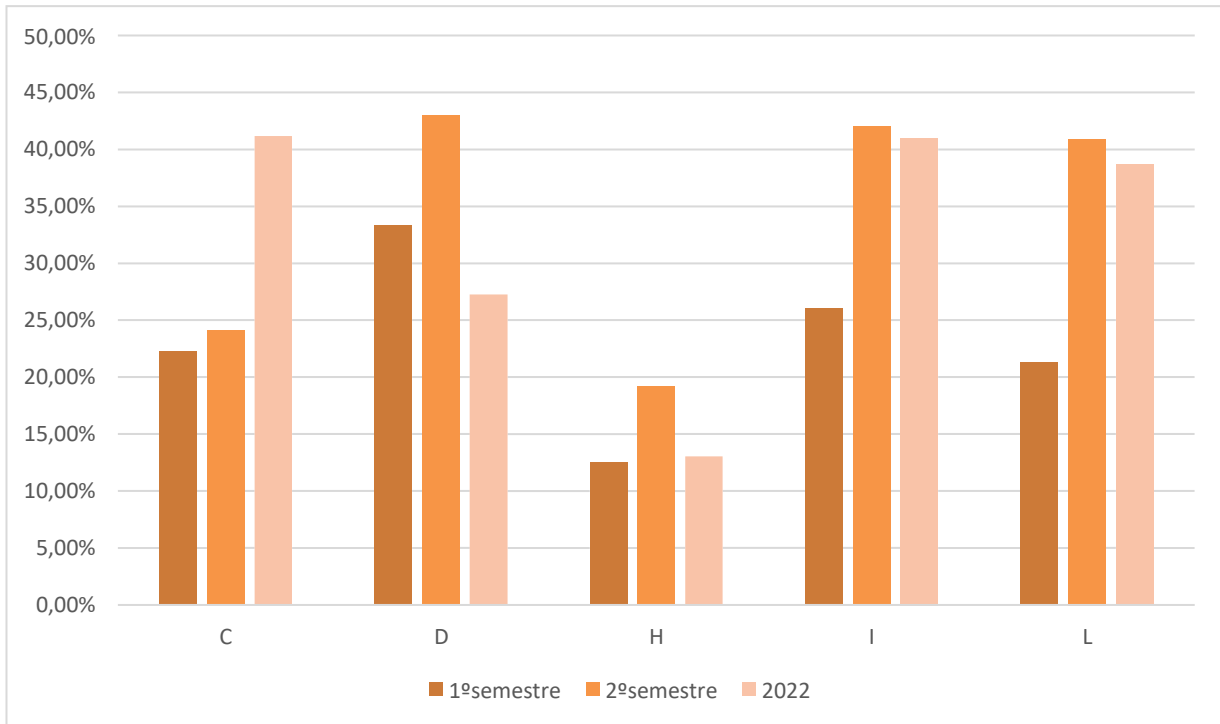
<b>Grupo 1</b>	<b>1º semestre 2021 (%)</b>	<b>1º semestre 2021 (%)</b>	<b>3º semestre 2022 (%)</b>	<b>Evolução da Percentagem</b>
C	22,22%	24,10%	41,18%	↑
D	33,33%	43,00%	27,27%	↓
H	12,50%	19,23%	13,04%	↓
I	26,03%	42,00%	41,00%	↓
L	21,28%	40,91%	38,71%	↓

**Tabela 9** - Percentagem de mortes nos diferentes semestres de 2021 e 2022 nas explorações que desempenham um mau maneio animal. Aumento da percentagem de mortes em 2022 nas explorações A, E, F e J (resultado negativo).

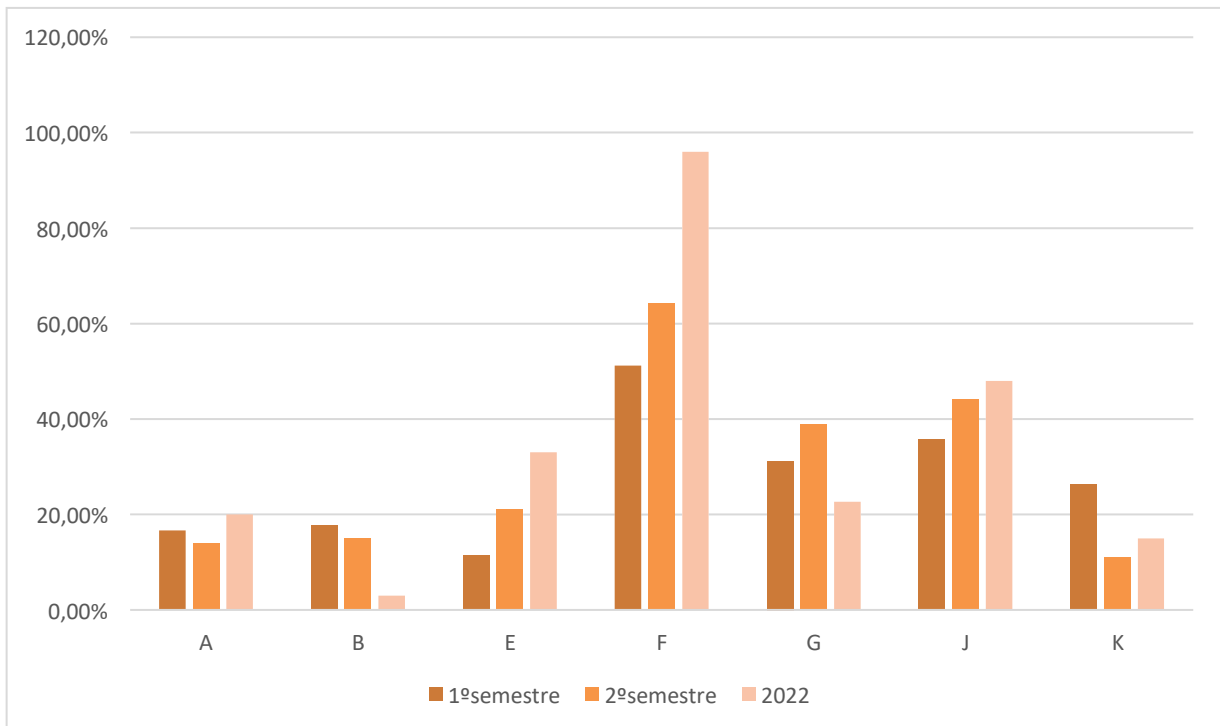
<b>Grupo 2</b>	<b>1º semestre 2021 (%)</b>	<b>1º semestre 2021 (%)</b>	<b>3º semestre 2022 (%)</b>	<b>Evolução da Percentagem</b>
A	16,67%	14,00%	20%	↑
B	17,65%	15,00%	3,00%	↓
E	11,39%	21,00%	33,00%	↑
F	51,19%	64,29%	96,00%	↑
G	31,25%	38,89%	22,72%	↓
J	35,71%	44,00%	48,00%	↑
K	26,32%	11,00%	15,00%	↓



**Figura 6 -** Percentagem (%) de mortos durante e após o surto de Pneumonia no Grupo 1 – Explorações de Bom Maneio.



**Figura 7 -** Percentagem (%) de mortos durante e após o surto de pneumonia no Grupo 2 – Explorações de Mau Maneio.



## Discussão

A Doença Respiratória Bovina (DRB) é um complexo importante de doenças multifatoriais que afetam tanto o trato respiratório superior como o trato respiratório inferior (os pulmões), onde está incluída a pneumonia (Baruch et al., 2019; Vandermeulen et al., 2016). A DRB é considerada das principais causas de morbidade e mortalidade em vitelos (Dubrovsky et al., 2020) e é um grande problema económico em todo o mundo, devido aos elevados custos associados à perda de produção, ao tratamento, perda de animais, entre outros fatores (Deepak et al., 2021; Pardon et al., 2020). Este complexo de doenças pode afetar animais de todas as idades, contudo, os vitelos são os mais afetados globalmente (Baruch et al., 2019).

No complexo respiratório bovino encontramos vários fatores que ajudam ao seu aparecimento como aspetos ambientais, aspetos individuais e os fatores infecciosos, sendo os agentes infecciosos são os mais conhecidos (Hay et al., 2016; Pratelli et al., 2021).

Os agentes infecciosos que fazem parte da etiologia da DRB são: *Mannheimia haemolytica*, *Pasteurella multocida*, *Histophilus somni*, *Mycoplasma bovis*, Herpesvírus Bovino 1 (BHV-1), o vírus Parainfluenza 3 (PI3), o vírus Respiratório Sincicial Bovino (BRSV), Coronavírus Bovino e o vírus da Diarreia Viral Bovina (BVDV) (Edwards, 2010; Peek et al., 2018).

Por outro lado, os aspetos ambientais não podem ser esquecidos como fatores de risco para o aparecimento de DRB (Karle et al., 2019). Nestes fatores incluímos os aspetos gerais do manejo animal como: o tipo de manejo (intensivo ou extensivo), densidade populacional e sua heterogeneidade, condições de higiene e características do alojamento, qualidade de nutrição, método de enconlostramento e presença ou não de stresse animal.

Relativamente às bactérias *Mannheimia haemolytica*, *Pasteurella multocida*, *Histophilus somni* e *Mycoplasma bovis*, são todas comensais ao hospedeiro, sendo que podemos encontrar as bactérias em animais saudáveis, sem sinais clínicos de doença respiratória. Estas bactérias provocam DRB, por exemplo, pneumonia, quando o hospedeiro se encontra imunodeprimido ou sob stresse, sendo classificadas como bactérias oportunistas. (Cozens et al., 2019; Harhay et al., 2021; Hasan & Hug, 2022).

Por outro lado, os vírus não são comensais ao animal mas, são muitas vezes os facilitadores do aparecimento de infeções bacterianas, pois apresentam ação imunodepressora facilitando a multiplicação das bactérias mencionadas (Jones, 2019). O Herpesvírus bovino – 1 é conhecido por ser

o agente causador da Rinotraqueíte Infeciosa Bovina (IBR) e tem um aspeto importante em que um animal infetado por BHV-1 é portador deste vírus para o resto da vida, mesmo não apresentando sinais clínicos (Mandelik et al., 2021). O vírus Parainfluenza 3 é encontrado em várias espécies para além dos bovinos e está muito associado a doença respiratória em animais jovens e adultos (Du et al., 2020, p. 3). Um vírus que é muito abordado pela bibliografia como dos principais agentes da DRB é o Vírus Respiratório Sincicial Bovino, que afeta maioritariamente e de forma mais grave os animais jovens (Gershwin, 2007), principalmente no inverno. O Coronavírus é um vírus muito abordado nas doenças do trato intestinal dos vitelos e de bovinos adultos, estando na etiologia da diarreia em vitelos e desinteria de inverno, nos adultos. Contudo, o coronavírus também apresenta capacidade de afetar o trato respiratório dos animais, sendo considerado um vírus pneumoentérico (Vlasova & Saif, 2021). Por último, o vírus da Diarreia Vírica Bovina, que entra nos agentes infecciosos que influenciam indiretamente o surgimento de doença respiratória, não sendo um agente primário, mas sim um potenciador do aparecimento do DRB. O BVD é um vírus imunodepressor que facilita a multiplicação bacteriana ou infeção vírica e, conseqüente aparecimento de DRB (Ridpath et al., 2020).

O estudo realizado em Barcelos em 2022 tem como objetivos entender qual o agente infeccioso mais comum nos surtos de pneumonia das 12 explorações visitadas e ainda entender a importância que a variável “Manejo animal” apresenta na diminuição dos casos de pneumonia e mortalidade por doença respiratória.

Relativamente aos resultados obtidos nos exames complementares realizados aos animais através da colheita e análise das amostras, a bactéria *Pasteurella multocida* revelou ser o agente infeccioso mais comum nos animais com sinais clínicos das 12 explorações estudadas. Por outro lado, o Hespervírus Bovino 1 revelou ser o menos comum nestes surtos. De acordo com o estudo realizado por Oliveira (2020), que tinha como objetivo diagnosticar os diversos agentes infecciosos que estariam presentes durante um surto de DRB, no Brasil, a bactéria *Pasteurella multocida* foi também o agente mais comum com 42,85% e, os agentes PI3, *Mannheimia haemolytica* e BHV-1 não apareceram nas amostras que o autor analisou. Por outro lado, as amostras colhidas não eram apenas de animais com sinais clínicos, mas também de animais assintomáticos e, nestes últimos, a bactéria *Pasteurella multocida* foi o agente mais presente neste grupo, mais uma vez, o que segundo o autor pode explicar a elevada percentagem da bactéria no estudo.

Num outro estudo realizado em Ghent, o agente Herpesvírus Bovino 1 não foi mencionado nos resultados das análises realizadas pelo autor, pelo que podemos concluir que não foi encontrado, indo de acordo ao estudo anterior e também ajuda a sustentar o facto de neste estudo ter sido o agente com

menos percentagem (Pardon et al., 2020). Em relação à bactéria *Pasteurella multocida*, esta volta a ser o agente com maior ocorrência, estando descrita pelo autor como uma bactéria “ubíqua”, encontrada em todos os grupos, porém, o autor acrescenta que a elevada percentagem pode dever-se ao facto desta bactéria poder estar presente em animais saudáveis e, posto isto, considera que no seu estudo o agente com maior impacto no surto foi o Coronavírus Bovino (Pardon et al., 2020).

No estudo aqui relatado, as amostras utilizadas para o diagnóstico dos agentes infecciosos são de animais com sinais clínicos evidentes de pneumonia e, portanto, associamos que a bactéria com maior percentagem seja, de facto, o principal agente presente na etiologia dos surtos das 12 explorações de Barcelos.

Seria interessante, contudo, realizar um estudo onde tentaríamos perceber se *Pasteurella multocida* é um agente que atua normalmente sozinho ou, como os estudos realizados por Angen et al.(2009) e Autio et al. (2007) sugerem, atua normalmente com outra bactéria ou vírus, através da sua característica de bactéria oportunista.

Na segunda fase do estudo, os resultados obtidos sugerem que a variável “Maneio Animal” é importante para conseguirmos visualizar melhorias nos surtos das explorações e, sugerem que as melhorias são mais difíceis de serem obtidas quando os produtores não têm em conta o manejo e as condições fornecidas aos animais na sua exploração, mesmo havendo tratamento clínico e execução dos protocolos vacinais, durante um surto de pneumonia, ou seja, o tratamento clínico e os protocolos vacinais não são, muitas vezes, suficientes para conseguirmos ver melhorias, sendo preciso adicionar o fator manejo animal.

A variável “Maneio Animal” inclui vários fatores como por exemplo, o encolostramento, as características do alojamento. Como já mencionado ao longo do trabalho, o correto encolostramento, através do armazenamento correto, fornecimento de colostro de boa qualidade e o horário de administração aos vitelos são fatores importantes e que estão incluídos num bom manejo dos animais mais pequenos. Segundo o estudo realizado por Lee et al. (2022), o mau encolostramento aumenta a possibilidade de doença respiratória nas explorações, sendo que os fatores mau aquecimento do colostro (facilita a presença de bactérias no colostro) e a administração nas horas erradas (diminui a imunidade passiva) foram os mais mencionados como promoverem ao aparecimento de DRB.

Relativamente às características do alojamento, o autor Lago et al. (2006) revela que a prevalência de doenças respiratórias em vitelos está muito associado às características das divisórias entre os alojamentos dos vitelos, sendo que uma divisória sólida é a mais eficaz a impedir a transmissão

por contacto direto dos agentes e ajuda a que a ventilação não seja em excesso. A ventilação adequada para permitir circulação do ar, a importância de ser apenas um vitelo por divisória e a qualidade da cama dos vitelos são também aspetos mencionados neste estudo que revelam diminuir a prevalência de DRB.

Ainda sobre as condições das instalações, foi proposta uma correta higienização das instalações da exploração, principalmente na maternidade, sala de ordenha e nos viteiros. Dubrovsky (2019) menciona no seu estudo o impacto que a mudança e limpeza da cama na maternidade tem no aparecimento de doenças respiratórias em vitelos.

Todos os aspetos mencionados vão de acordo com o que foi indicado aos produtores durante a fase 2 deste estudo e que, como vemos através dos resultados obtidos, demonstraram melhorar a prevalência de surtos de pneumonia em 4 das 5 explorações que realizaram as alterações (Grupo 1 – Explorações de Bom Maneio), ao contrário do que aconteceu nas explorações que não pretenderam alterar o manejo dos animais e manteve os aspetos negativos (Grupo 2 – Explorações com Mau Maneio).

## **Conclusão**

A Doença Respiratória Bovina, relatada neste estudo por casos de surto de pneumonia em 12 explorações no norte de Portugal, é ainda hoje uma das principais preocupações na indústria de produção de leite e de carne, por apresentar um elevado prejuízo económico devida à elevada mortalidade e morbilidade que proporciona e aos gastos financeiros em tratamentos clínicos, protocolos vacinais.

A procura da melhor técnica de prevenção da DRB ainda continua a ser estudada por muitos investigadores, pois este complexo de doenças é uma das principais vias de utilização de antibióticos em excesso, através do tratamento empírico. Ao longo deste trabalho, entendemos a importância do diagnóstico correto do agente etiológico da DRB, de modo a evitarmos o excesso e o uso inadequado de antibióticos.

Por outro lado, para além de pesquisarmos os principais agentes a participarem nos surtos de pneumonia das 12 explorações, pesquisou-se sobre as técnicas que podem auxiliar a diminuição e prevenção da pneumonia e restantes doenças respiratórias. Esta pesquisa serviu também para reforçar a ideia de que a etiologia da doença respiratória bovina é multifatorial e não é somente causada pelos agentes infecciosos, que são, por norma, a causa mais conhecida. O estudo realizado sugere que outros fatores como: manejo geral dos animais e os protocolos vacinais, têm um papel importante no aparecimento de surtos de pneumonia.

Adicionalmente, devemos de promover conhecimento aos produtores de modo que estes consigam sinalizar o princípio de doenças respiratórias e, para além disso, ajudá-los a entender que a prevenção (manejo, bem-estar e vacinação) é a chave para impedir o aparecimento de surtos de DRB, contribuindo para a redução da quantidade de antibióticos e, conseqüentemente, perdas económicas, promovendo ao aumento dos lucros na exploração.

## Referências Bibliográficas

- Achard, D., Caruso-Vares, A., Collin, J.-F., McKelvie, J., Reddick, D., & Ramage, C. (2018). Treatment of experimentally induced bovine respiratory disease in young calves with a single administration of a combination of florfenicol and meloxicam. *The Veterinary Record*, *183*(17), 535. <https://doi.org/10.1136/vr.104795>
- Ackermann, M. R., Derscheid, R., & Roth, J. A. (2010). Innate Immunology of Bovine Respiratory Disease. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, *26*(2), 215–228. <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2010.03.001>
- Affonso, I. B., Gatti, S. P., Medeiros, A. S. R. de, Buzinaro, M. da G., & Samara, S. I. (2012). ATIVIDADE VIRAL DO VÍRUS RESPIRATÓRIO SINCICIAL BOVINO (BRSV) EM BEZERROS LEITEIROS. *Ciência Animal Brasileira*, *13*(2), 252–258. <https://doi.org/10.5216/cab.v13i2.10318>
- Albayrak, H., Yazici, Z., Ozan, E., Tamer, C., Abd El Wahed, A., Wehner, S., Ulrich, K., & Weidmann, M. (2019). Characterisation of the First Bovine Parainfluenza Virus 3 Isolate Detected in Cattle in Turkey. *Veterinary Sciences*, *6*(2), E56. <https://doi.org/10.3390/vetsci6020056>
- Ames, T. R. (1997). Dairy Calf Pneumonia. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, *13*(3), 379–391. [https://doi.org/10.1016/S0749-0720\(15\)30303-0](https://doi.org/10.1016/S0749-0720(15)30303-0)
- Andrews, A. H. (Ed.). (2004). *Bovine medicine* (2. ed). Blackwell Science.
- Angen, Ø., Thomsen, J., Larsen, L. E., Larsen, J., Kokotovic, B., Heegaard, P. M. H., & Enemark, J. M. D. (2009). Respiratory disease in calves: Microbiological investigations on trans-tracheally aspirated bronchoalveolar fluid and acute phase protein response. *Veterinary Microbiology*, *137*(1–2), 165–171. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2008.12.024>

- Askar, H., Chen, S., Hao, H., Yan, X., Ma, L., Liu, Y., & Chu, Y. (2021). Immune Evasion of *Mycoplasma bovis*. *Pathogens (Basel, Switzerland)*, *10*(3), 297. <https://doi.org/10.3390/pathogens10030297>
- Autio, T., Pohjanvirta, T., Holopainen, R., Rikula, U., Pentikäinen, J., Huovilainen, A., Rusanen, H., Soveri, T., Sihvonen, L., & Pelkonen, S. (2007). Etiology of respiratory disease in non-vaccinated, non-medicated calves in rearing herds. *Veterinary Microbiology*, *119*(2), 256–265. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2006.10.001>
- Banse, H., Woolums, A., & Step, D. L. (2014). *A review of host pulmonary defenses with reference to cattle*. *48*(1), 13.
- Barry, J., Bokkers, E. a. M., de Boer, I. J. M., & Kennedy, E. (2020). Pre-weaning management of calves on commercial dairy farms and its influence on calf welfare and mortality. *Animal: An International Journal of Animal Bioscience*, *14*(12), 2580–2587. <https://doi.org/10.1017/S1751731120001615>
- Baruch, J., Cernicchiaro, N., Cull, C. A., Lechtenberg, K. F., Nickell, J. S., & Renter, D. G. (2019). Performance of multiple diagnostic methods in assessing the progression of bovine respiratory disease in calves challenged with infectious bovine rhinotracheitis virus and Mannheimia haemolytica1. *Journal of Animal Science*, *97*(6), 2357–2367. <https://doi.org/10.1093/jas/skz107>
- Bertoni, G., Minuti, A., Trevisi, E., Bertoni, G., Minuti, A., & Trevisi, E. (2015). Immune system, inflammation and nutrition in dairy cattle. *Animal Production Science*, *55*(7), 943–948. <https://doi.org/10.1071/AN14863>
- Beveridge, J. D., Mitchell, G. B., Brewer, D., Clark, M. E., & Caswell, J. L. (2008). Altered protein expression in neutrophils of calves treated with dexamethasone. *Canadian Journal of Veterinary Research = Revue Canadienne De Recherche Veterinaire*, *72*(3), 249–252.



- Blakebrough-Hall, C., McMeniman, J. P., & González, L. A. (2020). An evaluation of the economic effects of bovine respiratory disease on animal performance, carcass traits, and economic outcomes in feedlot cattle defined using four DRB diagnosis methods. *Journal of Animal Science*, 98(2), skaa005. <https://doi.org/10.1093/jas/skaa005>
- Burciaga-Robles, L. O., Step, D. L., Krehbiel, C. R., Holland, B. P., Richards, C. J., Montelongo, M. A., Confer, A. W., & Fulton, R. W. (2010). Effects of exposure to calves persistently infected with bovine viral diarrhea virus type 1b and subsequent infection with *Mannheimia haemolytica* on clinical signs and immune variables: Model for bovine respiratory disease via viral and bacterial interaction<sup>1,2</sup>. *Journal of Animal Science*, 88(6), 2166–2178. <https://doi.org/10.2527/jas.2009-2005>
- Burdick, N. C., Randel, R. D., Carroll, J. A., & Welsh, T. H. (2011). Interactions between Temperament, Stress, and Immune Function in Cattle. *International Journal of Zoology*, 2011, 1–9. <https://doi.org/10.1155/2011/373197>
- Cai, Y., Varasteh, S., van Putten, J. P. M., Folkerts, G., & Braber, S. (2020). *Mannheimia haemolytica* and lipopolysaccharide induce airway epithelial inflammatory responses in an extensively developed ex vivo calf model. *Scientific Reports*, 10(1), 13042. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-69982-0>
- Callan, R. J., & Garry, F. B. (2002). Biosecurity and bovine respiratory disease. *Veterinary Clinics: Food Animal Practice*, 18(1), 57–77. [https://doi.org/10.1016/S0749-0720\(02\)00004-X](https://doi.org/10.1016/S0749-0720(02)00004-X)
- Caswell, J. L., & Archambault, M. (2007). *Mycoplasma bovis* pneumonia in cattle. *Animal Health Research Reviews*, 8(2), 161–186. <https://doi.org/10.1017/S1466252307001351>
- Caswell, J. L., Hewson, J., Slavić, Đ., DeLay, J., & Bateman, K. (2012). Laboratory and Postmortem Diagnosis of Bovine Respiratory Disease. *Veterinary Clinics: Food Animal Practice*, 28(3), 419–441. <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2012.07.004>

- Chai, J., Capik, S. F., Kegley, B., Richeson, J. T., Powell, J. G., & Zhao, J. (2022). Bovine respiratory microbiota of feedlot cattle and its association with disease. *Veterinary Research*, *53*, 4. <https://doi.org/10.1186/s13567-021-01020-x>
- Coetzee, J. F., Cernicchiaro, N., Sidhu, P. K., & Kleinhenz, M. D. (2020). Association between antimicrobial drug class selection for treatment and retreatment of bovine respiratory disease and health, performance, and carcass quality outcomes in feedlot cattle. *Journal of Animal Science*, *98*(4), skaa109. <https://doi.org/10.1093/jas/skaa109>
- Confer, A. W. (2009). Update on bacterial pathogenesis in DRB. *Animal Health Research Reviews*, *10*(2), 145–148. <https://doi.org/10.1017/S1466252309990193>
- Confer, A. W., & Ayalew, S. (2018). *Mannheimia haemolytica* in bovine respiratory disease: Immunogens, potential immunogens, and vaccines. *Animal Health Research Reviews*, *19*(2), 79–99. <https://doi.org/10.1017/S1466252318000142>
- Constable, P. D., Hinchcliff, K. W., Done, S. H., & Gruenberg, W. (2016). *Veterinary Medicine: A textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs and goats*. Elsevier Health Sciences.
- Cooper, V. L., & Brodersen, B. W. (2010). Respiratory Disease Diagnostics of Cattle. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, *26*(2), 409–416. <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2010.04.009>
- Cozens, D., Sutherland, E., Lauder, M., Taylor, G., Berry, C. C., & Davies, R. L. (2019). Pathogenic *Mannheimia haemolytica* Invades Differentiated Bovine Airway Epithelial Cells. *Infection and Immunity*, *87*(6), e00078-19. <https://doi.org/10.1128/IAI.00078-19>
- Dabo, S. M., Taylor, J. D., & Confer, A. W. (2007). *Pasteurella multocida* and bovine respiratory disease. *Animal Health Research Reviews*, *8*(2), 129–150. <https://doi.org/10.1017/S1466252307001399>
- Day, M. J., & Schultz, R. D. (2014). *Veterinary Immunology: Principles and Practice, Second Edition*. CRC Press.

- De Brun, L., Leites, M., Furtado, A., Campos, F., Roehe, P., & Puentes, R. (2021). Field Evaluation of Commercial Vaccines against Infectious Bovine Rhinotracheitis (Ibr) Virus Using Different Immunization Protocols. *Vaccines*, *9*(4), 408. <https://doi.org/10.3390/vaccines9040408>
- de Oliveira, L. G., Mechler-Dreibi, M. L., Almeida, H. M. S., & Gatto, I. R. H. (2020). Bovine Viral Diarrhea Virus: Recent Findings about Its Occurrence in Pigs. *Viruses*, *12*(6), E600. <https://doi.org/10.3390/v12060600>
- Deepak, null, Aly, S. S., Love, W. J., Blanchard, P. C., Crossley, B., Van Eenennaam, A. L., & Lehenbauer, T. W. (2021). Etiology and risk factors for bovine respiratory disease in pre-weaned calves on California dairies and calf ranches. *Preventive Veterinary Medicine*, *197*, 105506. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2021.105506>
- Dobson, H., Tebble, J. E., Smith, R. F., & Ward, W. R. (2001). Is stress really all that important? *Theriogenology*, *55*(1), 65–73. [https://doi.org/10.1016/S0093-691X\(00\)00446-5](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(00)00446-5)
- Du, X., He, W., He, H., & Wang, H. (2020). Beta-catenin inhibits bovine parainfluenza virus type 3 replication via innate immunity pathway. *BMC Veterinary Research*, *16*(1), 72. <https://doi.org/10.1186/s12917-020-02291-w>
- Dubrovsky, S. A., Van Eenennaam, A. L., Aly, S. S., Karle, B. M., Rossitto, P. V., Overton, M. W., Lehenbauer, T. W., & Fadel, J. G. (2020). Prewaning cost of bovine respiratory disease (DRB) and cost-benefit of implementation of preventative measures in calves on California dairies: The DRB 10K study. *Journal of Dairy Science*, *103*(2), 1583–1597. <https://doi.org/10.3168/jds.2018-15501>
- Dubrovsky, S. A., Van Eenennaam, A. L., Karle, B. M., Rossitto, P. V., Lehenbauer, T. W., & Aly, S. S. (2019a). Bovine respiratory disease (DRB) cause-specific and overall mortality in preweaned calves on California dairies: The DRB 10K study. *Journal of Dairy Science*, *102*(8), 7320–7328. <https://doi.org/10.3168/jds.2018-15463>

- Dubrovsky, S. A., Van Eenennaam, A. L., Karle, B. M., Rossitto, P. V., Lehenbauer, T. W., & Aly, S. S. (2019b). Epidemiology of bovine respiratory disease (DRB) in preweaned calves on California dairies: The DRB 10K study. *Journal of Dairy Science*, *102*(8), 7306–7319. <https://doi.org/10.3168/jds.2018-14774>
- Dudek, K., Bednarek, D., Ayling, R. D., & Szacawa, E. (2014). Stimulation and analysis of the immune response in calves from vaccinated pregnant cows. *Research in Veterinary Science*, *97*(1), 32–37. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2014.04.005>
- Dudek, K., Nicholas, R. A. J., Szacawa, E., & Bednarek, D. (2020). Mycoplasma bovis Infections- Occurrence, Diagnosis and Control. *Pathogens (Basel, Switzerland)*, *9*(8), E640. <https://doi.org/10.3390/pathogens9080640>
- Dudek, K., & Szacawa, E. (2020). Mycoplasma bovis Infections: Occurrence, Pathogenesis, Diagnosis and Control, Including Prevention and Therapy. *Pathogens (Basel, Switzerland)*, *9*(12), E994. <https://doi.org/10.3390/pathogens9120994>
- Edwards, T. A. (2010). Control Methods for Bovine Respiratory Disease for Feedlot Cattle. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, *26*(2), 273–284. <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2010.03.005>
- Ellis, J. (2019). What is the evidence that bovine coronavirus is a biologically significant respiratory pathogen in cattle? *The Canadian Veterinary Journal = La Revue Veterinaire Canadienne*, *60*(2), 147–152.
- Ellis, J. A. (2010). Bovine Parainfluenza-3 Virus. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, *26*(3), 575–593. <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2010.08.002>
- Fulton, R. W. (2020). Viruses in Bovine Respiratory Disease in North America. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, *36*(2), 321–332. <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2020.02.004>

- Fulton, R. W., & Confer, A. W. (2012). Laboratory test descriptions for bovine respiratory disease diagnosis and their strengths and weaknesses: Gold standards for diagnosis, do they exist? *The Canadian Veterinary Journal*, 53(7), 754–761.
- Garcia, A. D., & Daly, R. (2010). *Respiratory disease in young dairy calves*. 6.
- Gelgie, A. E., Korsá, M. G., & Kerro Dego, O. (2022). Mycoplasma bovis Mastitis. *Current Research in Microbial Sciences*, 3, 100123. <https://doi.org/10.1016/j.crmicr.2022.100123>
- Gershwin, L. J. (2007). Bovine respiratory syncytial virus infection: Immunopathogenic mechanisms. *Animal Health Research Reviews*, 8(2), 207–213. <https://doi.org/10.1017/S1466252307001405>
- Gershwin, L. J. (2012). Immunology of bovine respiratory syncytial virus infection of cattle. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*, 35(3), 253–257. <https://doi.org/10.1016/j.cimid.2012.01.005>
- Gille, L., Evrard, J., Callens, J., Supré, K., Grégoire, F., Boyen, F., Haesebrouck, F., Deprez, P., & Pardon, B. (2020). The presence of Mycoplasma bovis in colostrum. *Veterinary Research*, 51(1), 54. <https://doi.org/10.1186/s13567-020-00778-w>
- Godden, S. (2008). Colostrum Management for Dairy Calves. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 24(1), 19–39. <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2007.10.005>
- Godden, S. M., Lombard, J. E., & Woolums, A. R. (2019). Colostrum Management for Dairy Calves. *The Veterinary Clinics of North America. Food Animal Practice*, 35(3), 535–556. <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2019.07.005>
- Goldspink, L. K., Mollinger, J. L., Barnes, T. S., Groves, M., Mahony, T. J., & Gibson, J. S. (2015). Antimicrobial susceptibility of Histophilus somni isolated from clinically affected cattle in Australia. *Veterinary Journal (London, England: 1997)*, 203(2), 239–243. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2014.12.008>

- Gomez-Romero, N., Ridpath, J. F., Basurto-Alcantara, F. J., & Verdugo-Rodriguez, A. (2021). Bovine Viral Diarrhea Virus in Cattle From Mexico: Current Status. *Frontiers in Veterinary Science*, 8, 673577. <https://doi.org/10.3389/fvets.2021.673577>
- Gorden, P. J., & Plummer, P. (2010). Control, Management, and Prevention of Bovine Respiratory Disease in Dairy Calves and Cows. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 26(2), 243–259. <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2010.03.004>
- Graham, D. A. (2013). Bovine herpes virus-1 (BoHV-1) in cattle-a review with emphasis on reproductive impacts and the emergence of infection in Ireland and the United Kingdom. *Irish Veterinary Journal*, 66(1), 15. <https://doi.org/10.1186/2046-0481-66-15>
- Guzman, E., & Taylor, G. (2015). Immunology of bovine respiratory syncytial virus in calves. *Molecular Immunology*, 66(1), 48–56. <https://doi.org/10.1016/j.molimm.2014.12.004>
- Haapala, V., Vähänikkilä, N., Kulkas, L., Tuunainen, E., Pohjanvirta, T., Autio, T., Pelkonen, S., Soveri, T., & Simojoki, H. (2021). Mycoplasma bovis infection in dairy herds-Risk factors and effect of control measures. *Journal of Dairy Science*, 104(2), 2254–2265. <https://doi.org/10.3168/jds.2020-18814>
- Harhay, G. P., Harhay, D. M., Brader, K. D., & Smith, T. P. L. (2021). A Conserved Histophilus somni 23S Intervening Sequence Yields Functional, Fragmented 23S rRNA. *Microbiology Spectrum*, 9(3), e0143121. <https://doi.org/10.1128/Spectrum.01431-21>
- Harper, M., & Boyce, J. D. (2017). The Myriad Properties of Pasteurella multocida Lipopolysaccharide. *Toxins*, 9(8), E254. <https://doi.org/10.3390/toxins9080254>
- Hasan, J., & Hug, M. (2022). Pasteurella Multocida. Em *StatPearls*. StatPearls Publishing. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK557629/>
- Hay, K. E., Morton, J. M., Mahony, T. J., Clements, A. C. A., & Barnes, T. S. (2016). Associations between animal characteristic and environmental risk factors and bovine respiratory disease in

Australian feedlot cattle. *Preventive Veterinary Medicine*, 125, 66–74.  
<https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2016.01.013>

Heinemann, C., Leubner, C. D., Hayer, J. J., & Steinhoff-Wagner, J. (2021). Hygiene management in newborn individually housed dairy calves focusing on housing and feeding practices. *Journal of Animal Science*, 99(1), skaa391. <https://doi.org/10.1093/jas/skaa391>

Hellenbrand, K. M., Forsythe, K. M., Rivera-Rivas, J. J., Czuprynski, C. J., & Aulik, N. A. (2013). *Histophilus somni* causes extracellular trap formation by bovine neutrophils and macrophages. *Microbial Pathogenesis*, 54, 67–75. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2012.09.007>

Hendrick, S. H., Bateman, K. G., & Rosengren, L. B. (2013). The effect of antimicrobial treatment and preventive strategies on bovine respiratory disease and genetic relatedness and antimicrobial resistance of *Mycoplasma bovis* isolates in a western Canadian feedlot. *The Canadian Veterinary Journal = La Revue Veterinaire Canadienne*, 54(12), 1146–1156.

Hou, P., Wang, H., Zhao, G., He, C., & He, H. (2017). Rapid detection of infectious bovine Rhinotracheitis virus using recombinase polymerase amplification assays. *BMC Veterinary Research*, 13(1), 386. <https://doi.org/10.1186/s12917-017-1284-0>

Hurst, T. S., Neves, R. C., & Boerman, J. P. (2022). Early life indicators of first lactation milk yield and the effect of treatment for bovine respiratory disease on survivability and risk of pregnancy in Holstein dairy cattle. *The Veterinary Journal*, 282, 105826.  
<https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2022.105826>

İnce, Ö. B., Şevik, M., Özgür, E. G., & Sait, A. (2021). Risk factors and genetic characterization of bovine respiratory syncytial virus in the inner Aegean Region, Turkey. *Tropical Animal Health and Production*, 54(1), 4. <https://doi.org/10.1007/s11250-021-03022-5>

Jamali, H., Rezagholipour, M., Fallah, S., Dadrasnia, A., Chelliah, S., Velappan, R. D., Wei, K. S. C., & Ismail, S. (2014). Prevalence, characterization and antibiotic resistance of *Pasteurella*

- multocida isolated from bovine respiratory infection. *The Veterinary Journal*, 202(2), 381–383. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2014.07.024>
- Jones, C. (2019). Bovine Herpesvirus 1 Counteracts Immune Responses and Immune-Surveillance to Enhance Pathogenesis and Virus Transmission. *Frontiers in Immunology*, 10, 1008. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.01008>
- Karle, B. M., Maier, G. U., Love, W. J., Dubrovsky, S. A., Williams, D. R., Anderson, R. J., Van Eenennaam, A. L., Lehenbauer, T. W., & Aly, S. S. (2019). Regional management practices and prevalence of bovine respiratory disease in California's preweaned dairy calves. *Journal of Dairy Science*, 102(8), 7583–7596. <https://doi.org/10.3168/jds.2018-14775>
- Kenneth V Nordlund. (2007). Housing Factors to Optimize Respiratory Health of Calves in Naturally Ventilated Calf Barns in Winter. *Sixth International Dairy Housing Conference Proceeding, 16-18 June 2007, (Minneapolis, Minnesota) (Electronic Only)*. Sixth International Dairy Housing Conference Proceeding, 16-18 June 2007, (Minneapolis, Minnesota) (Electronic Only). <https://doi.org/10.13031/2013.22789>
- Kuralkar, P. (2010). Nutritional and Immunological Importance of Colostrum for the new born. *Veterinary World*, 3.
- Lago, A., McGuirk, S. M., Bennett, T. B., Cook, N. B., & Nordlund, K. V. (2006). Calf respiratory disease and pen microenvironments in naturally ventilated calf barns in winter. *Journal of Dairy Science*, 89(10), 4014–4025. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(06\)72445-6](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(06)72445-6)
- Larsen, L. E. (2000). Bovine respiratory syncytial virus (BRSV): A review. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 41(1), 1–24.
- Leal, É., Liu, C., Zhao, Z., Deng, Y., Villanova, F., Liang, L., Li, J., & Cui, S. (2019). Isolation of a Divergent Strain of Bovine Parainfluenza Virus Type 3 (BPIV3) Infecting Cattle in China. *Viruses*, 11(6), E489. <https://doi.org/10.3390/v11060489>



- Lee, H.-H., Thongrueang, N., Liu, S.-S., Hsu, H.-Y., & Tsai, Y.-L. (2022). Prevalence of respiratory bacterial pathogens and associated management factors in dairy calves in Taiwan. *The Journal of Veterinary Medical Science*, 84(7), 946–953. <https://doi.org/10.1292/jvms.22-0056>
- Lopez, A. J., & Heinrichs, A. J. (2022). Invited review: The importance of colostrum in the newborn dairy calf. *Journal of Dairy Science*, 105(4), 2733–2749. <https://doi.org/10.3168/jds.2020-20114>
- Lotfollahzadeh, S., Madadgar, O., Reza Mohebbi, M., Reza Mokhber Dezfouli, M., & George Watson, D. (2020). Bovine coronavirus in neonatal calf diarrhoea in Iran. *Veterinary Medicine and Science*, 6(4), 686–694. <https://doi.org/10.1002/vms3.277>
- Love, W. J., Lehenbauer, T. W., Kass, P. H., Eenennaam, A. L. V., & Aly, S. S. (2014). Development of a novel clinical scoring system for on-farm diagnosis of bovine respiratory disease in pre-weaned dairy calves. *PeerJ*, 2, e238. <https://doi.org/10.7717/peerj.238>
- Mahendran, S. A. (2020). Use of fever detection in combination with thoracic ultrasonography to identify respiratory disease, and compare treatments of antimicrobials and NSAID: A randomised study in dairy calves. *Veterinary Record Open*, 7(1), e000415. <https://doi.org/10.1136/vetreco-2020-000415>
- Mandelik, R., Bires, J., Ozsvari, L., Hodnik, J. J., & Vilcek, S. (2021). Infectious Bovine Rhinotracheitis Control Program in Slovakia. *Frontiers in Veterinary Science*, 8, 675521. <https://doi.org/10.3389/fvets.2021.675521>
- Mason, C., Errington, J., Foster, G., Thacker, J., Grace, O., & Baxter-Smith, K. (2022). Mannheimia haemolytica serovars associated with respiratory disease in cattle in Great Britain. *BMC Veterinary Research*, 18(1), 5. <https://doi.org/10.1186/s12917-021-03121-3>
- Mason, W. A., Cuttance, E. L., & Laven, R. A. (2022). The transfer of passive immunity in calves born at pasture. *Journal of Dairy Science*, 105(7), 6271–6289. <https://doi.org/10.3168/jds.2021-21460>

- Maunsell, F. p., Woolums, A. r., Francoz, D., Rosenbusch, R. f., Step, D. l., Wilson, D. j., & Janzen, E. d. (2011). Mycoplasma bovis Infections in Cattle. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 25(4), 772–783. <https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2011.0750.x>
- McEwen, S. A., & Collignon, P. J. (2018). Antimicrobial Resistance: A One Health Perspective. *Microbiology Spectrum*, 6(2). <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.ARBA-0009-2017>
- McGuirk, S. M., & Collins, M. (2004). Managing the production, storage, and delivery of colostrum. *Veterinary Clinics: Food Animal Practice*, 20(3), 593–603. <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2004.06.005>
- McGuirk, S. M., & Peek, S. F. (2014). Timely diagnosis of dairy calf respiratory disease using a standardized scoring system. *Animal Health Research Reviews*, 15(2), 145–147. <https://doi.org/10.1017/S1466252314000267>
- Mosier, D. (2015). Review of DRB pathogenesis: The old and the new. *Animal Health Research Reviews*, 15(2), 166–168. <https://doi.org/10.1017/S1466252314000176>
- Nobre, D. M. A. (2017). *CONSTITUIÇÃO DO JÚRI*. 142.
- Ohlson, A., Blanco-Penedo, I., & Fall, N. (2014). Comparison of Bovine coronavirus–specific and Bovine respiratory syncytial virus–specific antibodies in serum versus milk samples detected by enzyme-linked immunosorbent assay. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 26(1), 113–116. <https://doi.org/10.1177/1040638713509377>
- Oliveira, V. H. S., Dall Agnol, A. M., Fritzen, J. T. T., Lorenzetti, E., Alfieri, A. A., & Alfieri, A. F. (2020). Microbial diversity involved in the etiology of a bovine respiratory disease outbreak in a dairy calf rearing unit. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*, 71, 101494. <https://doi.org/10.1016/j.cimid.2020.101494>
- Pan, Y., Tagawa, Y., Champion, A., Sandal, I., & Inzana, T. J. (2018). Histophilus somni Survives in Bovine Macrophages by Interfering with Phagosome-Lysosome Fusion but Requires IbpA for

- Optimal Serum Resistance. *Infection and Immunity*, 86(12), e00365-18.  
<https://doi.org/10.1128/IAI.00365-18>
- Pardon, B., & Buczinski, S. (2020). Bovine Respiratory Disease Diagnosis: What Progress Has Been Made in Infectious Diagnosis? *Veterinary Clinics: Food Animal Practice*, 36(2), 425–444.  
<https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2020.03.005>
- Pardon, B., Callens, J., Maris, J., Allais, L., Van Praet, W., Deprez, P., & Ribbens, S. (2020). Pathogen-specific risk factors in acute outbreaks of respiratory disease in calves. *Journal of Dairy Science*, 103(3), 2556–2566. <https://doi.org/10.3168/jds.2019-17486>
- Peek, S. F., Ollivett, T. L., & Divers, T. J. (2018). Respiratory Diseases. Em *Rebhun's Diseases of Dairy Cattle* (pp. 94–167). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-39055-2.00004-8>
- Peel, D. S. (2020). The Effect of Market Forces on Bovine Respiratory Disease. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 36(2), 497–508.  
<https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2020.03.008>
- Peng, Z., Wang, X., Zhou, R., Chen, H., Wilson, B. A., & Wu, B. (2019). Pasteurella multocida: Genotypes and Genomics. *Microbiology and Molecular Biology Reviews: MMBR*, 83(4), e00014-19. <https://doi.org/10.1128/MMBR.00014-19>
- Pérez, D. S., Pérez, F. A., & Bretschneider, G. (2010). Histophilus somni: Patogenicity in cattle an update. *Anales de Veterinaria de Murcia*, 26, 5–21.
- Petrini, S., Martucciello, A., Righi, C., Cappelli, G., Torresi, C., Grassi, C., Scoccia, E., Costantino, G., Casciari, C., Sabato, R., Giammarioli, M., De Carlo, E., & Feliziani, F. (2022). Assessment of Different Infectious Bovine Rhinotracheitis Marker Vaccines in Calves. *Vaccines*, 10(8), 1204. <https://doi.org/10.3390/vaccines10081204>
- Pfuetzenreiter, M. R., Zylbersztajn, A., & Avila-Pires, F. D. de. (2004). Evolução histórica da medicina veterinária preventiva e saúde pública. *Ciência Rural*, 34, 1661–1668.  
<https://doi.org/10.1590/S0103-84782004000500055>

- Pratelli, A., Cirone, F., Capozza, P., Trotta, A., Corrente, M., Balestrieri, A., & Buonavoglia, C. (2021). Bovine respiratory disease in beef calves supported long transport stress: An epidemiological study and strategies for control and prevention. *Research in Veterinary Science*, 135, 450–455. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2020.11.002>
- Radaelli, E., Luini, M., Loria, G. R., Nicholas, R. A. J., & Scanziani, E. (2008). Bacteriological, serological, pathological and immunohistochemical studies of *Mycoplasma bovis* respiratory infection in veal calves and adult cattle at slaughter. *Research in Veterinary Science*, 85(2), 282–290. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2007.11.012>
- Rahe, M. C., Magstadt, D. R., Groeltz-Thrush, J., Gauger, P. C., Zhang, J., Schwartz, K. J., & Siepker, C. L. (2022). Bovine coronavirus in the lower respiratory tract of cattle with respiratory disease. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 34(3), 482–488. <https://doi.org/10.1177/10406387221078583>
- Regulamento Delegado (UE) 2021/578 da Comissão de 29 de janeiro de 2021 que complementa o Regulamento (UE) 2019/6 do Parlamento Europeu e do Conselho no que diz respeito aos requisitos de recolha de dados sobre o volume de vendas e a utilização de medicamentos antimicrobianos em animais (Texto relevante para efeitos do EEE), 123 OJ L (2021). [http://data.europa.eu/eli/reg\\_del/2021/578/oj/por](http://data.europa.eu/eli/reg_del/2021/578/oj/por)
- Rice, J. A., Carrasco-Medina, L., Hodgins, D. C., & Shewen, P. E. (2007). *Mannheimia haemolytica* and bovine respiratory disease. *Animal Health Research Reviews*, 8(2), 117–128. <https://doi.org/10.1017/S1466252307001375>
- Ridpath, J. F., Fulton, R. W., Bauermann, F. V., Falkenberg, S. M., Welch, J., & Confer, A. W. (2020). Sequential exposure to bovine viral diarrhoea virus and bovine coronavirus results in increased respiratory disease lesions: Clinical, immunologic, pathologic, and immunohistochemical findings. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation: Official Publication of the American*

*Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians, Inc.*, 32(4), 513–526.  
<https://doi.org/10.1177/1040638720918561>

- Riera Romo, M., Pérez-Martínez, D., & Castillo Ferrer, C. (2016). Innate immunity in vertebrates: An overview. *Immunology*, 148(2), 125–139. <https://doi.org/10.1111/imm.12597>
- Romero-Salas, D., Cruz-Romero, A., Aguilar-Domínguez, M., Ibarra-Priego, N., Barradas-Piña, F. T., Nogueira Domingues, L., Castro-Arellano, I., Lohmeyer, K. H., & Pérez de León, A. A. (2018). Seroepidemiology of Bovine Herpes Virus-1 Infection in Water Buffaloes from the state of Veracruz, Mexico. *Tropical Biomedicine*, 35(2), 541–552.
- Saif, L. J. (2010). Bovine Respiratory Coronavirus. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 26(2), 349–364. <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2010.04.005>
- Sandal, I., & Inzana, T. J. (2010). A genomic window into the virulence of *Histophilus somni*. *Trends in Microbiology*, 18(2), 90–99. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2009.11.006>
- Shayegh, J., Atashpaz, S., Salehi, T., & Hejazi, M. (2010). Potential of *Pasteurella multocida* isolated from healthy and diseased cattle and buffaloes in induction of diseases. *Bulletin- Veterinary Institute in Pulawy*, 54, 299–304.
- Siddaramappa, S., Challacombe, J. F., Duncan, A. J., Gillaspay, A. F., Carson, M., Gipson, J., Orvis, J., Zaitshik, J., Barnes, G., Bruce, D., Chertkov, O., Detter, J. C., Han, C. S., Tapia, R., Thompson, L. S., Dyer, D. W., & Inzana, T. J. (2011). Horizontal gene transfer in *Histophilus somni* and its role in the evolution of pathogenic strain 2336, as determined by comparative genomic analyses. *BMC Genomics*, 12, 570. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-12-570>
- Simonini, R., Neto, L., & Vaz, F. (2008). *DOENÇAS RESPIRATÓRIAS DOS BOVINOS*. 6.
- Sivula, N. J., Ames, T. R., Marsh, W. E., & Werdin, R. E. (1996). Descriptive epidemiology of morbidity and mortality in Minnesota dairy heifer calves. *Preventive Veterinary Medicine*, 27(3–4), 155–171. [https://doi.org/10.1016/0167-5877\(95\)01000-9](https://doi.org/10.1016/0167-5877(95)01000-9)

- Smith, E., Miller, E., Aguayo, J. M., Figueroa, C. F., Nezworski, J., Studniski, M., Wileman, B., & Johnson, T. (2021). Genomic diversity and molecular epidemiology of *Pasteurella multocida*. *PloS One*, *16*(4), e0249138. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0249138>
- Snowder, G. D., Van Vleck, L. D., Cundiff, L. V., & Bennett, G. L. (2006). Bovine respiratory disease in feedlot cattle: Environmental, genetic, and economic factors. *Journal of Animal Science*, *84*(8), 1999–2008. <https://doi.org/10.2527/jas.2006-046>
- Snyder, E., & Credille, B. (2020). *Mannheimia haemolytica* and *Pasteurella multocida* in Bovine Respiratory Disease. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, *36*(2), 253–268. <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2020.02.001>
- Sompayrac, L. M. (2019). *How the Immune System Works*. John Wiley & Sons.
- Soufleri, A., Banos, G., Panousis, N., Fletouris, D., Arsenos, G., Kougioumtzis, A., & Valergakis, G. E. (2021). Evaluation of Factors Affecting Colostrum Quality and Quantity in Holstein Dairy Cattle. *Animals: An Open Access Journal from MDPI*, *11*(7), 2005. <https://doi.org/10.3390/ani11072005>
- Srikumaran, S., Kelling, C. L., & Ambagala, A. (2007). Immune evasion by pathogens of bovine respiratory disease complex. *Animal Health Research Reviews*, *8*(2), 215–229. <https://doi.org/10.1017/S1466252307001326>
- Sun, L., Wang, X., Saredy, J., Yuan, Z., Yang, X., & Wang, H. (2020). Innate-adaptive immunity interplay and redox regulation in immune response. *Redox Biology*, *37*, 101759. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2020.101759>
- Taylor, J. D., Fulton, R. W., Lehenbauer, T. W., Step, D. L., & Confer, A. W. (2010). The epidemiology of bovine respiratory disease: What is the evidence for predisposing factors? *The Canadian Veterinary Journal = La Revue Veterinaire Canadienne*, *51*(10), 1095–1102.

- Ueda, H., Yamakawa, N., & Takeuchi, K. (2021). Amino- and carboxyl-terminal ends of the bovine parainfluenza virus type 3 matrix protein are important for virion and virus-like particle release. *Virology*, *561*, 17–27. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2021.05.014>
- Urban, R., & Grooms, D. L. (2012). *Prevention and Control of Bovine Respiratory Disease*. 10.
- van der Fels-Klerx, H. J., Saatkamp, H. W., Verhoeff, J., & Dijkhuizen, A. A. (2002). Effects of bovine respiratory disease on the productivity of dairy heifers quantified by experts. *Livestock Production Science*, *75*(2), 157–166. [https://doi.org/10.1016/S0301-6226\(01\)00311-6](https://doi.org/10.1016/S0301-6226(01)00311-6)
- Vandermeulen, J., Bahr, C., Johnston, D., Earley, B., Tullo, E., Fontana, I., Guarino, M., Exadaktylos, V., & Berckmans, D. (2016). Early recognition of bovine respiratory disease in calves using automated continuous monitoring of cough sounds. *Computers and Electronics in Agriculture*, *129*, 15–26. <https://doi.org/10.1016/j.compag.2016.07.014>
- Verma, S., Sharma, M., Katoch, S., Verma, L., Kumar, S., Dogra, V., Chahota, R., Dhar, P., & Singh, G. (2013). Profiling of virulence associated genes of *Pasteurella multocida* isolated from cattle. *Veterinary Research Communications*, *37*(1), 83–89. <https://doi.org/10.1007/s11259-012-9539-5>
- Virtala, A.-M. K., Mechor, G. D., Gröhn, Y. T., & Erb, H. N. (1996). The Effect of CalfhooD Diseases on Growth of Female Dairy Calves During the First 3 Months of Life in New York State. *Journal of Dairy Science*, *79*(6), 1040–1049. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(96\)76457-3](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(96)76457-3)
- Vlasova, A. N., & Saif, L. J. (2021). Bovine Coronavirus and the Associated Diseases. *Frontiers in Veterinary Science*, *8*, 643220. <https://doi.org/10.3389/fvets.2021.643220>
- Wathes, D. C., Oguejiofor, C. F., Thomas, C., & Cheng, Z. (2020). Importance of Viral Disease in Dairy Cow Fertility. *Engineering*, *6*(1), 26–33. <https://doi.org/10.1016/j.eng.2019.07.020>

- Wilson, B. K., Richards, C. J., Step, D. L., & Krehbiel, C. R. (2017). Best management practices for newly weaned calves for improved health and well-being. *Journal of Animal Science*, *95*(5), 2170–2182. <https://doi.org/10.2527/jas.2016.1006>
- Windeyer, M. C., Leslie, K. E., Godden, S. M., Hodgins, D. C., Lissemore, K. D., & LeBlanc, S. J. (2012). The effects of viral vaccination of dairy heifer calves on the incidence of respiratory disease, mortality, and growth. *Journal of Dairy Science*, *95*(11), 6731–6739. <https://doi.org/10.3168/jds.2012-5828>
- Windeyer, M. C., Timsit, E., & Barkema, H. (2017). Bovine respiratory disease in pre-weaned dairy calves: Are current preventative strategies good enough? *Veterinary Journal (London, England: 1997)*, *224*, 16–17. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2017.05.003>
- Yamaguchi, E., Hayama, Y., Shimizu, Y., Murato, Y., Sawai, K., & Yamamoto, T. (2021). Additive Bayesian network analysis of the relationship between bovine respiratory disease and management practices in dairy heifer calves at pre-weaning stage. *BMC Veterinary Research*, *17*(1), 360. <https://doi.org/10.1186/s12917-021-03018-1>
- Zhu, Q., Li, B., & Sun, D. (2022). Advances in Bovine Coronavirus Epidemiology. *Viruses*, *14*(5), 1109. <https://doi.org/10.3390/v14051109>