

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO CENTRO-OESTE, UNICENTRO-PR

**COMPARAÇÃO DE VACINAS COMERCIAIS
INTRANASAL E INTRAMUSCULAR CONTRA
VIROSES RESPIRATÓRIAS EM BOVINOS
CONFINADOS.**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

MARI JANE TAUBE

GUARAPUAVA-PR

2020

MARI JANE TAUBE

**COMPARAÇÃO DE VACINAS COMERCIAIS INTRANASAL E INTRAMUSCULAR
CONTRA VIROSES RESPIRATÓRIAS EM BOVINOS CONFINADOS**

Dissertação apresentada à Universidade Estadual do Centro-Oeste, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, área de concentração em Saúde e Produção Animal Sustentável, para a obtenção do título de Mestre.

Orientadora: Prof^a. Dra. Heloisa Godoi Bertagnon

GUARAPUAVA-PR

2020

Catálogo na Publicação
Rede de Bibliotecas da Unicentro, Campus Cedeteg

T222c Taube, Mari Jane
Comparação de vacinas comerciais intranasal e intramuscular contra viroses respiratórias em bovinos confinados / Mari Jane Taube. – – Guarapuava, 2020.
xv, 76 f. : il. ; 28 cm

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual do Centro-Oeste, Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, área de concentração em Saúde e Produção Animal Sustentável, 2020.

Orientadora: Heloisa Godoi Bertagnon
Banca examinadora: Renata Caminha Gomes, Julio Cezar Hecker Junior

Bibliografia

1. Ciências Veterinárias. 2. Complexo respiratório bovino. 3. Imunidade. 4. Pneumonia. 5. Profilaxia. I. Título. II. Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias.

| CDD 636.089

Mari Jane Taube

Comparação de vacinas comerciais intranasal e intramuscular, contra viroses respiratórias em bovinos confinados

Dissertação apresentada à Universidade Estadual do Centro-Oeste, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, área de concentração em Saúde e Produção Animal Sustentável, para a obtenção do título de Mestre.

Aprovada em 27 de fevereiro de 2020.


Prof. Dr. Heloisa G. Bertagnon
(UNICENTRO)


Prof. Dr. Renata Caminha Gomes
(FACULDADE SÃO JUDAS)


Prof. Dr. Julio Cezar Heker Junior
(UNICENTRO)

GUARAPUAVA, PR
2020

PROTOCOLO DE AVALIAÇÃO DO CEUA

COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS - CEUA/UNICENTRO

Ofício nº 008/2018 – CEUA/UNICENTRO

Guarapuava, 08 de Junho de 2018.

Senhora Pesquisadora,

1. Comunicamos que seu projeto de pesquisa intitulado: "Comparação da resposta imune estimulada por vacina intranasal e intramuscular contra viroses respiratórias bovinas: em confinamento", protocolo número 006/2018, foi analisado e considerado **APROVADO**, pela Comissão de Ética no Uso de Animais de nossa Instituição, na reunião do dia 08, de Junho de 2018.
2. Deverá ser encaminhado à CEUA o relatório final da pesquisa e a publicação de seus resultados, para acompanhamento do mesmo.
3. Observamos ainda que se mantenha a devida atenção aos Relatórios Parciais e Finais na seguinte ordem:
 - Os *Relatórios Parciais* deverão ser encaminhados à CEUA assim que tenha transcorrido um ano da pesquisa.
 - Os *Relatórios Finais* deverão ser encaminhados à CEUA em até 30 dias após a conclusão da pesquisa.
 - Qualquer alteração na pesquisa que foi aprovada, como por exemplo, números de sujeitos, local, período, etc. deverá ser necessariamente enviada uma carta justificativa para a análise da CEUA.

Pesquisador: Profª Heloisa Godoi Bertagnon.
Atenciosamente,



Presidente do CEUA

A senhora
Profª Heloisa Godoi Bertagnon
UNICENTRO-CEDETEG

A Deus meu guia, minha família,
minha orientadora e meus amigos,
eterna gratidão!

AGRADECIMENTOS

A Deus por me conceder forças para seguir firme, sem fraquejar ou desistir mesmo perante a tantas dificuldades.

A meu anjo no céu, meu pai, que apesar de não se fazer presente em terra, permanece presente em minha mente e em meu coração.

A minha mãe, minha irmã e minha afilhada por aceitarem minha ausência, e por estarem tão presentes neste momento de luta constante.

A minha orientadora Heloisa Godoi Bertagnon, pela paciência, pelos ensinamentos, e por nunca desistir de mim, apesar da minha ausência em certos momentos. Gostaria de deixar os meus mais sinceros agradecimentos por toda a colaboração. Obrigada por ter me acolhido, sempre!

A minha banca de qualificação, Professora Renata Romano e Professor Julio César Heker Junior, por terem feito parte da construção e melhoria desta dissertação. E junto a isso, a minha banca de defesa, professor Julio César Heker Junior e a professora Renata Caminha Gomes, por terem aceitado o convite de fazerem parte deste momento de defesa desta dissertação.

Aos todos meus amigos que me ajudaram firmemente para que este projeto desse certo, e agradeço especialmente as minhas amigas Patrícia, Andressa, Fernanda, Suyene, Laura, Ana Caroline, Luciana e Dailis que nunca mediram esforços para que tudo isso pudesse se concretizar. Vocês foram fundamentais!

As demais pessoas que me auxiliaram de alguma forma, Professora Lorena, Professor Jayme, Gabriel, Alessandra, obrigada por todo o apoio concedido.

A todos os professores que contribuíram para essa jornada, essa formação de extrema valia para minha vida profissional e pessoal.

A todo o pessoal da Fazenda Cachoerinha, por todo apoio e dedicação.

Enfim, a todas as pessoas que de uma forma ou outra estiveram presentes, nestes dois anos de luta, e que fizeram isso acontecer.

Gosto daquilo que me desafia. O fácil nunca me interessou. Já o obviamente impossível sempre me atraiu e muito.
“Clarice Lispector”

RESUMO

Mari Jane Taube. Comparação de vacinas comerciais intranasal e intramuscular contra viroses respiratórias em bovinos confinados 2020. 81f. Universidade Estadual do Centro-Oeste – UNICENTRO. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias), Guarapuava.

O complexo respiratório bovino (CRB) é uma enfermidade relevante para a produção bovina, causando prejuízos a produção, motivando estudos sobre a sua profilaxia. Desta forma o objetivo deste trabalho foi fazer uma revisão sobre o assunto e avaliar a influência das vacinas comerciais intranasal e intramuscular contra o CRB na sanidade e na produção e desempenho de peso em bovinos confinados por meio de avaliações de temperatura ocular, secreção nasal, ganho de peso, dosagem de IgA, IgG e haptoglobina séricas nos dias 0, 7, 44 e 79 a partir da data de entrada do confinamento, e na incidência de lesões pulmonares no dia do abate (dia 87) em 3 grupos de bovinos de corte confinados, grupo controle (CO), grupo intranasal (IN) vacinado com a vacina intranasal em dose única e o grupo intramuscular (IM), com duas doses da vacina intramuscular. O grupo IM apresentou maior ganho de peso que o IN e ainda apresentou menor frequência de lesões pulmonares que o CO e o IN. O grupo IN apresentou mais indicadores clínicos de doença respiratória em D7, apresentou menor ganho de peso, além de maiores indicadores de pneumonia, apresentou ainda uma queda ao decorrer do tempo com relação a IgA, apresenta titulações maiores de IgG a partir de D44. Pode-se concluir que, a vacinação IM em duas doses obteve resultados com maior indicação de uso para a situação aplicada, apresentando animais com menores índices de doença, seja clínicos ou laboratoriais, além de maior ganho de peso.

Palavras chaves: complexo respiratório bovino, imunidade, pneumonia, profilaxia.

ABSTRACT

TAUBE, Mari Jane. **Comparison of commercial intranasal and intramuscular vaccines against respiratory viruses in confined cattle** 2020. 81f. Universidade Estadual do Centro-Oeste – UNICENTRO. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias), Guarapuava.

The bovine respiratory complex (CRB) is a disease relevant to bovine production, damage to production, motivating studies on its prophylaxis. Thus, the objective of this work was to review the subject and evaluate the influence of commercial intranasal and intramuscular vaccines against CRB on health and production and weight performance in confined cattle through assessments of eye temperature, nasal secretion, gain weight, dosage of IgA, IgG and American haptoglobin on days 0, 7, 44 and 79 from the confinement entry data and in the lesions of lung lesions without slaughter day (day 87) in 3 groups of confined beef cattle, control group (CO), intranasal group (IN) vaccinated with intranasal vaccine in a single dose and intramuscular group (IM), with two doses of the intramuscular vaccine. The IM group showed greater weight gain in IN and an even lower frequency of lung injuries in CO and IN. The IN group has more clinical indicators of respiratory disease in D7, shows less weight gain, in addition to higher indicators of pneumonia, also shows a decrease in the progress of time in relation to IgA, has higher titers of IgG from D44. It can be concluded that an IM vaccination in two doses causes results with a higher indication of use for applied situations, showing animals with lower disease rates, either clinical or laboratory, in addition to greater weight gain.

Keywords: bovine respiratory complex, immunity, pneumonia, prophylaxis.

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1.** Composição química dos alimentos utilizados na alimentação dos animais e valores médios da dieta experimental, com base na matéria seca total. 64
- Tabela 2.** Ganho de peso, peso inicial/peso final, peso de carcaça e rendimento de carcaça (%) em bovinos durante o confinamento, conforme o protocolo vacinal utilizado. 64

LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Indicador de doenças respiratórias de novilhos em confinamento de acordo com o protocolo de vacina utilizado.....	65
Figura 2- Dosagem sérica de IgG de bovinos em confinamento de acordo com o protocolo de vacina utilizado.....	65
Figura 3- Dosagem sérica de IgA de novilhos em confinamento de acordo com o protocolo de vacina utilizado.....	66
Figura 4- Dosagem sérica de haptoglobina de bovinos em confinamento de acordo com o protocolo de vacina utilizado.....	66
Figura 5- Frequência de animais com lesão pulmonar macroscópica e microscópica de bovinos em confinamento de acordo com o protocolo de vacina utilizado.	67

LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIATURAS

% - Porcento

BoHV-1- Vírus da Rinotraqueíte Infecciosa Bovina

bPIV-3-Vírus da Parainfluenza bovina tipo 3

BRSV-Vírus Sincicial Respiratório Bovinas

BVDV - Vírus da Diarreia Viral Bovina

cm² - Centímetros quadrados

CO- Grupo controle

CP- Citopatogênico

CRB- Complexo respiratório bovino

DM- Doenças das mucosas

HE- Hematoxilina e eosina

Hp- Haptoglobina

IBGE- Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

IBR- Rinotraqueíte infecciosa bovina

IgA- Imunoglobulina A

IgD- Imunoglobulina D

IgE- Imunoglobulina E

IgG- Imunoglobulina G

IgM- Imunoglobulina M

IM- Grupo intramuscular

IN- Grupo intranasal

Kg- Quilograma

lb- Libras

LPS- Lipopolissacarídeos

Mg- Miligrama

mg/dl- Miligrama por decilitro

mL- Mililitro

NCP- Não citopatogênico

°C- Graus celsius

pH- Potencial hidrogeniônico

PI- Persistentemente infectado

Rpm- Rotação por minuto

SARA- Acidose ruminal subaguda

SUMÁRIO

RESUMO.....	VI
ABSTRACT	VII
LISTA DE TABELAS	VIII
LISTA DE FIGURAS.....	IX
LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIATURAS.....	X
SUMÁRIO.....	XII
1. INTRODUÇÃO.....	14
2. REVISÃO DE LITERATURA	16
2.1 Complexo respiratório bovino.....	16
2.2 Defesa do trato respiratório.....	17
2.3 Fatores predisponentes a ocorrência do CRB.....	20
2.4 Agentes Etiológicos	22
2.4.1 Vírus da Diarreia Viral Bovina	22
2.4.2 Vírus da Parainfluenza bovina	23
2.4.3 Herpesvírus bovino tipo 1	24
2.4.4 Vírus Sincial Bovino	25
2.4.5 Agentes Bacterianos	25
2.5 Diagnóstico	27
2.6 Controle do Complexo Respiratório Bovino	30
3. CONCLUSÃO	34
REFERÊNCIAS	36
4. ARTIGO	48
4.1 Resumo	48
4.2 Abstract	49
4.3 Introdução	50
4.4 Material e Métodos	51
Delineamento experimental	51
Fator de Exclusão	53
Coleta dos dados/Colheita de sangue	53
Análise estatística	54
4.5 Resultados	55
4.6 Discussão	56
4.7 Conclusão	61

4.7	Referencias	61
4.8	Tabelas e Figuras	64
	ANEXOS	68
	COMPROVANTE DE SUBMISSÃO DE ARTIGO:.....	68
	NORMAS PARA SUBMISSÃO DO ARTIGO- CANADIAN VETERINARY JOURNAL	69

1. INTRODUÇÃO

O Brasil têm um rebanho bovino de 215,2 milhões de cabeças (IBGE, 2015), e neste cenário, a manutenção da sanidade dos bovinos é extremamente importante para a produtividade. Dentre as principais afecções que acometem os bovinos, o complexo respiratório bovino (CRB) ganha destaque (EDWARDS, 2010; SCHNEIDER et al., 2009 ANDREWS et al., 2008). Segundo Ackermann & Brogden (2000) pode-se relacionar fatores ambientais e de manejo que geram estresse no animal, reduzindo a eficiência dos mecanismos de defesa do trato respiratório, o que favorece a instalações de viroses, como vírus da Rinotraqueíte Infecciosa Bovina (BHoV-1), Parainfluenza tipo 3 (PI-3), Vírus Sincicial Respiratório Bovino (BRSV) e vírus da Diarreia Viral Bovina (BVDV). Estes vírus comprometem a barreira física de mucosas, o sistema mucociliar e a defesa celular, em especial os macrófagos alveolares (ACKERMANN & BROGDEN, 2000) e assim bactérias comensais do trato respiratório anterior como *Manhemia haemolytica* e a *Pasteurella multocida*, conseguem colonizar o pulmão, que está com mecanismos de defesa reduzida, causando pneumonias mais graves que as virais (SVENSSON & LIBERG, 2006).

A alta frequência do CRB aliada aos crescentes prejuízos econômicos advindos desta afecção estimulou o desenvolvimento de inúmeros protocolos para o controle da doença. Entre eles, a profilaxia vacinal (TAYLOR et al., 2010). Para isso, existem diversas vacinas comerciais no mercado brasileiro, a maioria das vacinas são constituídas por complexos direcionados contra os agentes virais BHoV-1 e 2, BVDV, PI-3 e BRSV, indicados para administração subcutânea (EDWARDS, 2010; LORENZ et al., 2011) ou intramuscular (NEUTRA & KOZLOWSKI, 2006). Recentemente foi lançada uma vacina intranasal (ZOETIS, 2017), o que pode ser uma alternativa em potencial, visto que vacinas intranasais comerciais experimentais produzem uma resposta imune local com maior concentração de IgA (NEUTRA & KOZLOWSKI, 2006) que é uma imunoglobulina de mucosa presente no trato respiratório (TIZARD, 2014), além disso estas vacinas são indicadas para aplicação em dose única em bovinos confinados (ZOETIS, 2017).

Apesar da aparente vantagem das vacinas intranasais, elas tendem a mimetizar uma infecção viral controlada, o que conseqüentemente reduz a defesa do trato respiratório pois reduzem a porcentagem e a funcionalidade de macrófagos alveolares em bezerras, sugerindo que essa defesa celular respiratória reduzida, favoreça a ocorrência de pneumonias bacterianas

(GOMES, 2016; ROSSI, 2019). Embora Rossi (2019) tenha relatado este aumento de susceptibilidade, os bezerros de sua pesquisa, que foram vacinados aos 18 meses de idade (+/- 2 meses) e não passaram por nenhum desafio ambiental ou nutricional, não apresentaram pneumonia clínica (ROSSI, 2019).

Da mesma maneira que a via vacinal influencia na formação de anticorpos, o tratamento do agente viral usado tem importância. Vacinas contendo vírus vivo atenuado contra BHoV-1, induziram a formação de anticorpos séricos de forma mais rápida, quando comparado as vacinas com vírus vivo modificado (FULTON et al., 2003). Outro fator de suma importância é a quantidade de doses da vacina utilizada, tanto Magalhães (2017), ao avaliar vacina comercial contendo vírus vivos modificados BoHV-1, BPIV-3, BRSV e vírus inativado BVDV quanto Fulton et al. (2003), ao avaliarem vacinas contendo vírus vivo atenuado contra BHoV-1, verificaram que duas doses vacinais, induz a produção de níveis maiores de anticorpos séricos do que apenas uma dose.

A época da vacinação também interfere na eficiência vacinal, pois segundo Magalhães (2017), verificou que a primovacinação parenteral 60 dias antes do confinamento e o reforço após 30 dias reduz a morbidade do CRB de forma mais eficiente que a vacinação em dose única no momento da entrada ao confinamento. Apesar desta vacinação em dose única ser pouco efetiva, foi uma medida melhor do que não vacinar, tendo em vista que ela reduziu a morbidade e aumentou o ganho de peso em bovinos confinados em comparação ao grupo não vacinado.

Ainda não há definição perante a qual o melhor protocolo vacinal a ser instituído, fato este se dá a diversidade de formulações existentes, doses, épocas de vacinação e vias de aplicação. No mercado brasileiro, há 19 vacinas comerciais registradas direcionadas contra um ou vários agentes do CRB. Destas, quatro formulações intramuscular são bastante semelhantes com a única vacina intranasal disponíveis, excetuando-se apenas pelo BoHV-1, presente apenas nas intramusculares (SINDAN, 2018).

Tendo em vista que o fabricante recomenda que as parenterais sejam realizadas em duas doses antes da entrada do confinamento, e a intranasal seja realizada em dose única na entrada do confinamento, o presente trabalho verificou qual o protocolo vacinal adequado para bovinos de corte terminados em confinamento baseado na ocorrência de alterações respiratórias e sua influência no ganho de peso, escolhendo-se uma vacina comercial intramuscular e uma intranasal, de acordo com a recomendação do fabricante.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Complexo respiratório bovino

O complexo respiratório bovino (CRB) pode ser considerado um dos maiores desafios para a sanidade da cadeia produtiva bovina, especialmente para bovinos criados em sistema de confinamento, pois há grandes perdas econômicas na produção, aumentando os custos para a indústria da carne (EDWARDS, 2010). No Brasil os índices de morbidade do CRB em situações de confinamentos variam de 7,26 a 100%, e índices de mortalidade de 0,06 a 0,55% (ASSIS BRASIL, 2013; MARTINS, 2016; BAPTISTA, 2017). Em outros países a morbidade e mortalidade também apresentam altos índices, podendo ser encontrados valores de 57,6% de morbidade e 8,6% de mortalidade (HOLLAND et al., 2010).

Esta alta incidência está relacionada a anatomia do sistema respiratório dos bovinos, a qual não permite a ventilação colateral interbronquiolar e interalveolar, o que aumenta a taxa de ventilação, resultando na forte resistência do fluxo de ar no interior das vias aéreas inferiores (LEKEUX, 1994). Soma-se ainda vias aéreas estreitas, caixa torácica muito rígida, volume pulmonar pequeno e a compartimentalização pulmonar, que são responsáveis por trocas gasosas menos efetivas, atividade macrofágica alveolar mais lenta e menor velocidade de depuração pulmonar em comparação às demais espécies. Estes fatores prolongam a permanência de patógenos inalados no trato respiratório, o que torna esta espécie, mais susceptível a afecções respiratória (GONÇALVES et al., 2000; GRIFINN et al., 2010).

Contribuem também para esta maior susceptibilidade, fatores ambientais comumente vivenciados durante criações convencionais de bovinos, como extremos de temperatura, gases irritantes inalados, má ventilação e excesso de umidade, que interferem na defesa respiratória, podendo gerar diferentes graus de comprometimento imune pulmonar, além de favorecerem a multiplicação de patógenos cuja frequente inalação, facilita a ocorrência de doenças (GRIFINN et al., 2010; BERTAGNON et al., 2011; COBB et al., 2014).

Em sistemas de confinamento ainda há fatores estressantes como transporte, troca de dieta, alocação de animais em espaços restritos, superlotação, mudanças de temperatura e de umidade relativa do ar, ambientes com poeira ou outras partículas suspensas que tornam o sistema imune vulnerável aos patógenos inalados ocasionando o CRB (RICE et al., 2007; ACKERMAN; DERSCHEID & ROTH, 2010; HAY et al., 2017). Desta maneira esta afecção ocorre em decorrência a diversos fatores ambientais e fisiológicos que em conjunto combinam-se suprimindo o sistema imune dos bovinos, permitindo que agentes infecciosos virais e ou

bacterianos colonizem a região (EDWARDS, 2010).

Assim, a progressão da doença ocorre da parte anterior para a parte posterior do trato respiratório, na qual uma infecção viral primária, resulta em uma imunossupressão do sistema imune inato e ainda compromete a barreira mucociliar, permitindo com que patógenos bacterianos comensais colonizem o trato respiratório inferior, acarretando em comprometimento pulmonar grave (EDWARDS, 2010).

2.2 Defesa do trato respiratório

Os objetivos dos mecanismos de defesa do trato respiratório, são inativar partículas ou agentes etiológicos que podem ser inalados. Desta maneira inicia-se o primeiro mecanismo de defesa, chamado de barreira física, na qual a redução gradual do diâmetro das vias aéreas reterá partículas grandes por filtração aerodinâmica (FEITOSA, 2008).

Partículas entre 5 e 10 micrometros podem ser depositadas no aparelho mucociliar, composto pelo epitélio pseudoestratificado cilíndrico ciliado, associado à células caliciformes produtoras de muco (JUNQUEIRA, CARNEIRO & ABRAHAMSOHN, 2017). Este aparelho reveste grande parte do trato respiratório, incluindo traqueia, brônquios e os bronquíolos e é responsável por aglutinar partículas ali depositadas e remove-las por retropulsão para a faringe, as quais serão eliminadas por deglutição ou reflexos de tosse e espirro (FEITOSA, 2008; ACKERMANN & BROGDEN, 2000). Este sistema ainda contribui para a eliminação de gases hidrossolúveis e ainda auxilia no transporte dos anticorpos como a IgA (SANTOS & ALESSI, 2016).

As partículas que conseguirem ainda ultrapassar essa barreira estarão sujeitas a fatores antimicrobianos e defesa celular e humoral presentes na superfície do epitélio pulmonar (ACKERMAN; DERSCHEID & ROTH, 2010), que constituem a resposta imune inata e a resposta imune adquirida (NOSSAL, 1993; TIZARD, 2014).

A resposta imune inata é considerada uma resposta inespecífica e, é realizada pela estimulação de células como os neutrófilos e macrófagos, que agem quando um patógeno penetra as barreiras físicas do organismo, realizando a fagocitose do mesmo, estimulando a liberação de citocinas que colaboram para que um processo inflamatório se instale e exacerbe a resposta imune (ABBAS; LICHTMAN & PILLAI, 2008).

A principal célula residente do trato respiratório posterior é o macrófago alveolar, havendo uma proporção aproximada de 68,80% de macrófagos, 11,10% de neutrófilos, 1,90%

de linfócitos, e menos de 1% de eosinófilos em bovinos (GONÇALVES et al., 2004; GRIFFIN et al., 2010). Assim o macrófago alveolar é considerado a principal forma de defesa do pulmão, responsável pela fagocitose das partículas e agentes exógenos e ainda a apresentação de antígenos para outras células, bem como responsável por iniciar a resposta imune por meio de secreção de citocinas inflamatórias (LOHMANN-MATTHES, STEINMÜLLER & FRANKE-ULLMANN, 1994; ACKERMAN; DERSCHEID & ROTH, 2010; TIZARD, 2014).

Em segundo lugar encontram-se os neutrófilos, que são mais ágeis na fagocitose e metabolismo oxidativo que os macrófagos (ROTHER & VALET, 1990; BURTON et al., 2005), porém liberam produtos reativos que podem causar injúrias teciduais (ACKERMAN; DERSCHEID; ROTH, 2010). Estas duas células, participam da imunidade natural ou imunidade inata, que é a primeira linha de defesa contra os microrganismos. Estão programadas para responder rapidamente à infecção, por meio das células residentes e/ou recrutando mais células como os neutrófilos e monócitos do sangue (ACKERMAN; DERSCHEID; ROTH, 2010).

Paralelamente a esta primeira tentativa de eliminar patógenos, estimula-se uma resposta imunológica adaptativa, que possui uma maior especificidade para identificação dos antígenos, sendo responsável por gerar uma memória imunológica, desencadeando uma resposta imune rápida e eficaz perante as exposições seguintes com o mesmo patógeno (ABBAS; LICHTMAN & PILLAI, 2008; TIZARD, 2014).

A resposta imune adaptativa ainda é dividida em duas, a resposta imune celular na qual atuam principalmente os linfócitos T e a resposta imune humoral, na qual atuam os linfócitos B. Apesar desta divisão didática, o sistema imune está sempre interligado para que ocorra a eliminação de forma eficaz dos agentes patogênicos (FLORES, 2007). Os linfócitos B atuam na resposta imune adaptativa humoral e possuem a capacidade de se diferenciar em plasmócitos, os quais são responsáveis pela produção das imunoglobulinas IgG, IgM, IgA, IgE e IgD (FLORES, 2007).

As imunoglobulinas são denominadas também como anticorpos, as quais ligam-se aos agentes etiológicos, como os microrganismos, impedindo que os mesmos infectem as células, inibindo que uma infecção se estabeleça (ABBAS; LICHTMAN & PILLAI, 2008). A imunoglobulina IgG é responsável pela defesa sistêmica, ligando-se a antígenos inespecíficos que recobrem os microrganismos, tornando estes alvos da fagocitose por parte dos neutrófilos e macrófagos. Já a IgM está presente em processos de neutralização viral, a resposta imune

estará presente, seja após vacinação ou após a infecção natural. A IgA é produzida nas mucosas, protegendo assim o sistema gastrointestinal, urogenital e o respiratório. Sua função é o aprisionamento dos antígenos ou microrganismos no muco, impedindo que estes entrem em contato com a superfície mucosa. A IgE atua frente a imunidade contra infestações parasitárias e ainda em reações alérgicas (FLORES, 2007; ABBAS; LICHTMAN & PILLAI, 2008), e por último a IgD que é uma imunoglobulina presente na superfície dos linfócitos imaturos, e sua função ainda não é totalmente elucidada (FLORES, 2007; JÚNIOR et al., 2010).

Quando os patógenos conseguem promover danos teciduais, há a estimulação dos macrófagos ou de outras células imunes, como linfócitos que secretam citocinas, responsáveis por estimular ou frear a inflamação. Nos quadros iniciais, há produção de citocinas inflamatórias que estimulam os hepatócitos a sintetizar proteínas de fase aguda na mesma intensidade que a gravidade da lesão, com a função de imunomodular a resposta imune (PETERSEN, 2004). Quando produzidas em baixa concentração, promovem a ativação de neutrófilos, aumentando seu poder de fagocitose e microbicida, porém em altas concentrações, minimizam a ativação das células imunes, evitando assim, que uma resposta imune exacerbada promova danos teciduais intensos. (PETERSEN, 2004).

Dentre as proteínas de fase aguda, a haptoglobina (Hp) é um biomarcador inflamatório efetivo da espécie bovina, servindo para auxílio no diagnóstico, acompanhamento da evolução da doença bem como para avaliar o protocolo terapêutico. Em um bovino saudável, suas concentrações são baixas, ficando entre 32 a 38 mg/dl, e em quadros inflamatórios ou infecciosos são produzidas precocemente, proporcional ao grau de lesão, podendo atingir dosagens acima de 170 mg/dl (SIMPLÍCIO, 2013).

A haptoglobina possui como função primária evitar a perda de ferro sanguíneo, devido a formação de complexos estáveis com a hemoglobina livre, o que evita a biodisponibilização deste nutriente para o crescimento bacteriano, além de regular as reações da imunidade inata (SAEED, AHMAD & AHMED, 2007, CECILIANI et al., 2012).

Segundo Ceciliani et al., 2012, diversos são os autores que comprovaram a utilidade clínica da haptoglobina como forma de monitoramento das reações inflamatórias nos bovinos. Tendo em vista que o CRB é a principal afecção inflamatória de bovinos confinados, sua mensuração é uma ferramenta útil para a detecção precoce deste (DUDEK et al., 2012; GANHEIM et al., 2003).

2.3 Fatores predisponentes a ocorrência do CRB

A ocorrência do CRB é advinda da quebra na homeostase entre o sistema imune e os fatores externos predisponentes. O estresse se encontra intimamente ligado com a falha do sistema imune (LAVAL, CARRAUDA & FILLETON, 1994), o que predispõe a multiplicação dos agentes virais, os quais podem causar danos aos mecanismos do sistema de depuração respiratória e ao parênquima do pulmão, facilitando a contaminação bacteriana do sistema respiratório anterior para a região posterior predispondo a alterações pulmonares (ACKERMAN; DERSCHEID & ROTH, 2010).

O CRB é considerado o principal causador da doença clínica e também da morte em confinamentos e esse sistema se encaixa em uma das produções mais predisponentes a ocorrência do CRB, pois neste, os animais são advindos de diversas regiões geográficas, de diversas raças, com diversos estados imunitários (EDWARDS, 2010). Além disso, segundo Taylor et al. (2010), o transporte destes animais é um dos fatores predisponentes comumente associados, pois, o estresse do movimento, a aglomeração e a falta de ventilação, interferem nos sistemas de defesa do trato respiratório, o que contribui de maneira significativa para a ocorrência da CRB.

Embora a distância e o tempo de transporte influenciem na morbidade do CRB (TAYLOR et al., 2010), Radostits, Blood & Hinchcliff (2002), citam que há outros fatores mais relevantes na ocorrência da doença, como por exemplo, a manipulação na hora da classificação, o carregamento ou qualquer parte do manejo inicial. Assim, independentemente da distância do transporte, os animais devem ser manipulados o mínimo possível (TAYLOR et al., 2010).

A desidratação também é um problema sério relacionado com o transporte, e tem sido associado como um fator de grande impacto na ocorrência da doença (TAYLOR et al., 2010). A perda de peso em decorrência a desidratação pode atingir até 9%, em animais que são transportados em longas distâncias e, sabe-se que valores acima de 7%, já estão relacionados com a ocorrência de doenças (RADOSTITS, BLOOD & HINCHCLIFF, 2002).

O desmame também é considerado um fator de extremo estresse ao animal, a separação da cria é agravada por mudanças na dieta e no ambiente, além de que, muitas vezes esse momento coincide com o transporte e a comercialização, predispondo ainda mais as doenças respiratórias (GORDEN & PLUMMER 2010, LORENZ et al. 2011).

Os fatores climáticos também tem sido observados, sendo que há maior ocorrência em

extremos de temperatura. Enquanto Taylor et al. (2010) verificaram maior ocorrência de CRB em temperaturas baixas, devido principalmente ao aumento da densidade de animais, predispondo a um maior risco de transmissão de microrganismo, Bertagnon et al. (2011) verificaram que, altas temperaturas aliadas a baixa umidade relativa do ar impactam na eficiência dos macrófagos alveolares favorecendo também a ocorrência de afecções respiratórias.

Townsend et al. (1989), afirmam que a idade também é um fator de relevância, onde animais jovens possuem maior probabilidade de adquirir a doença devido a imaturidade do sistema imune. Algumas diferenças raciais também podem ser relacionadas, indicando que animais como Angus e Hereford (*Bos taurus*) são mais susceptíveis que animais zebuínos (*Bos indicus*) (SNOWDER et al., 2005; CUSACK, MCMENIMAN & LEAN, 2007; TAYLOR et al., 2010). Alguns fatores epidemiológicos também são relacionados, como o agente etiológico e sua virulência e o modo de transmissão, seja horizontal ou vertical (SNOWDER et al., 2005). A virulência quando relacionada ao agente pode ser variável de acordo com o agente (GRIFFIN et al., 2010). Os mesmos autores ainda afirmam que a infecção por BRSV está ligada a condição imunológica do hospedeiro, podendo ser assintomática e com maior virulência em animais jovens, já o BoHV-1 é considerado o agente respiratório de maior importância nos confinamentos, onde devido a sua virulência e alterações no sistema respiratório, predis põe as infecções bacterianas secundárias. Na infecção por PI-3, a maior severidade dos sinais clínicos está ligada a animais jovens, porém em adultos este agente viral também compromete o sistema imune, predispondo a colonização bacteriana secundária.

Sabe-se ainda que dietas com altas concentrações de alimentos energéticos podem levar a alteração do pH ruminal, favorecendo a ocorrência da acidose ruminal subaguda (SARA), esta queda de pH diária leva a quebra de bactérias gram negativas, favorecendo a liberação de lipopolissacarídeos (LPS) que ao serem absorvidos, alcançam a corrente sanguínea desencadeando uma resposta inflamatória, com a liberação de histamina, citocinas inflamatórias e proteínas de fase aguda, como a haptoglobina, que por sua vez podem promover imunossupressão tornando os animais mais susceptíveis a doenças infectocontagiosas como o CRB (SATO, 2015; CARRETTA et al., 2013)

Conforme mencionado até o momento, a principal causa de ocorrência do CRB está ligada a fatores de estresse e de imunossupressão, que promovem uma fragilização da resposta imune pulmonar, predispondo a infecções virais como o BVDV, bPIV-3, BRSV e BoHV-1, os

quais aumentam a imunossupressão, favorecendo infecções bacterianas secundárias por agentes da microbiota do trato respiratório anterior dos bovinos (EDWARDS, 2010; MOSIER, 2014).

Resumidamente, a complexa interação entre os patógenos e o hospedeiro é um processo que acarreta em inúmeros desafios ao sistema respiratório bovino. Neste processo, devido a algum fator desencadeante como o estresse, há uma predisposição a colonização do trato respiratório por agentes virais, os quais fornecem condições adequadas para a infecção bacteriana secundária. O cenário amplamente visto na ocorrência do CRB está ligado a combinação de um bovino jovem e imunocomprometido (EDWARDS, 2010).

2.4 Agentes Etiológicos

Sabe-se que, animais imunocomprometidos por diversos fatores estão predispostos a infecção viral primária pelos agentes virais BVDV, PI-3, BoHV-1 e o BRSV (ACKERMANN & BROGDEN, 2000; EDWARDS, 2010).

2.4.1 Vírus da Diarreia Viral Bovina

O vírus da BVDV é considerado um dos principais patógenos que acometem bovinos e podem causar grandes perdas a produção em todo o mundo (BOLIN, 1990). O agente etiológico da doença já foi identificado na maioria dos países onde há criação de bovinos e sua prevalência chega a atingir por vezes, 50 a 90% do rebanho, e em países onde não há a ocorrência da febre aftosa, BVDV é considerado o agente viral de maior importância, gerando preocupações quanto ao seu controle e erradicação (FLORES, 2007, CANÁRIO et al., 2009). No Brasil há grande quantidade de cepas variantes distribuídas no rebanhos bovinos, sendo responsáveis por grande parte dos problemas reprodutivos do setor (DEZEN et al., 2013).

O vírus da BVDV é um vírus com RNA, envelopado da família *Flaviviridae* e do gênero *Pestivirus* (FRANCKI et al., 1991). Este agente pode ser classificado em dois biótipos, estes baseados na capacidade em produzir efeitos citopáticos, divididos assim em não citopatogênico (NCP) e citopatogênico (CP) e em genótipos: BVDV-1 e BVDV-2 (BIANCHINI, 2001). Sabe-se que os vírus da BVDV-1 compreendem grande parte das cepas utilizadas na fabricação de vacinas em decorrência a sua baixa virulência (FLORES, 2007).

O ciclo da BVDV já se inicia no momento da prenhez, onde fêmeas imunossuprimidas, no período de 25 a 125 dias de gestação, ao entrarem em contato com o vírus, produzem os

bezerros persistentemente infectados (PI), os quais podem apresentar-se com a patologia conhecida como Doença das Mucosas (DM), mas também, podem ser assintomáticos tornando-se reservatórios, e assim podem eliminar o vírus em todas suas secreções e excreções (RADOSTITS, BLOOD & HINCHCLIFF, 2002). Ainda pode ocorrer transmissão iatrogênica por agulhas, luvas, sêmen ou qualquer instrumental cirúrgico (FLORES, 2007).

O vírus CP está relacionado com a ocorrência da DM e PI, enquanto o vírus NCP atravessa a barreira placentária, infectando o feto, causando doenças congênitas e problemas reprodutivos. Caso a infecção ocorra do segundo ao quarto mês de gestação é comum abortos ou nascimento dos PI, porém se a infecção ocorrer após o quarto mês de gestação os problemas estão relacionados com as alterações congênitas (RADOSTITS, BLOOD & HINCHCLIFF, 2002).

O BVDV contribui para a ocorrência de infecções bacteriana secundárias devido a sua ação imunossupressora a qual afeta diferentes componentes do sistema imune inato, como por exemplo, altera a produção de *interferon*, alteração na quimiotaxia e na fagocitose. O BVDV pode induzir a apoptose de linfócitos B e T no sistema linfóide (CHASE, ELMOWALID & YOUSIF, 2004; CHASE et al., 2015).

2.4.2 Vírus da Parainfluenza bovina

O vírus Parainfluenza bovino tipo 3 (PI-3) é pertencente a família *Paramyxoviridae* e gênero *Paramyxovirus* (MURPHY, 1999). Causa infecções de nível respiratório em bovinos e ovinos (FLORES, 2007), causando alterações como secreção nasal e outros sinais clínicos, caracterizando o quadro conhecido como febre dos transportes (ANDREWS et al., 2008). No Brasil a ocorrência deste vírus é altamente difundida pelos rebanhos (FLORES, 2007).

Os sinais clínicos que podem ser apresentados pelos animais estão ligados a sinais respiratórios, dentre estes, cita-se dispnéia, tosse, descarga nasal, anorexia e ainda efeito pirético, podendo resultar em pneumonia intersticial (FLORES, 2007). Porém ainda podem se apresentar animais assintomáticos, entretanto devido a sua alteração na defesa pulmonar, o patógeno pode predispor as infecções secundárias, na maioria das vezes ligados a uma situação que interfira no sistema imunitário (SRIKUMARAN, KELLING & AMBAGALA, 2007).

O vírus da parainfluenza bovina tipo 3 (PI-3) possui a capacidade de replicação nas células epiteliais de todo o sistema respiratório, causando danos principalmente na parte inferior deste. Na fase aguda da infecção pode haver a ocorrência de necrose de células epiteliais dos

brônquios e a destruição ainda do sistema muco ciliar. O vírus acomete também macrófagos alveolares, facilitando a colonização bacteriana (BRYSON et al., 1983; BRYSON, 1985; DYER et al., 1994).

2.4.3 Herpesvírus bovino tipo 1

Já a infecção causada pelo Herpesvírus bovino tipo 1 (BoHV-1) é responsável pela ocorrência da rinotraqueíte infecciosa bovina (IBR) que segundo Flores (2007), é um agente viral da família *Herpesviridae* e da subfamília *Alphaherpesviridae*. Este vírus se encontra amplamente disseminado pelo território nacional, podendo acometer até 82% do rebanho do país, estando relacionado com problemas de cunho respiratório e reprodutivo (FLORES, 2007).

A IBR é conhecida como uma das doenças que compõem o CRB, a qual é responsável por grandes perdas produtivas, ligadas a alta mortalidade e ao subdesenvolvimento dos bezerros. Os sinais clínicos estão ligados a ocorrência de febre, anorexia, secreções nasais, conjuntivite, dispnéia, tosse e estridor traqueal (SPILKI et al., 2004). Um dos grandes problemas deste vírus é a capacidade deste em induzir um estado de latência nos gânglios trigeminais ou sacrais, quando os animais são expostos a uma situação estressante e tendem a se tornar imunocomprometidos e assim o vírus encontra o ambiente ideal para a sua replicação (JONES, 2003).

Um animal imunossuprimido infectado por este agente viral, pode ter seu epitélio do trato respiratório superior destruído, reduzindo conseqüentemente a ação muco ciliar, favorecendo a uma pneumonia ou broncopneumonia secundária por agente bacterianos comensais do trato respiratório (CUSACK, MCMENIMAN & LEAN, 2003).

A gravidade da doença causada por BoHV-1 pode ser influenciada por inúmeros fatores, entre estes, a virulência do agente e fatores ligados a resistência do hospedeiro. O vírus da rinotraqueíte infecciosa bovina atua no sistema respiratório de forma a causar lesões na mucosa respiratória, interferindo da depuração respiratória e na atividade mucociliar. Este tipo de vírus, pode ainda reduzir a função dos macrófagos e neutrófilos polimorfonucleados, acarretando também na depleção dos linfócitos e na mudança ampla nos leucócitos totais do trato respiratório (MUYLKENS et al., 2007). Neste tipo de infecção viral há também um aumento de citocinas inflamatórias, que conforme relatado por Hodgson et al. (2005) são um dos mecanismos que atuam na sinergia viral-bacteriana, onde em momentos que há uma infecção viral instalada, permite-se que ocorra a colonização bacteriana aumentando ainda mais a

virulência da infecção.

2.4.4. Vírus Sincial Bovino

O vírus sincicial respiratório bovino (BRSV) é um agente viral pertencente à família *Paramyxoviridae*, e subfamília *Pneumovirinae*, sendo extremamente importante na ocorrência do CRB e está amplamente difundido em território nacional, podendo causar alterações como bronquiolite e ainda pneumonia intersticial (FLORES, 2007). A transmissão viral está relacionada a via aérea e também ao contato direto (ALMEIDA et al., 2005). Os sinais clínicos vão desde animais assintomáticos até febre, aumento das secreções nasais, tosse, dispnéia, enfisema pulmonar e até morte, sendo mais grave em bezerros jovens (FLORES, 2007). Além das alterações respiratórias, este agente causa destruição do epitélio ciliado do trato respiratório e leva a baixa eficiência dos macrófagos alveolares, podendo predispor a um imunocomprometimento, com consequente infecção bacteriana secundária (HAY et al., 2016).

O BRSV multiplica-se em grande parte nas células epiteliais do trato respiratório, especificamente nos pneumócitos tipo II (VALARCHER & TAYLOR, 2007). Esse vírus induz a produção de citocinas, as quais intermediam a síntese de anticorpos e ainda levam a acentuada eosinofilia, estes fatores acarretam na ocorrência da bronquiolite evidenciada, além da predisposição a infecção bacteriana secundária devido a fragilização do sistema muco ciliar (ROSENBERG & DOMACHOWSKIE, 2012).

2.4.5 Agentes Bacterianos

Desta forma o CRB tem seu início com o envolvimento de patógenos virais que têm seus sinais clínicos alterados dependendo da virulência e ainda da susceptibilidade do hospedeiro. A infecção viral de uma maneira geral acomete as defesas do trato respiratório por meio de dois mecanismos primordiais. Inicialmente é a interferência na barreira física, levando a alteração da superfície das mucosas, danificando as células epiteliais desta, comprometendo a depuração mucociliar, permitindo a infecção e colonização das bactérias comensais do trato respiratório (CONFER, 2009; FULTON et al., 2009), e posteriormente os agentes virais interferem na defesa imune inata, prejudicando a função dos macrófagos e neutrófilos e das respostas adaptativas suprimindo os linfócito T e B, levando a imunossupressão dos

organismos, predispondo a ocorrência de infecção secundária por agentes bacterianos comensais do trato respiratório, como a *Mannheimia haemolytica*, *Pasteurella multocida*, *Histophilus somni* ou *Mycoplasma bovis* (EDWARDS, 2010; SRIKUMARAN, KELLING & AMBAGALA, 2007; FULTON et al., 2009).

A *Mannheimia haemolytica*, faz parte de uma classe das proteobactérias e da família *Pasteurellaceae*. É um patógeno de importância econômica considerável para a indústria bovina. Sabe-se que embora o organismo exista de forma natural e comensal no trato respiratório destes animais, também está associado ao CRB (CARTER, CHENGAPPA & ROBERTS, 1995). A *Mannheimia haemolytica* pode causar alterações em bezerros jovens (AMES, 1997), porém o maior impacto está relacionado aos animais recém desmamados (WILSON, 1989). A *Pasteurella multocida* é comumente identificada em animais jovens, submetidos a condições de estresse que levam a imunossupressão e comprometimento da barreira mucociliar (APLEY, 2006). Viana et al. (2007), avaliaram a incidência destes dois agentes, e perceberam que a maior incidência está na ocorrência da *Mannheimia haemolytica* isolada (47,3%), seguida pela associação dos dois agentes (27,5%) e a *Pasteurella multocida* quando encontrada isoladamente apresentou uma incidência de (10,7%).

A bactéria *Histophilus somni* é uma bactéria gram negativa comensal da região nasofaríngea, mas pode colonizar o trato respiratório inferior (APLEY, 2006). A presença deste agente assim como os demais, está ligada a condições de estresse e a forma de controle de maior eficiência, está na prevenção destas situações. A bactéria tem sido associada com várias manifestações de doenças respiratórias, como por exemplo, a broncopneumonia purulenta (CORBEIL, 2008). Oliveira (2014) verificou uma incidência de 19 % em bovinos leiteiros que possuíam alterações respiratória causadas por este agente.

O agente *Mycoplasma bovis* não possui uma relação tão clara com o CRB como os agentes bacterianos já citados, pois este agente pode levar a ocorrência de alterações respiratórias sem que se necessite de condições de estresse. As bactérias podem ser encontradas nas glândulas mamárias e pode assim ser ingeridas via leite e aerossóis durante o aleitamento, tornando assim, uma potencial via para a inoculação do trato respiratório. Após isso o agente chega a corrente sanguínea levando a bacteremia (CASWELL & ARCHAMBAULT, 2008). Margineda et al. (2013) relatam dois surtos em animais de confinamento causados por este agente, onde registraram morbidade e mortalidade variando de 6% a 16%.

Alguns outros agentes bacterianos também podem estar envolvidos em lesões do tecido

pulmonar em bovinos, porém com menor frequência, entre estes cita-se a *Arcanobacterium pyogenes*, várias espécies do *Pasteurella* e gêneros de *Mycoplasma*, podem estar relacionados ainda *Staphylococcus* e *Streptococcus* (GRIFFIN et al., 2010).

2.5 Diagnóstico

Além de conhecer os agentes causadores do CRB, é necessário o conhecimento sobre o diagnóstico desta afecção. A detecção precoce é fundamental para evitar a transmissão dentro do rebanho. Na maioria das vezes o diagnóstico se inicia nos sinais clínicos de algum animal, a partir da inspeção visual (EDWARDS, 2010) e ainda pelos dados epidemiológicos (RIET-CORREA, 2007).

A infecção viral muitas vezes pode ser assintomática, mas se os animais apresentarem sinais clínicos, estes podem estar relacionados com os períodos de estresse e alterações respiratórias. Os sinais clínicos da doença podem variar, podendo causar tosse, secreção ocular e nasal, aumento da temperatura quando houver envolvimento bacteriano, e até casos de dispneia e taquipneia, anorexia e apatia (RIET-CORREA et al., 2007).

Junto a visualização dos sinais clínicos, pode-se realizar o exame físico com aferição de parâmetros que possam indicar alterações respiratórias como auscultação, percussão pulmonar e aferição da temperatura. Por meio da ausculta, pode-se perceber áreas de consolidação dos lobos pulmonares crânio ventrais (RIET-CORREA et al., 2007), isoladamente ou em conjunto com crepitação em lobos pulmonares dorso caudais em decorrência ao enfisema que pode estar presente (RADOSTITS, BLOOD & HINCHCLIFF, 2002).

Dentre alguns dos indicadores da presença de doença, cita-se o aumento de temperatura corpórea, Hart (1988) ainda afirma que a resposta febril na fase aguda tem seu início pelo efeito pirógeno endógeno como, por exemplo, a interleucina-1 após a infecção por microrganismos. O aumento da temperatura corpórea está ligada a um aumento de neutrófilos e conseqüentemente uma resposta a infecção (SCHAEFER et al., 2007). Como uma das principais causas de febre em confinamento é o CRB, o uso da termografia infravermelha ou da aferição da temperatura corpórea surge como um método precoce para o diagnóstico desta afecção (SCHAEFER et al., 2007).

Neste sentido a termografia infravermelha é uma medida mais vantajosa que a aferição da temperatura retal, pois permite a aferição a distância, porém ela pode sofrer influências de lesões, de outras doenças e até mesmo de alterações comportamentais, como o estresse. Outros

fatores ainda, como radiação solar ou temperatura ambiente podem influenciar na aferição da temperatura, podendo diminuir a eficácia deste método diagnóstico (BOWERS et al., 2009).

Já a temperatura corpórea pode ainda ser influenciada pela espessura da pele e presença de pelos (MCCAFFERTY, 2007), por isso, Schaefer et al. (2004) concluíram que a temperatura na região ocular é a que melhor reflete a temperatura corporal interna. Segundo Schaefer et al. (2007) a aferição da temperatura ocular é uma das formas da obtenção dos dados, com menor desvio e ainda permite identificar precocemente animais com CRB, sendo que animais normais apresentam a temperatura ocular próxima a 35,3°C e animais com alguma alteração se apresentam com temperaturas superiores a este valor, deve-se atentar ao fato de que a temperatura e umidade do ar podem influenciar no estado fisiológico do animal e conseqüentemente na temperatura (HAHN et al., 2009). Schaefer et al. (2012) ressaltam ainda que a influência ambiental sobre a temperatura pode resultar em diagnósticos falsos positivos ou falsos negativos. Outro fator extremamente importante, é relatado por Church et al. (2014), na qual a distância do termômetro e o globo ocular pode ter influência na temperatura obtida, visto que, quanto mais distante, menor a temperatura se apresenta.

A avaliação das lesões no *post mortem* é também um método comprovado para determinar o diagnóstico. Devem ser coletados dados, para que seja identificado o agente causador da enfermidade e assim orientar a tomada de decisão para os demais animais (EDWARDS, 2010). O diagnóstico por meio do exame histopatológico do tecido pulmonar, verifica a presença de células sinciciais localizadas nos bronquíolos e em epitélio alveolar, podendo também apresentar lesões de pneumonia intersticial e enfisema (DUNGWORTH, 1993).

Segundo uma pesquisa realizada por Caswell & Willians (2007), na maioria dos animais que apresentam sinais indicadores do CRB, as lesões macroscópicas perceptíveis são lesões típicas de broncopneumonia, principalmente em áreas dos lobos craniais e ventrais, podendo por vezes se estender aos lobos pulmonares dorso caudais e costumam se apresentar como pneumonia intersticial. Além disso as lesões patológicas podem ser verificadas macroscopicamente, por meio de verificação de alteração na coloração e na textura dos lobos pulmonares, sendo que as principais alterações incluem coloração avermelhada que podem indicar hiperemia ou hemorragia, podem-se visualizar ainda lobos pulmonares com cores escuras e presença de áreas colapsadas sugerindo a presença de atelectasia, áreas róseas tendendo a esbranquiçadas as quais podem estar associadas a anemia, fibrose ou a enfisema e

ainda visualização de áreas na superfície pleural amareladas, as quais indicam exsudação fibrosa (MORROW-TESCH, MCGLONE & SALAK-JOHNSON, 1994; HICKS et al., 1998).

Na macroscopia, a broncopneumonia se caracteriza como consolidação irregular na região de lobos pulmonares crânio-ventrais, com coloração vermelho escuro a acinzentado, e de acordo com a extensão das lesões é possível graduar a severidade da pneumonia (CERIBASI et al., 2014).

Posteriormente a análise macroscópica, surge o exame histopatológico, como uma importante ferramenta para confirmar as suspeitas já previamente levantadas na macroscopia. A partir da confecção de lâminas, é possível visualizar algumas lesões específicas como por exemplo, a atelectasia, o enfisema, a hemorragia, edema, inflamação, necrose e bronquite (MORROW-TESCH, MCGLONE & SALAK-JOHNSON, 1994; HICKS et al., 1998). Segundo um estudo realizado por Cerqueira (2017), os achados de maior relevância encontrados na microscopia em bovinos de corte, confinados e acometidos pelo CRB foram, hemorragia, infiltrado inflamatório, bronquite, edema, pleurite e fibrose. De acordo com estes achados é possível identificar pneumonia intersticial, fibrinosa e catarral (CERIBASI et al., 2014).

Além da análise macroscópica e microscópica, alguns testes laboratoriais podem ser usados como forma de diagnóstico do CRB, dentre estes cita-se a sorologia, o isolamento viral e bacteriano, imunohistoquímica e imunofluorescência. Entretanto o custo para implantação destes testes pode ser alto, além do tempo necessário para a confirmação do resultado. Outro fator limitante é a necessidade da contenção dos animais para a colheita do sangue, fator que pode desencadear picos de estresse (FULTON & CONFER, 2012).

Dentre os exames laboratoriais pode-se citar a análise de concentração de imunoglobulinas, onde sabe-se que estas são glicoproteínas, conhecidas como anticorpos, onde a classe encontrada em maior concentração é classe das IgG, as quais são produzidas por plasmócitos no baço e são extremamente fundamentais na resposta imune. Já a IgA é produzida pelos plasmócitos que estão presentes na mucosa do intestino, no trato respiratório entre outros (TIZARD, 2014).

Além da dosagem das imunoglobulinas, pode-se realizar a dosagem das proteínas de fase aguda, as quais estão presente em respostas inflamatórias e podem indicar a presença de uma doença antes mesmo dela acontecer (SIMPLICIO, 2013). Se tratando da resposta de fase aguda de um organismo, esta é caracterizada uma por uma reação sistêmica advinda da quebra da

homeostasia, um dos sinais desta reação é a produção hepática de proteínas de fase aguda, as quais surgem antes mesmo da presença dos sinais clínicos (CECILIANI et al., 2012). Dentre estas proteínas, cita-se a haptoglobina, a qual tem grande importância na questão imunoreguladora em processos infecciosos e inflamatórios (ARREDOUANI et al., 2005). A haptoglobina é uma glicoproteína com função primária de prevenção na perda de ferro sanguíneo, perante a formação de complexos estáveis com a hemoglobina plasmática (LAURELL & NYMAN, 1957), desempenhando assim sua função de inibição do crescimento bacteriano, por meio da restrição do ferro necessário para o crescimento destes agentes (EATON et al., 1982).

Nos bovinos, a Haptoglobina é considerada um marcador extremamente importante, servindo para auxílio no diagnóstico, acompanhamento da evolução da doença bem como para avaliar o protocolo terapêutico. Em um bovino saudável, suas concentrações são baixas ou imperceptíveis (SIMPLICIO, 2013). Diante disso, sugere-se o uso da dosagem de haptoglobina em bovinos de corte para diagnóstico precoce de alterações respiratórias como pneumonias (BLAGOJEVIC et al., 2011).

2.6 Controle do Complexo Respiratório Bovino

As medidas de controle do CRB em confinamentos, visam minimizar a morbidade e mortalidade da doença, maximizando o desempenho alimentar e o valor da carcaça. Para isso faz-se necessário reduzir efetivamente a exposição ao patógeno, implementando medidas de higiene, controle de trânsito animal, quarentena e metafilaxia com antibiótico. Também deve-se estimular o sistema imune, com uso de vacinas específicas e gerenciar os fatores de risco que podem aumentar a propagação da doença, evitando-se superlotação e mudanças bruscas, seja de dieta ou de manejo (FLORES, 2007; SAÑUDO, JIMENO & CERVIÑO, 2008; TEIXEIRA, MCART & BICALHO, 2017).

Porém apesar da possibilidade do uso da metafilaxia e da profilaxia, o controle do CRB não é algo simples, desta forma, trabalhar sobre um manejo que reduza o estresse e consequentemente o comprometimento imunológico, pode ser uma forma eficaz no controle desta enfermidade (SLOMPO et al., 2016).

Neste contexto, a metafilaxia abrange o uso de antibioticoterapia em massa, em momentos estratégicos para evitar a proliferação bacteriana nos pulmões evitando assim a

instalação da pneumonia (RADOSTITS, BLOOD & HINCHCLIFF, 2002). Pode-se realizar a aplicação do medicamento antes da exposição ao patógeno, quando os animais chegam ao confinamento, ou após a exposição ao patógeno, seja durante a instauração da doença ou até em momentos onde os sinais clínicos já estejam presentes (SMITH, 1998; NICKELL, 2010; EDWARDS, 2010). Porém deve-se ter extremo cuidado no uso indiscriminado de antibiótico, pois estes apesar de serem aparentemente eficazes na prevenção de doença, podem causar resistência, ter custo elevado, além da proibição do uso (SMITH, 1998).

Na profilaxia, trabalha-se com vacinas de agentes específicos, o que pode resultar em uma difícil escolha, pois nem todas as vacinas fornecem o mesmo nível e eficácia de prevenção (STOKKA, 2010). As formulações disponíveis no mercado são direcionadas principalmente contra agentes virais (BVDV, BRSV, PI-3 e BoHV-1) e algumas ainda possuem ação contra agentes bacterianos como *M. haemolytica*, *P. multocida* e *Histophilus somni* (LORENZ et al., 2011).

Estas vacinas podem ser monovalentes, polivalentes, assim como vacinas replicativas nas quais os agentes são atenuados ou vivos, ou as vacinas não replicativas onde os agentes são inativados (EDWARDS, 2010; TIZARD, 2014). Em relação ao tratamento do inoculante vacinal, cada tipo possui vantagens que podem interferir na proteção. As vacinas inativadas, são produtos que possuem os agente inativados por métodos físicos ou químicos, os quais ocasionam a desnaturação das proteases e injúria aos ácidos nucleicos, ocasionando a perda da capacidade destes em gerar infecções, porém mesmo assim possuem seu efeito de imunogenicidade (FLORES, 2007; EDWARDS, 2010). Elas são mais estáveis, possuem vida útil maior e baixa probabilidade de virulência residual (FLORES, 2007).

As vacinas replicativas modificadas, atenuadas ou vivas simulam uma infecção viral natural, entretanto os agentes passam por rigorosos processos de atenuação ou inativação (FLORES, 2007). Este tipo de vacina apresenta forte resposta imune mediada por células e são relativamente baratas. Além disso esse tipo de vacina envolve todos os componentes do sistema imune, ocasionando a ativação do sistema imune inato e adaptativo, produzindo uma resposta imune longa, descartando a necessidade de reforços (FLORES, 2007). Porém este tipo vacinal pode ocasionar a inúmeros efeitos adversos envolvidos na multiplicação do agente no hospedeiro, seja pela reversão da virulência ou por qualquer outro fator ligado ao animal (GASPAR & SANTOS, 2014).

Existem diferentes processos para atenuar os agentes empregados nas vacinas. Na

atenuação termo sensível (TS), os agentes patogênicos são obtidos por meio da seleção de variantes que possuem a habilidade limitada de se replicar em temperaturas próximas a temperatura corporal (37°C), e replicam-se de forma eficiente em temperaturas um pouco a baixo (30-33°C), o que resulta em um cultivo de microrganismos sob temperaturas mais baixas que a do hospedeiro, dificultando o desenvolvimento destes sob temperaturas mais altas, como a corpórea, diminuindo o risco de infecções induzidas. Outras técnicas são descritas para a atenuação como a manipulação genética, ou pelo método mais comum, conhecido como cultura prolongada em tecidos, onde a atenuação é atingida por meio do cultivo das células em um organismo onde este não está adaptado (FLORES, 2007).

Grande parte dos produtos, sejam inativados ou atenuados, possuem indicação para administração subcutânea ou intramuscular e recentemente por via intranasal (FULTON et al., 2003; EDWARDS, 2010; ELLIS et al., 2007; XUE et al., 2010; SOCHA et al., 2013; GOMES, 2016; OLLIVETT, 2018).

Destes produtos registrados, Magalhães (2017) testou um produto composto por cepas virais vivas alteradas quimicamente de BoHV-1 e BPIV-3, viva modificada de BRSV e cepa do vírus inativado de BVDV, por via parenteral e concluiu que animais vacinados anteriormente a entrada ao confinamento e com a realização do reforço vacinal de forma adequada, apresentaram 2,5 menos chances de desenvolverem o CRB.

Outros estudos realizados com vacinas de aplicação intramuscular como o de Fulton et al. (2003), contendo vírus modificados contra BVDV e BoHV-1, demonstraram que o uso destas vacinas induzem viremia transitória, durando de três a sete dias, com um pico maior no sétimo dia após a aplicação, porém não houve contaminação dos demais animais. Neste estudo, também percebeu-se que a vacina com vírus vivo modificado e vírus inativado produziu uma resposta imune mais rápida que somente as cepas de vírus vivo modificado. Além disso, conclui-se que o uso de duas doses vacinais induziu um maior nível de anticorpos sérico com durabilidade maior, quando comparados a aplicação de apenas uma dose vacinal.

Em relação as vacinas intranasais, a única comercial brasileira é composta por vírus BoHV-1, bPIV-3 (amostras termo sensíveis) e BRSV (amostra viva). Sua recomendação para bezerros neonatos é duas doses, uma nos primeiros dias de vida e a outra 56 dias após, com a finalidade de induzir resposta humoral mais robusta que as parenterais mesmo quando ainda há a presença de anticorpos maternos (ELLIS et al., 2007). Já para gado confinado recomenda-se dose única no momento da entrada ao confinamento.

Desta maneira a baixa imunogenicidade das vacinas pode ser multifatorial, podendo estar relacionada com a concentração antigênica presente na vacina, ou ainda em decorrência aos métodos utilizados para a inativação, ou a formulação e a concentração dos adjuvantes (SILVA, WEIBLEN & FLORES, 2007). Desta forma é evidente que as estratégias de produção das vacinas para rebanhos bovinos devem ser ajustadas, com o objetivo de melhorar a estimulação da resposta imune (ANZILIERO et al., 2015; SILVA, WEIBLEN & FLORES, 2007).

Ainda não há um consenso sobre o momento ideal para a vacinação de bovinos de corte. Enquanto Edwards (2010), recomenda vacinação antes do transporte. Magalhães (2017) recomenda a primovacinação 60 dias e o reforço 30 dias antes da entrada ao confinamento. Outros três protocolos vacinais foram testados por Schumacher (2019), sendo um, com a primovacinação quinze dias antes do desmame e o reforço 15 dias antes do confinamento, outro com a primovacinação no momento do desmame e reforço na entrada ao confinamento e o terceiro, com a primovacinação 15 dias após o desmame e reforço, 15 dias após a entrada ao confinamento, onde o autor percebeu que o primeiro protocolo, com a primovacinação e o reforço sendo realizados antes do momento de estresse (desmame e confinamento) é o melhor protocolo a se instituir para garantir a profilaxia do CRB. Desta forma quando se utiliza de protocolos vacinais parenterais, o ideal é que este seja aplicado anteriormente a entrada ao confinamento, visto que neste momento há elevados níveis de cortisol decorrentes do manejo, o que acarreta em uma diminuição dos anticorpos e também interfere na resposta de citocinas pró-inflamatórias (CARROLL et al., 2015).

Porém sabe-se também que, o sucesso da resposta vacinal está ligado a imunocompetência do animal (LORENZ et al., 2011). Sabendo que a aplicação do protocolo vacinal em épocas de estresse pode limitar sua eficiência, sendo assim, a administração vacinal no período que antecede o momento de maior liberação de cortisol pode superar essas limitações (EDWARDS 2010, LORENZ et al., 2011)

Segundo Sindan (2018), existem 19 produtos comerciais que possuem algum agente etiológico contra o CRB, dentre estes apenas um possui indicação de aplicação intranasal, e os demais pela via intramuscular ou ainda subcutânea. Desta forma alguns autores testaram a eficiência da via de administração, assim, Anziliero et al. (2015), testaram oito tipos vacinais intramusculares e afirmam que a imunogenicidade das vacinas contra BoHV-1 por esta via, é aceitável, e produz uma resposta imune adequada, porém a capacidade de gerar uma resposta

imune contra BDVD não foi detectada em quatro composições vacinais por via intramuscular testadas.

Quando comparada as duas vias vacinais, Rossi (2019) verificou que a vacina intranasal em dose única causou maior resposta humoral e maior depressão da resposta de células broncoalveolares que a intramuscular em duas doses, no período de desenvolvimento da imunidade vacinal. Gomes et al. (2015) também observou que a vacina intranasal deprime a atividade de macrófagos alveolares, promove influxo neutrofílico para a região e aumenta secreção do trato respiratório de bezerros neonatos vacinados intranasalmente com a vacina comercial recomendada para aplicação intramuscular. Como a vacina intranasal traz em sua composição agentes atenuados, acredita-se que ela possa inocular diretamente no trato respiratório agentes com capacidade de replicação diminuída, o que mimetiza em menores proporções uma infecção viral, promovendo diminuição da defesa imune celular local. Já as vacinas atenuadas por via intramuscular, não estariam inoculando no trato respiratório os agentes virais, e portanto se ocorrer uma replicação viral diminuída, esta ocorreria apenas na circulação, promovendo viremia, tal qual relatada por Fulton et al. (2003).

A via intranasal vem sendo descrita como uma via que tem a capacidade de proteção, mesmo quando o organismo se apresenta com anticorpos colostrais (ELLIS et al., 2007), além disso os antígenos absorvidos via mucosa são mais propensos a prevenir a infecção (WEST et al., 2000). Vacinas intranasais induzem a produção de IgA local, protegendo contra a invasão de agentes infecciosos, como por exemplo agentes bacterianos oportunistas (HISHIKI et al., 2004). Como esta via de vacinação é recente, há carências de trabalho sobre o melhor momento a se vacinar bovinos submetidos a confinamento. Tais evidências causam indagações de qual seria a melhor via de aplicação de vacinas para bovinos confinados, visto que a maior resposta humoral pode suprir a menor resposta celular, mesmo em momentos de estresse.

3. CONCLUSÃO

O complexo respiratório bovino é uma enfermidade multifatorial que afeta rebanhos bovinos principalmente de animais confinados. Entre as causas da ocorrência, cita-se o estresse, manejo, idade, transporte, etc. Diversos são os agentes envolvidos para tal, entre esses citam-se os agente virais que alteram a proteção do sistema respiratório, permitindo com que bactérias comensais adentrem ao trato.

Como forma de prevenção, cita-se o uso da vacinação. As medidas profiláticas como evitar estresse e manejos desnecessários devem estar unidas a prática da vacinação. Dentre as vacinas, tem-se as de aplicação subcutânea, intramuscular e intranasal.

O diagnóstico se dá por meio da avaliação dos sinais clínicos respiratórios, como a temperatura ocular, presença de secreção nasal. Além disso pode-se fazer o diagnóstico laboratorial com auxílio das dosagens séricas de haptoglobina e imunoglobulinas (IgG e IgA). No *pós mortem* pode-se diagnosticar macroscopicamente lesões compatíveis com pneumonia além das análises histopatológicas.

O CRB é uma doença extremamente importante para a produção bovina, trabalhar na prevenção desta, é fundamental para o sucesso produtivo. Aliar medidas de diagnóstico precoce, prevenção de estresse e a vacinação auxiliam para que isso aconteça.

REFERÊNCIAS

- ABBAS, A. K.; LICHTMAN, A. H.; PILLAI, S. **Imunologia Celular e Molecular**. 6.ed. São Paulo: Elsevier, 2008. 537p.
- ACKERMAN, M. R.; DERSCHEID, R.; ROTH, J. A. Innate immunology of Bovine Respiratory Diseases. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v.26, n.2, p.215-228, 2010.
- ACKERMANN, M.R.; BROGDEN, K.A. Response of the ruminant respiratory tract to *Mannheimia (Pasteurella) haemolytica*. **Microbes and infection**, v.9, n.2, p.1079-1088, 2000.
- ALMEIDA, R.S.; SPILKI, F.R.; ROEHE, P.M.; ARNS, C.W. Detection of Brazilian bovine respiratory syncytial virus strain by a reverse transcriptase-nested-polymerase chain reaction in experimentally infected calves. **Veterinary Microbiology**, v.105, n.2, p.131-135, 2005.
- AMES, T.R. Dairy calf pneumonia: the disease and its impact. **Veterinary Clinics North American Food. Animal Practice**. v.13, n.3, p.379-391, 1997.
- ANDREWS, A.H.; BLOWEY, R. W.;BOYD, H. .; EDDY, E, R.G. **Medicina Bovina. Doenças e Criação de Bovinos**. 2. ed. São Paulo: Roca, 2008, 1080 p.
- ANZILIERO, D.; MARTINS, M.; WEISS, M.; MONTEIRO, F. L.; ATAIDE, C. F.; WEIBLEN, R.; FLORES, E. F. Resposta sorológica aos herpesvirus bovino tipos 1 e 5 e vírus da diarreia viral bovina induzida por vacinas comerciais. **Ciência Rural**, v.45, n.1, p.58-63, 2015.
- APLEY, M. Bovine respiratory disease pathogenesis, clinical signs, and treatment in lightweight calves. **Veterinar Clinics North Am Food Animal Practice**. v.22, n.2, p.399-411, 2006.
- ARREDOUANI, M. S., KASRAN, A., VANOIRBEEK, J. A, BERGER, F. G., BAUMANN, H. & CEUPPENS, J. L. Haptoglobin dampens endotoxininduced inflammatory effects both in vitro and in vivo. **Immunology**, v.114, 263–71, 2005.
- ASSIS BRASIL, N. D.; HINNAH, F. L.; FISS, L.; SALLIS, E. S. V.; GRECCO, F. B.; LADEIRA, S. R. L.; MARCOLONGO-PEREIRA, C.; SCHILD, A. L. Doenças respiratórias em bezerros na região sul do Rio Grande do Sul: estudo retrospectivo de 33 surtos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v.33, n.6, p.745-751, 2013.
- BAPTISTA, L. A. **Avaliação produtiva e sanitária em bovinos confinados sob metafilaxia antimicrobiana**. 2017. 60p. (Dissertação de mestrado). Departamento de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia - MG,

BERTAGNON, H.G.; BATISTA, C. F.; SANTOS, B.P.; LIMA, M. G. B, BELLINAZZI, J.B.; DELLA LIBERA, A.M.M.P. Influência da orquiectomia na função imune broncoalveolar de garrotes de sete meses de idade. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.69, n.2, p.310-316, 2017.

BIANCHI E., MARTINS M., WEIBLEN R. & FLORES E.F. Perfil genotípico e antigênico de amostras do vírus da diarreia viral bovina isoladas no Rio Grande do Sul (2000-2010). **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v.31, n.8, p.649-655, 2011.

BIANCHINI, E.; MARTINS, M.; WEIBLEN, R.; FLORES, E. F. Perfil genotípico e antigênico de amostras do vírus da diarreia viral bovina isoladas no Rio Grande do Sul (2000-2010). **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v.31, n.8, p.649-655, 2001.

BLAGOJEVIC, B., ANTIC, D., DUCIC, M. & BUNCIC, S. A study of haptoglobin levels in groups of cattle and pigs with and without abnormalities at meat inspection. **Foodborne Pathogens and Disease**, v.8, p.1119–1124, 2011.

BOLIN S. R. The current understanding about the pathogenesis and clinical forms of BVD. **Veterinary Medicine**. v.85, n.10, p.1123-1132, 1990.

BORGES, A. S. Lavagem traqueobrônquica por sondagem nasotraqueal em bezerros. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.56, n.3, p. 307-311, 2004.

BOWERS, S., GANDY, S., ANDERSON, B., RYAN, P., WILLARD, S. Assessment of Pregnancy in the Late-gestation Mare Using Digital Infrared Thermography. **Theriogenology**. v.72, n.3, p.372-377, 2009.

BRYSON, D.G. Calf pneumonia. **Veterinary Clinics of North America: Food Large Animal Practice**, v.145, n.2, p.237-257, 1985.

BRYSON, D.G.; MCNULTY, M.S.; MCCRACKEN, R.M.; CUSH, P.F. Ultrastructural features of experimental parainfluenza type 3 virus pneumonia in calves. **Journal of Comparative Pathology**, v.93, n.3, p.397–414, 1983.

BURTON, J. L.; MADSEN, S. A.; CHANG, L. C.; WEBER, P. S. D.; BUCKHAM, K. R.; VAN DORP, R.; HICKEY, M. C.; EARLEY, B. Gene expression signatures in neutrophils exposed to glucocorticoids: a new paradigm to help explain “neutrophil dysfunction” in parturient dairy cows. **Veterinary Immunology and Immunopathology**. v.105, n.3-4, p.197–219, 2005.

CANÁRIO, R.; SIMÕES, J.; MONTEIRO, M. H.; MIRA, J. C. Diarreia Viral Bovina: uma afecção multifacetada. 2009. Disponível em <
http://www.veterinaria.com.pt/media/DIR_27001/VPC-I-2-e6.pdf > Acesso em: 05/09/2019.

CARRETTA, M. D.; CONEJEROS, I.; HIDALGO, M. A.; BURGOS, R. A. Propionate induces the release of granules from bovine neutrophils. **Journal of dairy science**, v.96, n.4, p.2507-2520, 2013.

CARROLL, J. A.; BURDICK SANCHEZ N. C.; HULBERT L. E.; BALLOU M. A.; DAILEY J. W.; CALDWELL L. C.; VANN R. C.; WELSH T. H. JR.; RANDEL R. D. Sexually dimorphic innate immunological responses of prepubertal Brahman cattle following an intravenous lipopolysaccharide challenge. **Veterinary Immunology and Immunopathology** v.166, n.3, p.108-115, 2015.

CARTER, G. R.; CHENGAPPA, M. M.; ROBERTS, A. W. **Essentials of Veterinary Microbiology**. 5. ed. Baltimore, MD: Williams & Wilkins, 1995, 394p.

CASWELL, J. F.; ARCHAMBAULT, M. Mycoplasma bovis pneumonia in cattle. **Animal Health Research Reviews**. v.8, n.2, p.161–186, 2008.

CASWELL, J. L.; WILLIAMS, K. J. **Respiratory system**. In: **Maxie M.G. (Ed.), Jubb Kennedy, and Palmer's Pathology of Domestic Animals**. 5. ed. Philadelphia: Saunders Elsevier, 2007. 523-655p.

CECILIANI, J. J.; CERON, P. D.; ECKERSALL, H.; SAUERWEIN, H. Acute phase proteins in ruminants. **Journal of Proteomics**, v.75, n.14, p.4207-4231, 2012.

CERIBASI, A.O.; OZKARACA, M.; CERIBASI, S.; OZER, H. Histopathologic, immunoperoxidase and immunofluorescent examinations on natural cattle pneumonia originated from Parainfluenza type 3, Respiratory Syncytial virus, Adenovirus type 3 and Herpesvirus type 1. **Revue de Médecine Vétérinaire**. v.165, n.7, p.201-212, 2014.

CERQUEIRA, A. B. **Doença respiratória em bovinos confinados: aspectos patológicos e de desempenho produtivo**. 2017. 75p. (Dissertação de mestrado). Escola de Veterinária e Zootecnia. Universidade Federal de Goiás, Goiânia – GO.

CHASE, C. C. L.; ELMOWALID, G.; YOUSIF, A. A. 2004. The immune response to bovine viral diarrhoea virus: a constantly changing Picture. **Veterinary Clinics Food Animal Practice**. v.20, n.1, p.95-114, 2004.

CHASE, C.C.L.; THAKUR, N.; DARWEESH, M.F.; MORARIE-KANE, S.E.; RAJPUT, M.K. Immune response to bovine viral diarrhoea virus - looking at newly defined targets. **Animal Health Research Reviews**, v.1, n.11, p.4-14, 2015.

CHURCH, J. S.; HEGADOREN P. R.; PAETKAU, M. J.; MILLER C. C.; REGEV-SHOSHANI, G., SCHAEFER, A. L., SCHWARTZKOPF-GENSWEIN, K. S. Influence of environmental factors on infrared eye temperature measurements in cattle. **Res Vet Sci**. v.96, n.1, p.220-226, 2014.

COBB, C. J.; OBEIDAT, B. S.; SELLERS, M. D.; PEPPER-YOWELL, A. R.; BALLOU, M. A. Group housing of Holstein calves in a poor indoor environment increases respiratory disease but does not influence performance or leukocyte responses. **Journal of Dairy Science**, v.97, n.5, p.3099-3109, 2014.

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

CORBEIL L. B. Histophilus somni host-parasite relationships. **Anim Health Res Ver**. v.8, n.2, p.151-160, 2008.

CUSACK, P. M. V.; MCMENIMAN, N. P.; LEAN, I. J. Feedlot entry characteristics and climate: their relationship with cattle growth rate, bovine respiratory disease and mortality. **Australian Veterinary Journal**. v.85, n.8, p.311-316, 2007.

CUSACK, P. M. V.; MCMENIMAN, N. P.; LEAN, I. J. The medicine and epidemiology of bovine respiratory disease in feedlots. **Australian Veterinary Journal**, v.81, n.8, p.480-487, 2003.

DEZEN, S.; OTONEL, R. A. A.; ALFIERI, A. F.; LUNARDI, M.; ALFIERI, A. A. Bovine viral diarrhoea virus (BVDV) infection profile in a high production dairy herd with vaccination program against BVDV. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.33, n.2, p.141–147, 2013.

DUDEK, K.; BEDNAREK, D.; AYLING, R.; EWELINA, S. Immunomodulatory effect of Mycoplasma bovis in experimentally infected calves. **Bulletin of the Veterinary Institute Pulawy**, v.57, n., p.499-506, 2013.

DUFF, G. C.; GALYEAN, M. L. Board-invited review: recent advances in management of highly stressed newly received feeder cattle. **Journal Animal Science**. v.85, n.3, p.823-840, 2007.

DUNGWORTH D.L. 1993.**The respiratory system**, 4. ed. San Diego: Academic Press, 1993, 656p.

DYER, R.M.; MAJUMDAR, S.; DOUGLAS, S. D.; KORCHAK, H. M . Bovine parainfluenza-3 virus selectively depletes a calciumdependent, phospholipid-dependent protein kinase C and inhibits superoxide anion generation in bovine alveolar macrophages. **The Journal of Immunology**, v.153, n.3, p.1171–1179, 1994.

EATON, J. W., BRANDT, P., MAHONEY, J. R. LEE, J. T. J. Haptoglobin: a natural bacteriostat. **Science**, v. 215, n., p.691–693, 1982.

EDWARDS, T.A. Control Methods for Bovine Respiratory Disease for Feedlot Cattle. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v.26, n.2, p.273-273, 2010.

ELLIS, J.; GOW, S, WEST, K.; WALDNER, C.; RHODES, C.; MUTWIRI, G.; ROSENBERG, H. Response of calves to challenge exposure with virulent bovine respiratory syncytial virus following intranasal administration of vaccines formulated for parenteral administration. **J Am Vet Med Assoc.**; v.230, n.2, p.233-243, 2007.

FEITOSA, L. F. **Semiologia Veterinária, A arte do Diagnóstico: cães, gatos, equinos, ruminantes e silvestres.** 2. ed. São Paulo: Ed. Roca, 2008, p.735-738.

FLORES, E. F. **Virologia veterinária.** 3. ed. Santa Maria: UFMS, 2007. 888 p.

FRANCKI R.I.B., FAUQUET C.M., KNUDSON D.L. & BROWN F.. **Classification and nomenclature of viruses:** Fifth Report of the International Committee on the Taxonomy of viruses. 2. ed., p.228-229, 1991.

FULTON R.W., BLOOD K.S., PANCIERA R.J., PAYTON M.E., RIDPATH J.F., CONFER A.W., SALIKI J.T., BURGE L.T., WELSH R.D., JOHNSON B.J. & RECK A. Lung pathology and infectious agents in fatal febrile pneumonias and relationship with mortality, disease onset, and treatments. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v.21, n.4, p.464-477, 2009.

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

FULTON, R. W.; SALIKI, J. T.; BURGE, L. J.; PAYTON, M. E. Humoral Immune Response and Assessment of Vaccine Virus Shedding in Calves Receiving Modified Live Virus Vaccines Containing Bovine Herpesvirus-1 and Bovine Viral Diarrhoea Virus 1a. **J. Vet. Med.**, v.50, n.1, p.31-37, 2003.

GANHEIM, C., HULTEN, C., CARLSSON, U., KINDAHL, H., NISKANEN, R., & WALLER, K. P. The Acute Phase Response in Calves Experimentally Infected with Bovine Viral Diarrhoea Virus and/or Mannheimia haemolytica. **Journal of Veterinary Medicine Series B**, v.50, n.4, p.183-190, 2003.

GASPAR, E. B.; SANTOS, L. R. **Vacinação de Bovinos: Esclarecendo Algumas Dúvidas. – Dados eletrônicos.** – Bagé: Embrapa Pecuária Sul, 2014. Disponível em: <<https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/handle/doc/1003986>> Acesso em: 06/09/2019.

GOMES, C.G.; BERTAGNON, H.G.; BATISTA, C.F.; SANTOS, K.R.; DELLA LIBERA, A.M.M.P. Caracterização Leucocítica Pulmonar de Bezerros Após Vacinação Intranasal. **Revista O Biológico – Suplementos**, v.77, n.2, p.235-236, 2015.

GOMES, R. C. **Influência etária na resposta imunológica de bezerros à vacinação intranasal.** (Tese de Doutorado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2016.145 p.

GONÇALVES, I.P.D., SIMANKE, A.T., JOST, H.C., HÖTZEL, I., DAL SOGLIO, A., MOOJEN, V. Detection of bovine respiratory syncytial virus in calves of Rio Grande do Sul, Brazil. **Ciência Rural**. v.23, n.3, p.389-390, 1993.

GONÇALVES, R. C.; MATTOS, M. C. F. I.; KUCHEMUCK, M. R. G.; LOPES, R. S.; GONÇALVES, R.C.; BARIONI, G. Exame clínico do aparelho respiratório de bezerros. **Revisão Educação Continuada do CRMV-SP**, v.3, n.1, p.4-13, 2000.

GORDEN, P. J.; PLUMMER, P. Control, Management, and Prevention of Bovine Respiratory Disease in Dairy Calves and Cows. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v.26, n.2, p.43-59, 2010.

GRIFFIN, D.; CHENGAPPA, M. M.; KUSZAK, J.; MCVEY, D. S. Bacterial pathogens of the bovine respiratory disease complex. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**. n.26, v.2, p.381-394, 2010.

HAHN, G.; GAÚCHAS, J. B.; MADER, T. L.; EIGENBERG, R. A. Capítulo 5: índices térmicos e suas aplicações para ambientes de gado. Em: JA DeShazer, ed. energética de gado e de gestão ambiental térmica, **St. Joseph, Mith. ASABE**, p.113-130, 2009.

HART, B.L., 1988. Biological basis of the behaviour of sick animals. **Neuroscience Behavioral Reviews**, v.12, n.3, p.123–137, 1988.

HAY KE, MONTON JM, CLEMENTS ACA, MAHONY TJ, BARNES TS. Population-level effects of risk factors for bovine respiratory disease in Australian feedlot cattle. **Preventive Veterinary Medicine**. v.140, n.1, p.78-86, 2017.

HAY, K. E.; AMBROSE, R. C. K.; MORTON, J. M.; HORWOOD, P. F.; GRAVEL, J. L.; WALDRON, S.; COMMINS, M. A.; FOWLER, E. V.; CLEMENTS, A. C. A.; BARNES, T. S.. Effects of exposure to Bovine viral diarrhoea virus 1 on risk of bovine respiratory disease in Australian feedlot cattle. **Preventive Veterinary Medicine**, v.126, n.1, p.159-169, 2016.

HICKS, T. A.; MCGLONE, J. J.; WHISNANT, C. S.; KATTESH, H. G.; NORMAN, R.L. Behavioral, endocrine, immune, and performance measures for pigs exposed to acute stress. **Journal Animal Science**; v.76, n.2, p.474-483, 1998.

HISHIKI, H.; ZUERCHER, A. W.; VALOSKY, J.; COFFIN, S. E. Regional differences in the early mucosal immune response induced by primary inoculation of mice with respiratory syncytial virus. **Microbial Pathogenesis**, v.36, n.3, p.141-146, 2004.

HODGSON, P.D.; AICH, A.; MANUJA, A.; HOKAMP, H.; ROCHE, F.M.; BRINKMAN, F.S.L.; POTTER, A.; BABIUK, L. A.; GRIEBEL, P.J. Effect of stress on viral–bacterial synergy in bovine respiratory disease: novel mechanisms to regulate inflammation. **Comparative and Functional Genomics**, v.6, n.4, p.244–250, 2005.

HOLLAND, B. P.; BURCIAGA-ROBLES, L. O.; VANOVERBEKE, D. L.; SHOOK, J. N.; STEP, D. L.; RICHARDS, C. J.; KREHBIEL, C. R. Effect of bovine respiratory disease during preconditioning on subsequent feedlot performance, carcass characteristics, and beef attributes. **Journal of Animal Science**. v.88, n.7, p.2486-2499, 2010.

HOLMGREN, J.; CZERKINSKY, C. Mucosal immunity and vaccines. **Nature Medicine Supplement**, v. 11, n.4, p.45-53, 2005.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística – Pecuária de corte. 2015. Disponível em: <http://www.agricultura.pr.gov.br/arquivos/File/deral/Prognosticos/2017/bovinocultura_de_corte_2017.pdf>. Acesso em: 27/04/2017.

JONES, C. Herpes simplex vírus type 1 and bovine herpesvirus 1 latency. **Clinic Microbiologic Review**. v.16, n.1, p.79-95, 2003.

JÚNIOR, D. M.; ARAÚJO, J. A. P.; CATELAN, T. T. T.; SOUZA, A. W. S.; CRUVINEL, W. M.; ANDRADE, L. E. C.; SILVA, N. P. Sistema Imunitário – Parte II Fundamentos da resposta imunológica mediada por linfócitos T e B. **Revista Brasileira de Reumatologia**, v.50, n.5, p.552-80, 2010.

JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J.; ABRAHAMSOHN, P. **Histologia básica: texto e atlas**. 13. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2017. 556 p.

LAURELL, C. B. & NYMAN, M. 1957. Studies on the serum haptoglobin level in hemoglobinemia and its influence on renal excretion of hemoglobin. **Blood**, v. 12, n., p.493–506, 1957.

LAVAL, A; CARRAUD, A; FILLETON, R. **Terapia Antibiótica e Doenças Respiratórias dos Bovinos**. Schering Plough Veterinária. 3.ed. São Paulo: Editora Metr pole, 1994. 98 p.

LEKEUX, P. Síndrome respiratória bovina: uma perspectiva européia. **Proceedings of XVIII World Buiatrics Congress**. Bolonha, Itália, 1994, p.7-13. 48p.

LOHMANN-MATTHES, M. L.; STEINM LLER, C.; FRANKE-ULLMANN, G. Pulmonary macrophages. **European Respiratory Journal**, v. 7, n. 9, p. 1678–1689, 1994.

LORENZ, I.; EARLEY, B.; GILMORE, J.; HOGAN, I.; KENNEDY, E.; MORE, S.J. Calf health from birth to weaning. III. Housing and management of calf pneumonia. **Irish Veterinary Journal**, v.64, n.1, p.1-9, 2011.

MAGALHÃES, L. Q. **Eficácia de protocolos preventivos para as doenças respiratórias dos bovinos confinados**. 2017. 67p. (Dissertao de mestrado em Ciências Veterinárias) - Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia - MG.

MARGINEDA, C.; BESSONE, F.; PISCITELLI, H.; NICOLINO, E.; ZIELINSKI, G.; LÓPEZ, A. Detection of *Mycoplasma bovis* by immunohistochemistry in lung tissue of feedlot cattle. **Archives of Veterinary Science**, v.18, n.2, p. 857-860, 2013.

MARTINS, R. A. **Estudo da morbidade e mortalidade em confinamentos de bovinos para terminação e seus impactos econômicos**. 2016, 92p. (Dissertação de mestrado). Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Veterinária, Belo Horizonte – MG.

MCCAFFERTY, D.J. The value of infrared thermography for research on mammals: Previous applications and future directions. **Mammal Review**. v.37, n.3, p.207-223, 2007.

MORROW-TESCH, J. L.; MCGLONE, J. J.; SALAK-JOHNSON, J. L. Heat and social stress effects on pig immune measures. **Journal of Animal Science**. v.72, n.10, p.2599-2609, 1994.

MOSIER, D. Review of BRD pathogenesis: the old and the new. **Animal Health Research Reviews**, v.15, n.2, p.166–168, 2014.

MURPHY, F.A. et al. Paramyxoviridae. **Veterinary virology**. 3. ed. San Diego: Academic, 1999. p.411-428.

MUYLKENS, B.; THIRY, J.; KIRTEN, P.; SCHYNTS, F.; THIRY, E. Bovine herpesvirus 1 infection and infectious bovine rhinotracheitis. **Veterinary Research**, v.38, n.2, p.181–209, 2007.

NEUTRA, M. R; KOZLOWSKI, P. A. Mucosal vaccines: the promise and the challenge. **Nature Review Immunology**, v.6, n.2, p.148–158, 2006.

NICKELL, J. S. A stochastic model designed to estimate variability in the relative economic value between cattle with and without lung lesions in U.S. Feedlot Production Systems. **The Bovine Practice**. v.50, n.2, p.142-153, 2016.

NOSSAL, G. J. Life, death and immune system. **Science Animal**, v. 269, n. 3, p.52-62, 1993.

OLIVEIRA, V. H. S. **Diagnóstico molecular de infecções virais e bacterianas associadas a um surto de doença respiratória em bezerras leiteiras**. 2014, 76p. (Dissertação de Mestrado) - Departamento de Medicina Veterinária Preventiva, Universidade Estadual de Londrina, Londrina - PR.

OLLIVETT, T. L. Field trial to evaluate the effect of an intranasal respiratory vaccine protocol on calf health, ultrasonographic lung consolidation, and growth in Holstein dairy calves. **Journal Dairy Science**. v.101, n.9, p.8159-8168, 2018.

PETERSEN, H. H.; NIELSEN, J. P.; HEEGAARD, P. M. H. Application of acute phaseprotein measurement in veterinary clinical chemistry. **Veterinary Research**, v.35, n.2, p.163–187, 2004.

RADOSTITS, O.M., BLOOD, D.C. HINCHCLIFF, K. W. **Clínica Veterinária – Um Tratado de Doenças dos Bovinos, Ovinos, Suínos, Caprinos e Equinos**. 9. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002. 1737.p.

RICE, J. A.; CARRASCO-MEDINA L.; HODGINS, D. C.; SHEWEN, P. E. Mannheimia haemolytica and bovine respiratory disease. **Animal Health Resolution Review**. v.8, n.2, p.117-28, 2007.

RIET-CORREA, F.; SCHILD, A. L.; LEMOS, R. A. A.; BORGES, J. R. J. **Doenças de Ruminantes e Equinos**. 3. ed. Santa Maria: Palloti, 2007. 426p.

ROSENBERG, H.F.; DOMACHOWSKIE, J.B. Inflammatory responses to respiratory syncytial virus (RSV) infection and the development of immunomodulatory pharmacotherapeutics. **Current Medicinal Chemistry**. v.19, n.10, 1424–1431, 2012.

ROSSI, P.S. **Comparação da resposta imune estimulada por vacina intranasal e intramuscular contra viroses respiratórias bovinas**. 2019, 75 p. (Dissertação de Mestrado em Ciências Veterinárias). Universidade Estadual do Centro Oeste, Guarapuava - PR.

ROTHER, G.; VALET, G. 1990. Flow cytometric analysis of respiratory burst activity in phagocytes with hydroethidine and 2',7'-dichlorofluorescein. **Journal of Leukocyte Biology**. v.47, n.5, p.440-448, 1990.

SAEED, S. A.; AHMAD, N.; AHMED, S. Dual inhibition of cyclooxygenase and lipoxygenase by human haptoglobin: Its polymorphism and relation to hemoglobin binding. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v.353, n.4, p.915–920, 2007.

SAINI, P. K., RIAZ, M., WEBERT, D. W., ECKERSALL, P. D., YOUNG, C. R., STANKER, L. H., CHAKRABARTI, E. & JUDKINS, J. C. 1998. Development of a simple enzyme immunoassay for blood haptoglobin concentration in cattle and its application in improving food safety. **American Journal of Veterinary Research**, v.59, n., p.1101–1107, 1998.

SANTOS, R. L.; ALESSI, A. C. **Patologia Veterinária**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2016. 856p.

SAÑUDO, C.; JIMENO, V.; CERVIÑO, M. “Diseño de alojamientos para el ganado vacuno en cebo” “Patología del ternero de cebo” Producción de ganado vacuno de carne y tipos comerciales en España. **Schering-Plough**, v.89, n.103, p.147-155, 2008.

SATO, S. Subacute ruminal acidosis (SARA) challenge, ruminal condition and cellular immunity in cattle. **Japanese Journal of Veterinary Research**, v.63. n.1, p.25-36, 2015.

SCHAEFFER, A.L.; COOK, N. J.; BENCH, C.; CHABOT, J. B., COLYN, J.; LIU, T.; OKINE, E. K.; STEWART, M.; WEBSTER, JR The noninvasive and automated detection of bovine

respiratory disease onset in receiver calves using infrared thermography. **Research in Veterinary Science**, v.93, n.2, p.928-935, 2012.

SCHAEFER, A. L.; COOK, N. J.; CHURCH, J. S.; BARARAB, J.; PERRY, B.; MILLER, C.; TONG, A. K. W. The use of infrared thermography as an early indicator of bovine respiratory disease complex in calves. **Veterinary Science**, v.83, n.3, p.376-384, 2007.

SCHAEFER, A. L.; COOK, N. J.; TESSARO, S. V.; DEREGT, D.; DESROCHES, G.; DUBESKI, P. L.; TONG, A. K. W.; GODSON, D. L. Early detection and prediction of infection using infrared thermography. **Canadian Journal of Animal Science**, v.84, n.1, p.73-80, 2004.

SCHNEIDER, M. J.; TAIT JR, R. G.; BUSBY, W. D.; REECY, J. An evaluation of bovine respiratory disease complex in feedlot cattle: impact on performance and carcass traits using treatment records and lung lesion scores. **Journal of Animal Science**, v.87, n.5, p.1821- 1827, 2009.

SCHUMAHER, T. F. **Efeitos em diferentes períodos da vacinação contra patógenos respiratórios na performance, resposta de anticorpos e a saúde de bovinos confinados**. 2019, 54p. (Dissertação de mestrado). Departamento de Medicina Veterinária e Zootecnia, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Unesp, Botucatu – SP.

SILVA, L.F.; WEIBLEN, R., FLORES, E. F. Imunogenicidade de vacinas comerciais inativadas contra o herpesvírus bovino tipo 1. **Ciência Rural**, v.37, n.5, p.1471-1474, 2007.

SIMPLÍCIO, K. M. M. G.; SOUSA, F. C.; FAGLIARI, J. J.; SILVA, P. C. Serum proteinogram emphasizing acute phase proteins from healthy and acute naturally occurring diseased cattle. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. v.65, n.5, p.1339-1347, 2013.

SINDAN, Sindicato Nacional da Indústria de Produtos para Saúde Animal. Compêndio de produtos veterinários. 2018. Disponível em:<<http://www.cpv.com.br/cpv/default.aspx>>. Acesso em: 07/09/2019.

SLOMPO, D.; BERTAGNON, H. G.; HORST, E. H.; NEUMANN, M.; MAREZE, J.; DE SOUZA, A. M.; EDELMIR, S. S. J.; IARA, G.; ASKEL, E. J. Manejo do complexo respiratório bovino em confinamento: Revisão. **PUBVET**, v.11, n.4, p.313-423, 2016.

SMITH R. A. Impact of disease on feedlot performance: a review. **Journal of Animal Science**, v.76, n.1, p.272–274, 1998.

SNOWDER, G. D.; VAN VLECK, L. D.; CUNDIFF, L. V.; BENNETT, G. L. Influence of breed, heterozygosity, and disease incidence on estimates of variance components of respiratory disease in preweaned beef calves. **Journal of Animal Science**, v.83, n.6, p. 1247-1261, 2005.

SOCHA, W.; ROLA, J.; BEDNAREK, D.; URBAN-CHMIEL, R.; ŻMUDZIŃSKI, J.F. Shedding course of bovine respiratory syncytial vírus and bovine parainfluenza 3 virus in calves

vaccinated intranasally. **Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy**, v.57, n.4, p.479-483, 2013.

SPIPKI, F. R.; ESTEVES, P.A.; LIMA, M.; FRANCO, A. C.; CHIMINAZZO, C.; FLORES, E. F.; WEIBLEN, R.; DRIEMEIER, D.; ROEHE, P. M. Comparative pathogenicity of bovine herpesvirus 1 (BHV-1) subtypes 1 (BHV-1.1) and 2a (BHV-1.2a). **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.24, n.1, p.43-49, 2004.

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

STOKKA, G. L. Prevention of respiratory disease in cow/calf operations. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v.26, n.2, p.229-241, 2010.

SVENSSON, C.; LIBERG, P. The effect of group size on health and growth rate of Swedish dairy calves housed in pens with automatic milk-feeders. **Preventive Veterinary Medicine**, v.73, n.1, p.43-53, 2006.

TAYLOR, J. D.; FULTON, R. W.; LEHENBAUER, T. W.; STEP, D. L.; CONFER, A. W. The epidemiology of bovine respiratory disease: what is the evidence for preventive measures. **Canadian Veterinary Journal**, v.51, n.12, p.1351-9, 2010.

TEIXEIRA, A. G. V.; MCART J. A. A.; BICALHO, R. C. Thoracic ultrasound assessment of lung consolidation at weaning in Holstein dairy heifers: Reproductive performance and survival. **Journal of Dairy Science**, v.100, n.10, p.2985-2991, 2017.

TIZARD, I. R. **Imunologia veterinária**. 9. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2014. 568p.

TOWNSEND, H. G.; MEEK, A. H.; LESNICK, T. G.; JANZEN, E. D. Factors associated with average daily gain, fever and lameness in beef bulls at the Saskatchewan Central Feed Test Station. **Canadian Journal of Veterinary Research**, v.53, n.3, p.349-354, 1989.

VALARCHER, J. F.; TAYLOR, G. Bovine respiratory syncytial virus infection. **Veterinary Research**, v.38, n.2, p.153-180, 2007.

VIANA, L.; GONÇALVES, R. C.; OLIVEIRA FILHO, J. P.; PAES, A. C.; CHIACCHIO, S. B.; RIBEIRO, M. G. Susceptibilidade in vitro a antimicrobianos da *Mannheimia haemolytica* e da *Pasteurella multocida* isoladas de ovinos sadios e com doenças respiratórias. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v.44, n.1, p.111-114, 2007.

WEST, K.; PETRIE, L.; KONOBY, C.; HAINES, D. M.; CORTESE, V.; ELLIS, J. A. The efficacy of modified-live bovine respiratory syncytial virus vaccines in experimentally infected calves. **Vaccine**, v.18, n.9-10, p.907-919, 1999.

WILSON, S. H. Why are meaningful field trials difficult to achieve for bovine respiratory disease vaccines? **Canadian Veterinary Journal**, v.30, n.4, p.299–302, 1989.

XUE, W.; ELLIS, J.; MATTICK, D.; SMITH, L.; BRADYA, R.; TRIGO, E. Immunogenicity of a modified-live virus vaccine against bovine viral diarrhea virus types 1 and 2, infectious bovine rhinotracheitis virus, P bovine parainfluenza-3 virus, and bovine respiratory syncytial virus when administered intranasally in young calves. **Vaccine**, v. 28, n.22, p.3784-3792, 2010.

ZOETIS. Bovine Rhinotracheitis-Parainfluenza3 - Bovine Respiratory Syncytial Virus Vaccine. Disponível em: <<https://www.zoetisus.com/products/beef/inforce-3.aspx>>. Acesso em: 06 de abr, 2019.

4. ARTIGO

COMPARAÇÃO DE VACINAS COMERCIAIS INTRANASAL E INTRAMUSCULAR CONTRA VIROSES RESPIRATÓRIAS EM BOVINOS CONFINADOS.

INTRANASAL AND INTRAMUSCULAR COMMERCIAL VACCINES AGAINST RESPIRATORY VIRUSES IN STEERS FINISHED IN FEEDLOT.

Informações sobre os autores:

Informações sobre os autores:

Mari Jane Taube¹- <https://orcid.org/0000-0001-7755-2960>

Patricia Santos Rossi¹- <https://orcid.org/0000-0002-5869-6624>

Andressa Hiromi Sagae¹- <http://orcid.org/0000-0001-9144-4624>

Gabriel Vinicius Bertes Flores¹- <https://orcid.org/0000-0002-8849-8856>

Gabriela Garbossa¹- <https://orcid.org/0000-0001-5127-6670>

Jayme Augusto Peres¹- <http://orcid.org/0000-0002-2784-2385>

Lorena Lacava Lopes²

Heloisa Godoi Bertagnon¹ - <http://orcid.org/0000-0002-6983-1000>

¹ Universidade Estadual do Centro Oeste- Guarapuava/Paraná- Brasil.

² Médico veterinário autônomo.

Autor para correspondência:

Heloisa Godoi Bertagnon- hbertagnon@hotmail.com

4.1 Resumo

Tendo em vista que a vacinação gera estresse nos bovinos e que o estresse é um fator importante para a ocorrência do complexo respiratório bovino (CRB), este estudo objetivou

avaliar dois protocolos vacinais contra a afecção. O protocolo intranasal (IN) baseou-se na administração IN de vacina comercial em dose única na entrada do confinamento e o Intramuscular (IM) baseou-se na administração IM da vacina comercial, com primovacinação 21 dias antes e o reforço no dia da entrada do confinamento. Realizou-se um estudo clínico randomizado com três repetições de 42 garrotes inteiros meio sangue Angus, com sorologia positiva para BVDV, distribuídos homoganeamente nos grupos, controle CO, IN e IM. Nos dias 0, 7, 44 e 79 mensurou-se indicadores de doença respiratória (secreção nasal mucopurulenta, e temperatura orbital), peso, e os teores séricos de IgG, IgA, haptoglobina, e no dia do abate (D87), avaliou-se a presença e gravidade de pneumonia. O IM apresentou menor frequência de pneumonia ($P=0.0004$ CO, e $P=0.03$, IN), maior ganho de peso ($P=0.08$ em D44, e $P=0.10$ em D79) e maior peso abate ($P=0.10$). O grupo IN apresentou mais indicadores de doença respiratória em D7, mesmo ganho de peso e peso ao abate que o CO. Conclui-se que o protocolo vacinal IM foi efetivo em evitar a ocorrência de CRB em bovinos de corte terminados em confinamento contra o CRB e prevenir redução de ganho de peso, enquanto que o protocolo vacinal IN não apresentou benefícios para este tipo de criação de bovinos.

Palavras chaves: Confinamento, imunidade, pneumonia, produtividade, profilaxia.

4.2 Abstract

The management of feedlot steers may generate stress in cattle, and stress is an important factor causing bovine respiratory complex (CRB), so we aimed to evaluate two vaccine protocols against CRB in cattle finished in feedlot and their influence on respiratory indicators and weight gains. The protocols IN, the steers received a single commercial vaccine dose at day the feedlot entrance. For the IM, the steers received two commercial vaccine doses, the primo

vaccination was performed 21 days before and the reinforcement at day of feedlot entrance. This study included 42 ½ Angus blood steers, homogeneously distributed in the control, IN and IM. On days 0 (entrance in feedlot), 7, 44 and 79 respiratory disease indicators, weight gain, and serum levels of immunoglobulin-G, immunoglobulin-A, and haptoglobin were measured. On day 87, at slaughter, the presence and the severity of pneumonia was analyzed. IM presented a lower incidence of pneumonia (P=0.0004 CO and P=0.03, IN) more weight gain (P=0.08, e P=0.10) and slaughter weight (P=0.10). than the other groups. IN presented more respiratory disease indicators (P= 0.01 and P=0.004), same weight gain and slaughter weight, as compared to the control. The IM protocol was effective in protecting the feedlot cattle against CRB and preventing weight gain reduction, while the intranasal protocol did not show these benefits.

Key words: Feedlot, immunity, pneumonia, productivity, prophylaxis

4.3 Introdução

O complexo respiratório bovino (CRB) é uma enfermidade de alta incidência mundial, particularmente em bovinos confinados, o que tem motivado o desenvolvimento de protocolos para seu controle, no entanto ainda não se tem um consenso sobre qual seria o mais efetivo [1, 2].

Os protocolos mais utilizados são a metafilaxia ou as práticas de vacinações, na qual a uso de vacinas comerciais apresenta vantagens sobre o primeiro por ser menos onerosa, não causar resíduos na carcaça e nem resistência bacteriana. Porém indica-se que seja realizada em duas doses antes do evento estressante, o que pode ser um entrave para o sistema produtivo de terminação de bovinos [2].

Há inúmeras formulações de vacinas no mercado, sendo a maioria delas direcionadas

contra os principais agentes virais do CRB: Herpesvírus bovino (BHoV-1 e 2), vírus da diarreia viral bovina (BVDV), vírus da parainfluenza bovina (PI-3) e vírus sincicial bovino (BRSV), indicados para administração parenteral em duas doses [3, 4, 5]. Já para a via intranasal, as vacinas comerciais normalmente não contém o BVDV em sua formulação, e apresentam vantagens em relação as parenterais por estimular uma maior resposta imune local [5], além de ser indicada como dose única, no dia da entrada dos bovinos no confinamento [6].

Frente as vacinas comerciais contra CRB existentes, ressalta-se que diversos fatores podem interferir na efetividade dos protocolos vacinais, a começar pela via de aplicação, número de doses vacinais, época da vacinação e o desafio ambiental vivenciado pelos animais [7, 8].

Tendo em vista que uma maior manipulação de bovinos de corte induz mais estresse nos animais, permanece-se a dúvida de qual seria a melhor alternativa de protocolo vacinal para confinamentos comerciais. Desta maneira selecionou-se uma vacina parenteral, a ser aplicada em duas doses antes da entrada no confinamento, e uma intranasal, a ser aplicada em dose única, no dia da entrada do confinamento, para verificar qual protocolo seria o mais adequado para bovinos de corte terminados em confinamento, levando-se em conta a ocorrência de alterações respiratórias e sua influência no ganho de peso.

4.4 Material e Métodos

Esta pesquisa foi aprovada pelo comitê de ética em uso animal CEUA/UNICENTRO (008/2018).

Delineamento experimental

O estudo foi realizado em confinamento comercial na cidade de Guarapuava, Paraná,

no período de junho a novembro de 2018. Nesse período, a temperatura ambiente máxima foi de 22 °C e a mínima foi de 11,6 °C. O confinamento tinha capacidade para 425 bovinos a ser dispostos em 25 baias de concreto de 50m², dispostas lado a lado, permitindo contato parcial dos animais entre as baias. As baias tinham boa ventilação, sendo limpas por raspagem do chão a cada dois dias.

Deste confinamento, 42 garrotes meio sangue angus, com 9 (± 1) meses de idade e peso de 755, 7 ± 4 lb (345 ± 4 Kg) foram incluídos em um estudo clínico randomizado em 3 grupos distintos, com 14 animais cada, que foram distribuídos nas três baias experimentais com heterogeneidade dos tratamentos, mas homogeneidade de altura, peso e escore corporal (ECC), acompanhados desde o momento da alocação nas baía até o abate, aos 87 dias.

O grupo controle (CO, n=14), não recebeu vacina. O grupo intranasal (IN, n=14) recebeu dose única da vacina comercial composta por vírus BoHV-1, PI-3 e BRSV (amostras atenuadas) (Inforce 3®, Zoetis, São Paulo, Brasil), administrada 1 mL em cada narina. Os animais foram contidos em tronco hidráulico, com formiga para elevação da cabeça, a qual foi mantida elevada por 1 minuto, no dia da entrada no confinamento. E o grupo intramuscular (IM, n=14), foi vacinado com duas doses de 2 mL cada, com um intervalo de 21 dias, da vacina comercial composta por amostras atenuadas dos vírus BoHV-1, PI-3, BRSV e BVDV (cepas 5960 citopática e 6309 não citopática inativadas) (Cattle Master 4®, Zoetis, São Paulo, Brasil), sendo a primeira dose aos 21 dias antes da entrada dos animais no confinamento. Neste mesmo momento, todos os animais foram pesados, mas não contidos de igual maneira, para verificar se a própria manipulação dos animais durante a administração da vacina poderia também interferir na ocorrência de CRB e no ganho de peso.

Os indivíduos foram criados originalmente a base de pasto de aveia e azevém, e quando atingiram aproximadamente 345 Kg, foram confinados na baía e adaptados gradativamente

durante 21 dias com uma dieta composta por 5kg ração comercial (Agramulti Bovinos 20®, Agrária, Guarapuava, Brasil) e 15 kg silagem de milho, por animal, e durante a adaptação dos animais foram adicionados 0,5 kg de concentrado a cada 2 dias até totalizar os 5 kg, na mesma propriedade, conforme a tabela 1.

Fator de Exclusão

Foram excluídos do experimento animais com alterações de origem não respiratória (dois por alterações podais e dois por alterações condizentes com tristeza parasitária). Animais que não atingiram peso para o abate aos 87 dias de confinamento foram excluídos das análises pulmonares. Sendo assim, o experimento foi conduzido com 11 animais no IN, 13 animais do CO e 14 animais no IM, para as análises de peso e indicadores de doença respiratória e nove animais no IN, 13 animais do CO e 14 animais no IM para análises do pulmão

Coleta dos dados/Colheita de sangue

Nos início (D0 e D7), no meio do experimento (D44) e no fim (D79) em relação ao dia da entrada ao confinamento, avaliou-se presença de secreção nasal mucopurulenta por inspeção visual das narinas, aferição da temperatura orbital por termômetro infravermelho (termômetro digital infravermelho com mira digital -30°C a 350°C X 0,1°C Ak30 New, São Paulo, Brasil), posicionado a 10 cm do centro do globo ocular no momento da pesagem dos animais e a pesagem dos animais em balança digital, sem jejum prévio. Todas as avaliações foram realizadas sempre no mesmo horário do dia

Posteriormente colheu-se 10 mL de sangue por punção da veia coccígea em tubos plásticos sem anticoagulante. O sangue foi centrifugado (3000 rpm x 15 min), e o soro foi

congelado a -4°C para a mensuração de haptoglobina, IgA e IgG pela técnica de ELISA, conforme recomendação do fabricante (cat EB0011, Bovine HP haptoglobin Elisa Kit®, FineTest, Wuhan, China; cat: ab 190516 IgA Cow ELISA Kit®, Abcam, Cambridge, United States and cat ab190517, Bovine IgG ELISA Kit®, Abcam, Cambridge, United States). Em todos os momentos também foi realizada a titulação para BVDV pelo teste de ELISA (BVBV total ab test, Idexx, São Paulo, Brasil)

Aos 87 dias os animais foram abatidos e na linha das vísceras brancas realizou-se o exame macroscópico pulmonar, para identificar presença e severidade de consolidação pulmonar, conforme Ceribasi et al., (2014) [9] com modificações: ausência de lesão- escore 1; escore 2 para lesões até 50%, escore 3- lesões entre que 50% a 75% e escore 4, lesões maiores que 75% do lobo crânio ventral. Foram então colhidos fragmentos de lobo cranial ventral, na área de transição entre o tecido normal e áreas de consolidação, de aproximadamente 2 cm^2 para avaliação histopatológica. Os tecidos foram fixados em formol 10% durante 48 horas e embebidos em parafina para posteriormente confeccionar lâminas histopatológicas, que foram coradas com hematoxilina e eosina (HE), e observados em microscopia óptica (40X). Os fragmentos foram classificados como ausência de pneumonia, pneumonia catarral purulenta, fibrinosa, intersticial ou granulomatosa, conforme Ceribasi et. al., (2014) [9].

Análise estatística

Os dados foram submetidos a análise estatística utilizando o software estatístico InStat Graphpad®. Para avaliação dos dados de imunoglobulinas, haptoglobina, temperatura orbital e ganho de peso, foram feitas testes paramétricos de Anova por medidas repetidas e teste de Tukey como pós-teste. A frequência de animais com presença de secreção nasal mucopurulenta e com pneumonia e seus respectivos escore foram submetidos ao teste não paramétrico Qui

Quadrado. Os dados foram considerados com significância estatística quando $P \leq 0.05$ e a tendência estatística quando $P > 0.05$ e $P \leq 0.1$.

4.5 Resultados

No D0 todos os animais tinham sorologia positiva para BVDV, a qual continuou positiva ao longo do experimento para todos os animais.

Quanto aos indicadores de doença respiratória, notou-se que mais animais do IN apresentaram secreção nasal mucopurulenta e temperatura orbital (figura 1) que o grupo controle ($P=0.01$ e $P=0.0004$ respectivamente) e mais secreção nasal mucopurulenta que o IM ($P=0.09$) no D7. Nos demais momentos não houve interferência dos tratamentos.

O ganho de peso dos animais estão dispostos na tabela 2. Com relação ao ganho de peso diário por período, notou-se que entre D44 a D79 e entre D79 e D87, o IN apresentou tendência a ganhar menos peso diário do que o grupo IM ($P=0.08$ e 0.10). Não houve diferença entre o IM e o CO, nem entre o CO e o IN. Ao se tratar do peso de abate, peso de carcaça e rendimento de carcaça não houve diferença estatística entre os grupos.

As dosagens séricas de IgG e IgA e haptoglobina, estão nas figuras 2, 3 e 4. Pode-se notar que o CO iniciou com maiores teores de IgG e menores de IgA que os demais grupos ($P=0.01$ e 0.01). Enquanto a IgG sérica se manteve estáveis ao longo do tempo, a IgA sérica diminuiu no D44, sendo menor que os outros grupos ($P=0.09$). No IM, observou-se aumento de IgG sérica significativo em D7 e D44 em relação a D0 ($P=0.03$) enquanto a IgA sérica não alterou ao longo do tempo ($P=0.12$). No IN, a IgG sérica aumentou apenas no D44 ($P=0.009$) e a IgA sérica reduziu em todos os tempos em relação a D0 ($P=0.0001$), sendo inclusive menor que o IM no D 79 ($P=0.08$).

Em relação a haptoglobina sérica, notou-se que o IM apresentou maiores teores que os

demais grupos, e o IN, apresentou maiores teores que o CO ($P=0.001$). Posteriormente esses teores diminuíram em D44 e D79 ($P=0.03$) no IM. No IN, estes teores aumentaram em D44 e D79 em relação ao D7 ($P= 0.07$) e em relação aos demais grupos ($P=0.003$ e 0.04) e se mantiveram estáveis no CO.

Os dados relativos as lesões pulmonares estão na figura 5. As lesões macroscópicas foram caracterizadas por consolidação roxa avermelhada e lobos com pontos focais com atelectasia. Não houve alteração da pleura nem aderências entre os lobos pulmonares. Nenhum animal apresentou lesão escore 4. O IM teve mais animais sem alteração macroscópica pulmonar (escore 1) que o grupo CO ($P=0.0005$) e que o IN ($P=0.07$). O IN teve apenas um maior número de animais sem lesão pulmonar que o CO ($P=0.24$). As análises das lesões microscópicas mostraram que o IM teve incidência de pneumonia menor que o CO ($P=0.0004$) e o IN ($P=0.03$), e o IN teve menores índices de pneumonia que o CO ($P=0.40$). Os tipos de pneumonia tiveram distribuição igual entre os grupos, sendo caracterizadas principalmente por pneumonias intersticiais, apresentando principalmente lesões como espessamento do septo interalveolar, degeneração ou descamação do epitélio bronquiolar e infiltrado mononuclear intra-alveolar e peribronquiolar. Não foram encontradas as pneumonias catarrais purulentas nem granulomatosas

4.6 Discussão

Pode-se observar que o protocolo vacinal de duas doses da vacina intramuscular administrada 21 dias antes do confinamento foi mais eficiente neste confinamento comercial quando avaliados aspectos clínicos da doença do que o protocolo vacinal em dose única intranasal, na entrada do confinamento, o qual não apresentou benefícios neste confinamento.

No presente trabalho, ambas as vacinas utilizadas eram direcionadas contra os agentes

virais atenuados: BoHV-1, PI-3 e BRSV, mas apenas a vacina IM apresenta em sua composição amostra inativada do BVDV. Possivelmente este foi um dos fatores responsável pelo menor controle do CRB no confinamento estudado, tendo em vista que no D0, todos os animais já possuíam anticorpos contra o agente, indicando que a circulação do vírus no rebanho.

Além disso, notou-se que o IM possuíam maiores teores de haptoglobina sérica que os momentos subsequentes e que os demais grupos. Como a haptoglobina é um biomarcador inflamatório efetivo da espécie bovina [10], este aumento poderia indicar que o protocolo vacinal IM promoveu viremia, o que já foi relatado por Fulton et al., [8], em bovinos vacinados intramuscular com vírus atenuado de BVDV. Outra possível hipótese seria que o protocolo vacinal IM reduziu a resposta imune celular broncoalveolar, tal qual relatado por Rossi [11] em bezerros de leite, o que por sua vez favoreceu a ocorrência de CRB tênue, a ponto de não causar sinais clínicos evidentes da doença nem redução no ganho de peso dos animais ao longo do experimento, mas capaz de causar aumento dos teores séricos de IgG e de promover pneumonia em baixa frequência, observada apenas no momento do abate.

Como a própria contenção causa estresse nos animais, é possível que o manejo para aplicar as duas doses da vacina nos animais tenha promovido a liberação de cortisol, diminuindo a atividade dos linfócitos e a produção de anticorpos e estimulando a secreção de haptoglobina sérica (12), o que explicaria os menores teores séricos de IgG e maiores de haptoglobina sérica nos primeiros momentos. A partir de D44 houve redução do estresse, o que restaurou os teores séricos de IgG e de haptoglobina. Tais achados de aumento de IgG após vacinação contra CRB já foram relatados por Mawhinney e Burrows [13].

Em relação ao protocolo vacinal IN, notou-se maior frequência de animais com secreção nasal mucopurulenta, e com maior temperatura orbital no D7. Estes achados indicam que esta via vacinal promoveu maior irritação do trato respiratório, similarmente ao encontrado por

Rossi [11], ao visualizar maior irritação da mucosa faríngea nos exames endoscópicos de bezerras vacinadas com esta mesma vacina e por Gomes [14], que concluiu que a vacina comercial intramuscular quando aplicada pela via intranasal em bezerras neonatos, promove aumento de secreção pulmonar e aumento da temperatura corpórea, durante o estabelecimento da imunidade vacinal.

Ambos autores inferiram que esta via de vacinação deprime a resposta imune celular pulmonar, o que pode favorecer maior ocorrência de pneumonias [11, 14], embora nestes momentos nenhum animal do presente experimento tenha apresentado aumento dos teores de haptoglobina sérica nem redução de ganho de peso.

Ainda, em D0 e D7 os animais do IN apresentaram IgG sérica menores que o CO e haptoglobina sérica no D0 maior que o CO. Como estas alterações já começaram no D0, acredita-se que tenham sido promovidas pelo estresse da aplicação da vacina, colocação da formiga e manutenção da cabeça do animal elevada, fato que não ocorreu nos demais grupos [15].

A partir de D44, o grupo IN tendeu a ganhar menos peso diário que o IM, atingindo assim menor peso ao abate, mesmo período em que estes animais apresentaram maiores teores de haptoglobina sérica, indicando que este protocolo não preveniu o CRB, conforme evidenciado no abate, visto pela maior frequência de pneumonia e com maior gravidade no IN que o IM e apenas numericamente menor que o CO.

Tal achado vai de encontro com Schneider et al. [16] e Rezac et al. [17], que relatam que o principal motivo de redução de desempenho, ganho de peso diário em bovinos confinados são as lesões do trato respiratório de CRB encontradas no abate, que mesmo na sua forma subclínica, perceptível somente no momento do abate, já impacta o desempenho produtivo [18].

Em relação aos teores séricos de IgA, notou-se que o IN apresentou redução a partir do D7. Como esta imunoglobulina é responsável pela proteção de mucosas e tem como principal função a apreensão dos antígenos no muco, impedindo o contato destes com o trato respiratório [19], acredita-se que a maior ocorrência de CRB nestes momentos no IN tenha provocado a translocação sérica de IgA para a região respiratória para neutralizar patógenos, o que já foi relatado por Woolums (2013) [20], ao encontrar maior secreção de IgA em secreção nasal de bovinos vacinados contra o CRB.

Desta maneira notou-se que o protocolo IN não preveniu significativamente a ocorrência de CRB, nem a queda de desempenho dos bovinos terminados em confinamento comercial, devido a alguns fatores. Como já mencionado, as vacinas utilizadas possuíam composição muito semelhante, porém a IN não continha o agente BVDV, vírus presente neste confinamento e em muitos confinamentos de bovinos no mundo [21], cuja proteção vacinal é questionável devido a alta capacidade de mutação do vírus [22].

Além disso, sabe-se que duas doses vacinais por via parental induzem a maior produção de anticorpos séricos do que apenas uma dose [8], porém uma dose de vacina intranasal ainda é mais efetiva que não vacinar [23]. Estes resultados foram contrários aos resultados da presente pesquisa, onde a não vacinação foi semelhante ao protocolo vacinal IN possivelmente devido a imunossupressão causada pelo estresse da vacinação ou ainda devido ao desafio ambiental enfrentado pelos animais [24].

A adoção de duas doses vacinais por via intranasal é passível de ser realizada e poderia resultar em maior proteção dos animais contra CRB, no entanto afetaria uma das principais vantagens do protocolo IN adotado em comparação ao protocolo IM, em relação a reduzir o labor e estresse de conter os animais duas vezes para a vacinação, e do custo por protocolo, tendo em vista que a vacina IN custa U\$1,77/ animal e a IM custa U\$2,95/animal.

Em relação ao desafio ambiental, Olivett et al., (2018) [24], verificaram que duas doses de vacina intranasal contra os mesmos agentes presentes neste estudo foi mais efetiva em prevenir consolidação pulmonar e garantir maior peso diário em bezerros leiteiros em comparação a uma dose parenteral quando estes animais eram criados com menor desafio ambiental. No entanto quando os bezerros foram instalados em locais de maior desafio ambiental, não houve diferenças estatísticas entre os tratamentos, para o ganho de peso nos grupos vacinados. Tais resultados indicam que o desafio ambiental tem fundamental importância na efetividade das vacinas, fator de relevância para o atual estudo, visto que, os animais do estudo estavam em confinamento comercial, o que gera estresse constante [3].

Por fim, um dos entraves para o estabelecimento de protocolo vacinal para bovinos terminados em confinamento é a data da vacinação. De acordo com Edwars [3], Magalhães [7] e Schumaher [25], o ideal seria vacinar entre 60 e 15 dias antes do confinamento, porém nem sempre o produtor tem acesso aos animais antes do confinamento, pois normalmente estes animais são adquiridos de outra localidade. Por isso, a o protocolo IN é indicado em dose única no dia da entrada do confinamento, já que estimula uma maior produção de anticorpos que a via parenteral [26, 5] e segundo Richeson et al. [27], ainda é mais eficiente vacinar os animais após a chegada ao confinamento do que não vacinar. Infelizmente os resultados do presente estudo mostraram que para esta situação do confinamento o protocolo IN não evitou o CRB nem suas interferência no ganho de peso.

Novos estudos devem ser realizados procurando verificar se outro protocolo de vacina IN em relação a data de entrada dos animais no confinamento utilizando dose única ou duas doses, poderiam trazer mais benefícios para bovinos terminados em confinamento.

4.7 Conclusão

Conclui-se que o protocolo vacinal IM minimizou a ocorrência de CRB, e garantiu maior ganho de peso de bovinos terminados em confinamento comercial em relação ao protocolo IN e a não vacinação. O protocolo IN, quando aplicado em uma dose na entrada do confinamento comercial apresentou redução de pneumonias no momento do abate e ainda em um melhor desempenho dos animais com relação ao grupo não vacinado.

Reconhecimentos

Este estudo foi financiado em parte pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código Financeiro 001, e edital universal CNPq, 431688/ 2018-4.

4.7 Referencias

1. Andrews AH, Blowey RW, Boyd H, Eddy ERG. 2008. Medicina Bovina: Doenças e Criação de Bovinos, 2th ed. São Paulo: Roca: 1080.
2. Taylor JD, Fulton W. Lehenbauer TW. Step DL. Confer, AW. 2010. The epidemiology of bovine respiratory disease: what is the evidence for preventive measures. *Canadian Veterinary Journal*; 51:1351-1559.
3. Edwards TA. 2010. Control Methods for Bovine Respiratory Disease for Feedlot Cattle. *Veterinary Clinics of North America. Food Animal Practice*, 26: 273-273.
4. Lorenz I, Earley B, Gilmore J, Hogan I, Kennedy E, More, SJ. 2011. Calf health from birth to weaning. III. Housing and management of calf pneumonia. *Irish Veterinary Journal*, 64: 1-9.
5. Neutra MR, Kozlowski PA. 2006. Mucosal vaccines: the promise and the challenge. *Nature Review Immunology*; 6:148–158.
6. Zoetis. Bovine Rhinotracheitis-Parainfluenza3 - Bovine Respiratory Syncytial Virus Vaccine. [updated 2019 april 11]. Available from: <https://www.zoetisus.com/products/beef/inforce-3.aspx>.

7. Magalhães LQ. 2017. Eficácia de protocolos preventivos para as doenças respiratórias dos bovinos confinados (Dissertação de mestrado em Ciências Veterinárias). Uberlândia- Minas Gerais: Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Uberlândia.
8. Fulton R W, Saliki JT, Burge LJ, Payton ME. 2003. Humoral Immune Response and Assessment of Vaccine Virus Shedding in Calves Receiving Modified Live Virus Vaccines Containing Bovine Herpesvirus-1 and Bovine Viral Diarrhoea Virus 1a. *J. Veterinary Medicine*; 50:31-37.
9. Ceribasi AO, Ozkaraca M, Ceribasi S, Ozer H. 2014. Histopathologic, immunoperoxidase and immunofluorescent examinations on natural cattle pneumonia originated from Parainfluenza type 3, Respiratory Syncytial virus, Adenovirus type 3 and Herpesvirus type 1. *Revue de Médecine Vétérinaire*; 165: 201-212.
10. Simplicio K M, Sousa FC, Fagliari JJ, Silva PC. 2013. Proteinograma sérico, com ênfase em proteínas de fase aguda, de bovinos sadios e bovinos portadores de enfermidade aguda de ocorrência natural. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*; 65: 1339-1347.
11. Rossi PS. 2019. Comparação da resposta imune estimulada por vacina intranasal e intramuscular contra viroses respiratórias bovinas, (Dissertação de Mestrado em Ciências Veterinárias). Guarapuava-Paraná: Universidade Estadual do Centro Oeste.
12. Blecha F. 2000. Imune System Response to Stress. In: Morberg GP, Mech JA, eds. *The Biology of Animal Stress: Basic Principles and Implications for Animal Welfare*. CAB International, New York: 111.
13. Mawhinney IC, Burrows MR. Protection against bovine respiratory syncytial virus challenge following a single dose of vaccine in young calves with maternal antibody. *Veterinary Record*; 156: 139-143.
14. Gomes RC. 2005. Influência etária na resposta imunológica de bezerros à vacinação intranasal. (Tese de Doutorado em Ciências), São Paulo: Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2016.
15. Sporer, KRB, Weber PSD, Burton JL, Earley B, Crowe MA. 2008. Transportation of young beef bulls alters circulating physiological parameters that may be effective biomarkers of stress. *Journal of Animal Science*; 86: 1325–1334.
16. Schneider MJ, Tait JR, Busby WD, Reecy J. 2009. An evaluation of bovine respiratory disease complex in feedlot cattle: impact on performance and carcass traits using treatment records and lung lesion scores. *Journal of Animal Science*; 87:1821- 1827.
17. Rezac DJ, Thomson DU, Bartle SJ, Osterstock JB, Prouty FL, Reinhardt CD. 2014.

- Prevalence, severity, and relationships of lung lesions, liver abnormalities, and rumen health scores measured at slaughter in beef cattle. *Journal Animal Science*; 92: 2595-2602.
18. Tennant TC, Ives SE, Harper LB, Renter DG, Lawrence TE. 2014. Comparison of tulathromycin and tilmicosin on the prevalence and severity of bovine respiratory disease in feedlot cattle in association with feedlot performance, carcass characteristics, and economic factors. *Journal of Animal Science*; 92: 5203-5213.
 19. Abbas AK, Lichtman AH, Pillai S. 2008. *Imunologia Celular e Molecular*. 6th ed. Rio de Janeiro: Elsevier.
 20. Woolums, AR, Berghaus, RD, Berghaus, LJ, Ellis, RW, Pence, ME, Saliki, JT, Hurle, KA, Galland, KL, Burdett, WW, Nordstrom, ST and Hurley, DJ. 2008. Effect of calf age and administration route of initial multivalent modified-live virus vaccine on humoral and cell-mediated immune responses following subsequent administration of a booster vaccination at weaning in beef calves. *American Journal of Veterinary Research*; 74: 343–354
 21. Baker JC. The clinical manifestations of bovine viral diarrhea infection. 1995. *Vet. Clin. North Am., Food Anim. Pract*; 11:425-446.
 22. Peterhans E, Schweizer M. 2010. Pestiviruses: How to outmaneuver your hosts. *Veterinary Microbiology*; 142: 18–25.
 23. Bryson G, Adair BM, McNulty MS, McAliskey M, Bradford HEL, Allan GM, Forster, F. 1999. Studies on the efficacy of intranasal vaccination for the prevention of experimentally induced parainfluenza type 3 virus pneumonia in calves. *Veterinary Record*; 145: 33-39.
 24. Ollivett TL. 2018 Field trial to evaluate the effect of an intranasal respiratory vaccine protocol on calf health, ultrasonographic lung consolidation, and growth in Holstein dairy calves. *Journal Dairy Science*; 101: 8159-8168.
 25. Schumacher TF. 2019. Efeitos em diferentes períodos da vacinação contra patógenos respiratórios na performance, resposta de anticorpos e a saúde de bovinos confinados. (Dissertação de mestrado). Botucatu: Departamento de Medicina Veterinária e Zootecnia, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Unesp,.
 26. Tizard IR. 2014. *Imunologia veterinária*. 9th ed. Rio de Janeiro: Elsevier: 568.
 27. Richeson JT, Beck PA, Gadberry MS, Gunter SA, Hess TW, Hubbell D.S. 2008. Effects of on-arrival versus delayed modified live virus vaccination on health, performance, and serum infectious bovine rhinotracheitis titers of newly received beef calves. *Journal of Animal Science*; 86: 999–1005.

4.8 Tabelas e Figuras

Tabela 1. Composição química dos alimentos utilizados na alimentação dos animais e valores médios da dieta experimental, com base na matéria seca total.

Tabela 2. Ganho de peso, peso inicial/peso final, peso de carcaça e rendimento de carcaça (%) em bovinos durante o confinamento, conforme o protocolo vacinal utilizado.

Figura 1. Indicador de doenças respiratórias de bovinos em confinamento de acordo com o protocolo de vacina utilizado.

Figura 2. Dosagem sérica de IgG de bovinos em confinamento de acordo com o protocolo de vacina utilizado

Figura 3. Dosagem sérica de IgA de novilhos em confinamento de acordo com o protocolo de vacina utilizado.

Figura 4. Dosagem sérica de haptoglobina de bovinos em confinamento de acordo com o protocolo de vacina utilizado.

Figura 5. Frequência de animais com lesão pulmonar macroscópica e microscópica de bovinos em confinamento de acordo com o protocolo de vacina utilizado.

Tabela 1. Composição química dos alimentos utilizados na alimentação dos animais e valores médios da dieta experimental, com base na matéria seca total.

Parâmetro	Silagem de milho	Concentrado	Dieta experimental ¹
Matéria seca, %	33,83	90,40	62,12
Matéria mineral, % MS	2,51	6,36	4,44
Proteína bruta, % MS	8,44	20,20	14,32
Extrato etéreo, % na MS	2,65	2,05	2,35
Fibra em detergente neutro, % MS	46,14	31,47	38,80
Fibra em detergente ácido, % MS	25,98	13,08	19,53
Lignina, % MS	8,43	4,73	6,58
Nutrientes digestíveis totais, %	68,66	78,68	74,17
Ca, %	0,14	1,67	0,91
P, %	0,22	0,58	0,40

¹ Nível de garantia do premix por kg de concentrado: vit. A: 16000 IU; vit D3: 2000 IU; vit. E: 25 IU; S: 0,36 g; Mg: 0,74 g; Na: 3,6 g; Co: 0,52 mg; Cu: 22,01 mg; F: 18,00 mg; I: 1,07 mg; Mn: 72,80 mg; Se: 0,64 mg; e Zn: 95,20 mg.

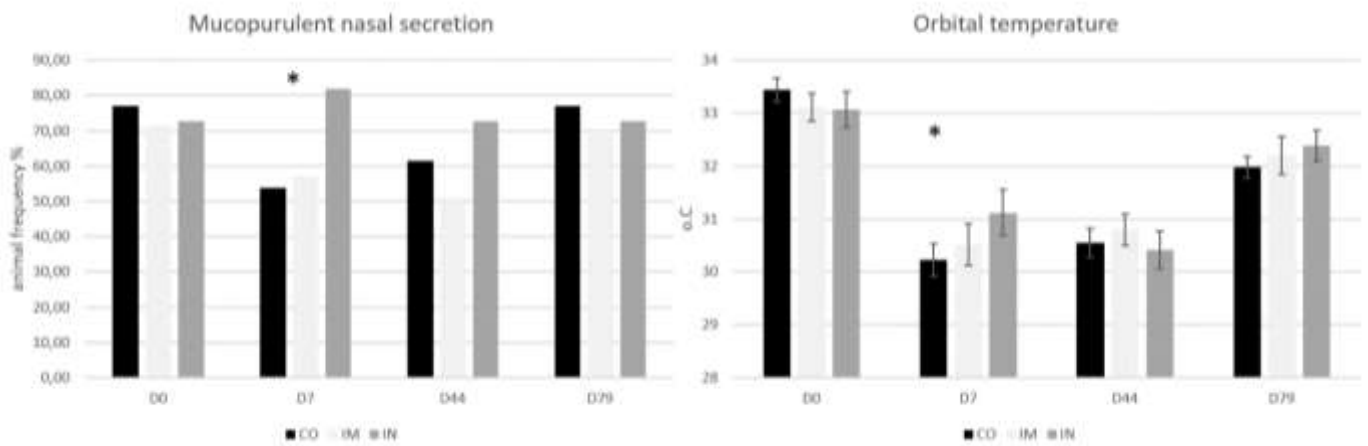
Tabela 2. Ganho de peso, peso inicial/peso final, peso de carcaça e rendimento de carcaça (%) em bovinos durante o confinamento, conforme o protocolo vacinal utilizado.

		Ganho de peso diário (kg)				Peso (Kg)			Rend. Carcaça (%)
		D0-D7	D7-D44	D44- D79	D79 a D87	Peso inicial	Peso final	Peso de carcaça	
IM	Media	2.20A	1.86A	1.81A	1.94A	347.93A	510.86 ^a	274.80A	53.08 ^a
	EPM	0.31	0.08	0.07	0.08	5.19	7.88	16.07	3.50
IN	Media	2.04A	1.60A	1.56A	1.49A	347.50A	477.54 ^a	271.69A	53.43A
	EPM	0.37	0.16	0.10	0.18	4.66	10.06	16.71	1.55
CO	Media	2.36A	1.82A	1.65A	1.70A	345.63A	491.86A	274.29A	54.00A
	EPM	0.22	0.07	0.06	0.14	3.89	8.55	7.53	2.10
	P_y	0.77	0.24	0.08*	0.10*	0.4	0.10*	0.86	0.66

IM: grupo vacina intramuscular (14 animais), **IN:** grupo vacina intranasal (11 animais), **CO:** grupo controle

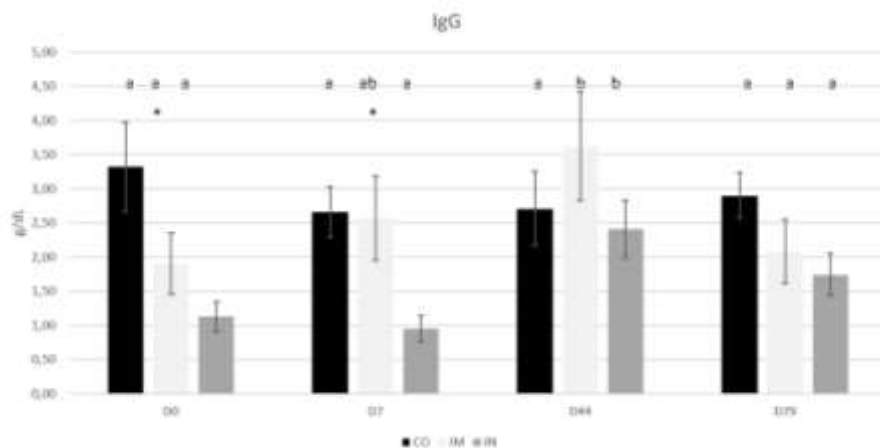
(13 animais), sem vacina. EPM- Erro padrão da média. (*) Indica presença de tendência estatística.

Figura 1- Indicador de doenças respiratórias de novilhos em confinamento de acordo com o protocolo de vacina utilizado.



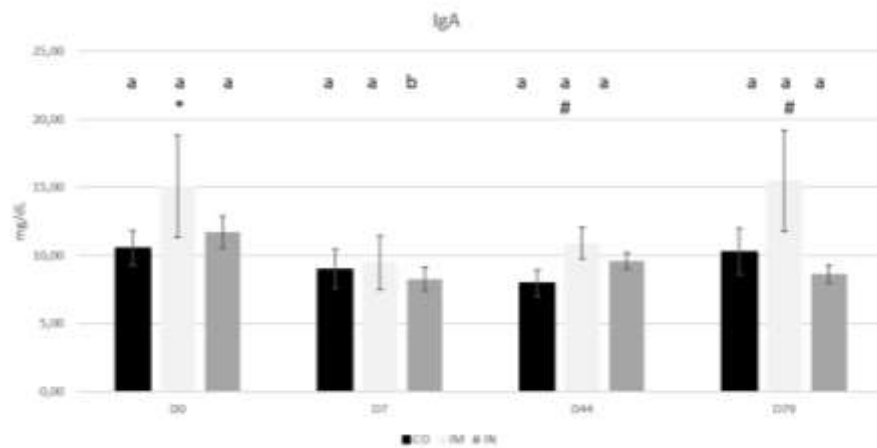
IM: grupo vacina intramuscular (14 animais), IN: grupo vacina intranasal (11 animais), CO: grupo controle (13 animais), sem vacina.

Figura 2- Dosagem sérica de IgG de bovinos em confinamento de acordo com o protocolo de vacina utilizado.



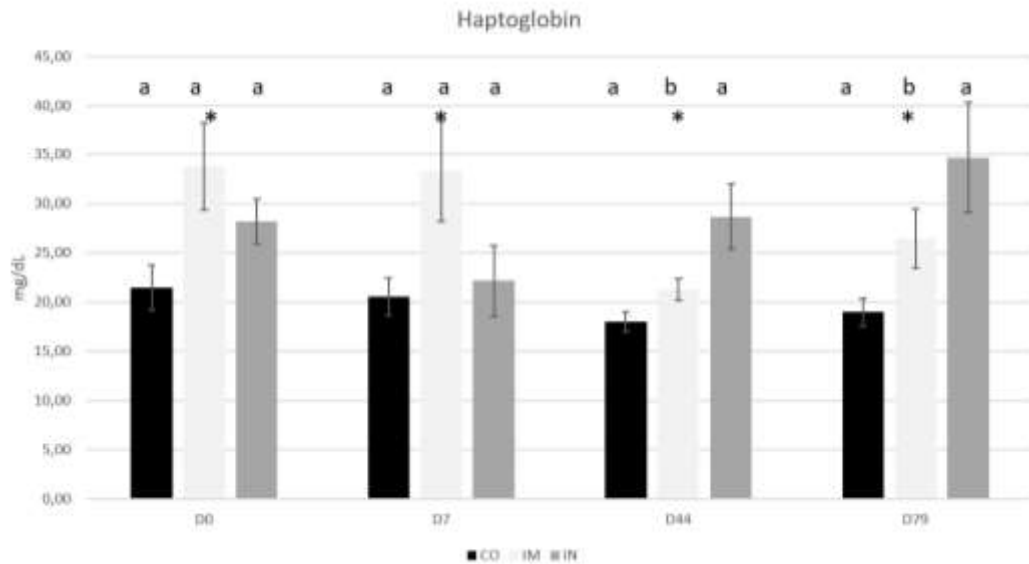
IM: grupo vacina intramuscular (14 animais), IN: grupo vacina intranasal (11 animais), CO: grupo controle (13 animais), sem vacina.

Figura 3- Dosagem sérica de IgA de novilhos em confinamento de acordo com o protocolo de vacina utilizado.



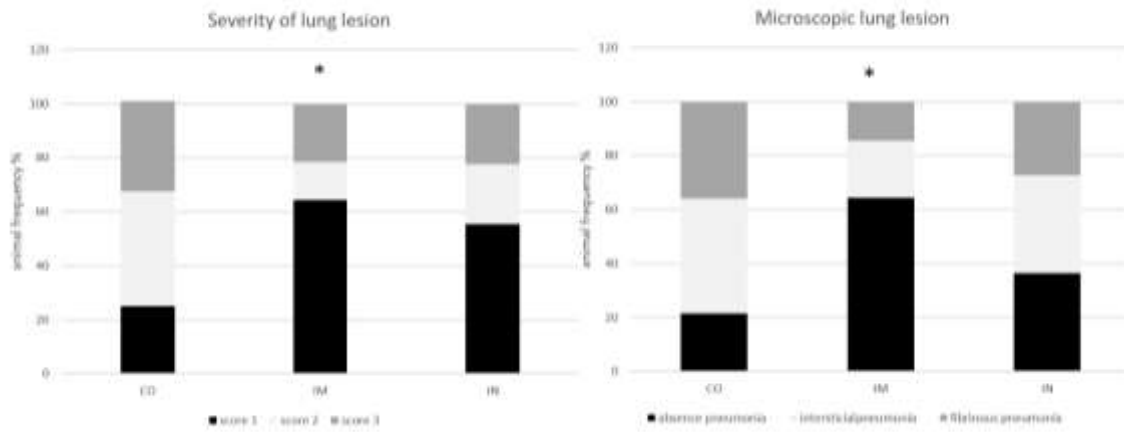
IM: grupo vacina intramuscular (14 animais), **IN:** grupo vacina intranasal (11 animais), **CO:** grupo controle (13 animais), sem vacina.

Figura 4- Dosagem sérica de haptoglobina de bovinos em confinamento de acordo com o protocolo de vacina utilizado.



IM: grupo vacina intramuscular (14 animais), **IN:** grupo vacina intranasal (11 animais), **CO:** grupo controle (13 animais), sem vacina.

Figura 5- Frequência de animais com lesão pulmonar macroscópica e microscópica de bovinos em confinamento de acordo com o protocolo de vacina utilizado.



IM: grupo vacina intramuscular (14 animais), **IN:** grupo vacina intranasal (11 animais), **CO:** grupo controle (13 animais), sem vacina. **Escore 1:** Ausência de lesão, **escore 2-** lesões até a 50% do lobo cranioventral pulmonar, **Escore 3,** lesões entre 50% a 75% do lobo cranioventral pulmonar. Teste do qui quadrado.

ANEXOS

COMPROVANTE DE SUBMISSÃO DE ARTIGO:

The Canadian Veterinary Journal
La Revue vétérinaire canadienne



**COMPARISON BETWEEN INTRANASAL AND
INTRAMUSCULAR COMMERCIAL VACCINES AGAINST
RESPIRATORY VIRUSES IN CONFINED CATTLE**

Journal:	Canadian Veterinary Journal
Manuscript ID	2020-0023
Manuscript Type:	Scientific Article
Date Submitted by the Author:	03-Feb-2020.
Complete List of Authors:	Taube, Mari; UNICENTRO, Medicina Veterinária; UNOESC, Rossi, Patricia; UNICENTRO Sagae, Andressa; UNICENTRO Bet Flores, Gabriel ; UNICENTRO Garbossa, Gabriela; UNICENTRO Peres, Jayme; UNICENTRO Lopes, Lorena Bertagnon, Heloisa; UNICENTRO, DEVET
Keyword:	Confinement, immunity, pneumonia, productivity, prophylaxis
Abstract:	<p>Since vaccination generates stress in cattle and stress is an important factor causing bovine respiratory complex (CRB), we aimed to evaluate two vaccine protocols against CRB. The intranasal and intramuscular protocols were based on intranasal and intramuscular administrations of vaccines, respectively, at the confinement entrance, with primary vaccination performed 21 days before and reinforcement on the day of confinement entry. This study included 42 half Angus-blood gamets, testing positive for bovine viral diarrhoea virus, homogeneously distributed in the control, intranasal, and intramuscular groups. On specific days, respiratory disease indicators, weight gain, and serum levels of immunoglobulin-G, immunoglobulin-A, and haptoglobin were measured to evaluate the presence and severity of pneumonia. The intramuscular group presented a lower incidence of pneumonia, and more weight gain and slaughter weight than the other groups. The intranasal group presented more respiratory disease indicators, same weight gain and slaughter weight, and lesser frequency of pneumonia as compared to the control. The intramuscular protocol was effective in protecting the confined cattle against CRB and preventing weight gain reduction, while the intranasal protocol did not show these benefits</p> <p>abstract.docx</p>

NORMAS PARA SUBMISSÃO DO ARTIGO- CANADIAN VETERINARY JOURNAL

Instructions for Authors

The Canadian Veterinary Journal (The CVJ) provides a forum for the discussion of all matters relevant to the veterinary profession. The mission of the Journal is to educate by informing readers of progress in clinical veterinary medicine, clinical veterinary research, and related fields of endeavor. The key objective of The CVJ is to promote the art and science of veterinary medicine and the betterment of animal health. A report suggesting that animals have been unnecessarily subjected to adverse, stressful, or harsh conditions or treatments will not be processed for publication.

Experimental studies using animals will only be considered for publication if the studies have been approved by an institutional animal care committee, or equivalent, and the guidelines of the Canadian Council on Animal Care (1), or equivalent, have been followed by the author(s).

The CVJ welcomes manuscripts in English or French. Articles must be as concise as possible — articles that are too long will be reduced during the editing process. Criteria for acceptance of articles include both quality of the research or case report and relevance to our readers. All accepted manuscripts submitted to The CVJ will be subjected to check for plagiarism. Find tips from the Editor on submitting peer-reviewed articles here: www.canadianveterinarians.net/documents/submissiontips-from-the-cvj-editor Authors are invited to submit the names and e-mail contacts of 3 reviewers. In order to be invited to review, suggested reviewers must be individuals who have published in the subject area and/or have specific expertise on the subject, and have no conflict of interest (not a member of your university, not someone with whom you have published or collaborated in the past 5 years). Manuscripts can be made generally available through the author's institution after an embargo period of 6 months following publication.

SCIENTIFIC ARTICLES

- i) Original Study — This includes reports on significant new investigations or

observations, with appropriate experimental design and statistical analysis, especially those with application to veterinary practice in Canada.

- ii) ii) Retrospective Study — This type of article provides a critical review of case records, with statistical analyses where appropriate, that will contribute substantial new information to the veterinary literature.

Format for Scientific Articles

- authors should refer to scientific articles published in previous issues of The CVJ for explicit format
- articles should not be combined with a review of the literature
- body of article (Introduction to end of Discussion) must not exceed 4000 words
- the entire article should not exceed 25 pages double-spaced, including figures, tables, and references • authors may be asked to reduce the number of tables and/or figures and the number of references if these are considered excessive
- titles of papers should not be more than 15 words.

Abstract

- no more than 150 words
- state the purpose(s) of the study or investigation, basic procedures, main findings, and principal conclusions
- if you are able to provide a French translation of the title and abstract, it would be much appreciated.

Introduction

- clearly state the purpose and rationale for the study
- do not review the subject extensively
- do not include data or conclusions from the work being reported.

Materials and methods

- describe the materials and methods used, so that the research can be repeated
- identify equipment and pharmaceuticals with the manufacturer's or supplier's name, city, province/state, country
- identify precisely all drugs and chemicals used, including generic names, doses, and routes of administration
- describe statistical methods with enough detail to enable a knowledgeable reader with

access to the original data to verify the reported results

- present findings with appropriate indicators of measurement error or uncertainty (such as confidence intervals).

Results

- present results in a logical sequence in the text, tables, and illustrations
- do not repeat tabulated data in the text.

Discussion

- do not repeat your results
- discuss your findings, their limitations, and your conclusions in relation to the literature.

Acknowledgments

- see Guidelines for acknowledgments. References
- see Style section that follows
- references should be limited to 35
- if your article is written in French, please use the reference style and format outlined in the French instructions for authors.

STYLE

The CVJ style follows accepted biomedical format (2). When submitting your manuscript, please:

- save documents in Microsoft Word
- use Times New Roman 12-point font
- number lines continuously
- double space
- left justify, 2.5-cm (1-in) margins (minimum)
- begin each section on a separate page: title page, abstract, introduction, materials and methods, results, discussion, acknowledgments, references, tables, figure legend(s), and figures
 - provide the frame of reference for magnification of photographs and photomicrographs by means of a scale bar on the figure and the value of the bar either on the figure or in the legend
 - number pages consecutively, beginning with the title page, in the upper right-hand corner of each page

- use a font size no smaller than 10-point in tables • tables must fit within the page (portrait or landscape orientation)
- spell English words according to Webster's Collegiate Dictionary (5)
- spell medical terms according to Dorland's Medical Dictionary (6).

Nomenclature for pathogens

Authors should refer to Virus Taxonomy: The Classification and Nomenclature of Viruses The Online (10th) Report of the ICTV (https://talk.ictvonline.org/ictv-reports/ictv_online_report/); Prokaryotic Nomenclature Up-to-date (<https://www.dsmz.de/bacterial-diversity/prokaryotic-nomenclature-up-to-date.html>); Scientific Names for Parasites (www.waavp.org/node/40), and the International Code of Botanical Nomenclature for fungi (www.bgbm.org/IAPT/Nomenclature/Code/SaintLouis/0001ICSLContents.htm).

Title page All title pages will include:

- the title of the article, which should be concise but informative without using abbreviations
- usual first name, initial(s), and last name of each author
- name and address of department(s) and institution(s) or practice(s) to which the work should be attributed
- name of corresponding author (plus the mailing address, if different from address above, and the e-mail address) • disclaimers, if any
- the source(s) of support in the form of grants, equipment, drugs, etc.

References

- references should be limited to 35 (50 for review articles)
- number references consecutively in the order in which they are first mentioned in the text
- identify references in text, tables, and legends by arabic numerals (in parentheses)
- number references cited only in tables or in legends to figures in accordance with a sequence established by the first identification in the text of the particular table or illustration
- abbreviate titles of journals according to the style used in the List of Journals Indexed in Medline (www.nlm.nih.gov/tsd/serials/lji.html)

- do not use “unpublished observations” and “personal communications” (name of contact, year of contact, contact person’s affiliation) as references; references to written, not verbal, communications may be inserted within the body of text (in parentheses)
- include among the references manuscripts accepted but not yet published, by specifying the journal or book, year and volume number, if known, and adding “In press” (see example 8)
- cite information from manuscripts submitted but not yet accepted as “unpublished observations” (in parentheses)
- verify all references against the original documents
- list all authors when they number 6 or fewer; when 7 or more, list only first 3 and add “et al.”

Examples of reference style:

Standard journal article

1. Osborne CA. Don’t just do something — stand there: An exposition of Hippocrates’ admonition “First do no harm.” *Compend Contin Educ Pract Vet* 1991;13:1248–1261.

Journals paginated by issue

2. Mullis KB. The unusual origin of the polymerase chain reaction. *Sci Am* 1990;262:56–65.

Books

3. Blood DC, Radostits OM. *Veterinary Medicine*, 7th ed. London, England: Baillière Tindall, 1989:845–857.

Editor, compiler, or chairman as author

4. Thomson RG, ed. *General Veterinary Pathology*. 2nd ed. Toronto, Ontario: WB Saunders, 1984:407–411.

Chapter in a book

5. Maxie MG. The urinary system. In: Jubb KVF, Kennedy PC, Palmer N, eds. *Pathology of Domestic Animals*. 3rd ed. vol 2. Toronto, Ontario: Academic Pr, 1985:343–411.

Dissertation or thesis

6. Tessaro SV. A description and epizootiologic study of brucellosis and tuberculosis in bison in northern Canada [PhD dissertation]. Saskatoon, Saskatchewan: University of Saskatchewan, 1988.

Published proceedings papers

7. LeCouteur RA, Kornegay JN, Higgins RJ. Late onset progressive cerebellar degeneration

of Brittany spaniel dogs. Proc Annu Meet Coll Vet Intern Med 1988:657–658.

Unpublished material .

8. Kent ML, Poppe TT. Diseases of coldwater marine fish in cage culture. In: PTK Woo, Bruno DW, Lim SL, eds. Diseases of Finfish in Cage Culture. Oxford: Agriculture and Biosciences Intl Publ, 1998. In press.

CD-ROM

9. Tams T. Upper GI Endoscopy [CD-ROM]. Guelph, Ontario: Lifelearn, 2000.

Journal Article on the Internet

Taylor D McD. The appropriate use of references in a scientific research paper. Emerg Med Aust 2002;14:166–170. Available from: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1046/j.1442-2026.2002.00312.x/full> Last accessed December 18, 2012.

Monograph on the Internet

10. Foley B. Dexamethasone for veterinary use [monograph on the Internet]. Swedesboro, New Jersey: Wedgewood Pharmacy c2001–2002. Available from: <http://www.wedgewoodpharmacy.com/monographs/dexamethasone2.asp> Last accessed December 18, 2012.

Homepage/website

11. Glossary of Internet and Web Jargon. UC Berkeley Library [homepage on the Internet]. Berkeley: University of California c1995–2004 [updated 2004 January 7]. Available from: <http://www.lib.berkeley.edu/TeachingLib/Guides/Internet/Glossary.html> Last accessed December 18, 2012.

Part of a homepage/website

12. Canadian Veterinary Medical Association [homepage on the Internet] c2007 The Canadian Veterinary Journal [updated monthly]. Available from: <http://canadianveterinarians.net/publications/canadian-veterinary-journal.aspx> Last accessed December 18, 2012.

Database on the Internet

13. Directory of Canadian Veterinarians and Clinics [database on the Internet] Ottawa: Canadian Veterinary Medical Association c2007. Available from: <http://canadianveterinarians.net/resources/directory-vets-clinics.aspx> Last accessed December 18, 2012.

Tables

- use a separate page, double-spaced, for each table

- submit tables in Microsoft Word
- number consecutively, using arabic numerals (1, 2, 3, ...)
- supply a brief title for each
- give each column a short or abbreviated heading • place explanatory matter in footnotes, not in the heading
 - explain in footnotes all nonstandard abbreviations that are used in each table
 - designate footnote by superscript letter (a,b,c)
 - identify statistical measures of variations, such as standard deviation and standard error of the mean
- omit internal horizontal and vertical lines
- cite each table in the text in consecutive order.

Figures

- figures should not be downloaded from the Internet, as they do not have sufficient resolution. Photographs and figures must have a resolution of at least 300 dpi and be in JPEG or TIFF format only
 - figure width must be 3.5 inches for one column, or 7.5 inches for two columns
 - keep letters, numbers, and symbols clear and even throughout, and large enough to be legible when reduced for publication
 - put titles and detailed explanations in the legend, not on the illustration itself
 - include an appropriate scale for photomicrographs and electron micrographs in the legend, with an appropriate bar (measure) on the figure • identify the stains used
 - please note that all photomicrographs/light microscopic images must be submitted and published in color.
 - contrast symbols, arrows, or letters used in the photomicrographs with the background
 - cite each figure in the text in consecutive order
 - the lines used in a line graph or drawing must be thicker than “hair-line,” they must be at least 0.03-cm (0.01-in) wide.

Units of measurement, abbreviations, symbols

- use Système International (SI) measurements throughout the manuscript (7,8)
- consult the references below (5–10) for correct abbreviations and symbols

- avoid abbreviations in titles, in the abstract, and at the beginning of a sentence
- when using an abbreviation, spell out the full term the first time it is used, unless it is a standard unit of measurement.