



**FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS
CURSO DE MESTRADO**



**DOENÇAS DE BEZERROS BOVINOS E BUBALINOS EM
MATO GROSSO DO SUL DIAGNOSTICADAS NO
LABORATÓRIO DE ANATOMIA PATOLÓGICA DA UFMS
(2014-2024)**

LARISSA LOBEIRO DE SOUZA

**Campo Grande – MS
2025**

LARISSA LOBEIRO DE SOUZA

**DOENÇAS DE BEZERROS BOVINOS E BUBALINOS EM
MATO GROSSO DO SUL DIAGNOSTICADAS PELO
LABORATÓRIO DE ANATOMIA PATOLÓGICA DA UFMS
(2014-2024)**

*Diseases of bovine and buffalo calves in Mato Grosso do Sul diagnosed at
the pathological anatomy laboratory of UFMS (2014-2024)*

LARISSA LOBEIRO DE SOUZA

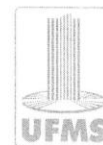
Orientador: Danilo Carloto Gomes

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestra em Ciências Veterinárias.

**Campo Grande – MS
2025**



Ministério da Educação
Fundação Universidade Federal de Mato Grosso do Sul
Coordenadoria de Pós-Graduação (CPG/PROPP)



Ata de Defesa de Dissertação
Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias
Mestrado

Aos dezessete dias do mês de fevereiro do ano de dois mil e vinte e cinco, às dezesseis horas, no Anfiteatro da FAMEZ, da Fundação Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, reuniu-se a Banca Examinadora composta pelos membros: Danilo Carloto Gomes (UFMS), Edson Moleta Colodel (UFMT) e Francisco Alejandro Uzal (UC DAVIS), sob a presidência do primeiro, para julgar o trabalho da aluna: **LARISSA LOBEIRO DE SOUZA**, CPF *****.294.261-****, do Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Curso de Mestrado, da Fundação Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, apresentado sob o título **"DOENÇAS DE BEZERROS BOVINOS E BUBALINOS EM MATO GROSSO DO SUL DIAGNOSTICADAS NO LABORATÓRIO DE ANATOMIA PATOLÓGICA DA UFMS (2014-2024)"** e orientação de Danilo Carloto Gomes. O presidente da Banca Examinadora declarou abertos os trabalhos e agradeceu a presença de todos os Membros. A seguir, concedeu a palavra à aluna que expôs sua Dissertação. Terminada a exposição, os senhores membros da Banca Examinadora iniciaram as arguições. Terminadas as arguições, o presidente da Banca Examinadora fez suas considerações. A seguir, a Banca Examinadora reuniu-se para avaliação, e após, emitiu parecer expresso conforme segue:

EXAMINADOR

ASSINATURA

Dr. Danilo Carloto Gomes (Interno)

Danilo Carloto Gomes

Dr. Edson Moleta Colodel (Externo)

Edson Moleta Colodel

Dr. Francisco Alejandro Uzal (Externo)

Francisco Alejandro Uzal

Dra. Rayane Chitolina Pupin (Externo) (Suplente)

Rayane Chitolina Pupin

RESULTADO FINAL:

☒ Aprovação

☐ Aprovação com revisão

☐ Reprovação

OBSERVAÇÕES:

Nada mais havendo a ser tratado, o Presidente declarou a sessão encerrada e agradeceu a todos pela presença.

Assinaturas:

Danilo Carloto Gomes
 Presidente da Banca Examinadora

Larissa Lobeiro de Souza
 Aluna

AGRADECIMENTOS

Agradeço aos meus pais, Delcimar e Jacqueline, por me apoiar em mais essa etapa da minha vida e acreditar que sou capaz de fazer sempre o melhor trabalho, mesmo sem compreender exatamente o que faço.

Ao meu companheiro Leonardo, pelo suporte e confiança em mim em todos os momentos durante esses dois anos de mestrado, tanto em momentos de conquistas quanto de frustrações.

A todos da equipe do LAP/UFMS (técnicos, residentes e estagiários), especialmente à Nickolly, Rayane, Thaísa, Helena, Acauane, Vitor, Jhony, Bianca e Maria Eduarda, pelo compromisso com todos os casos acompanhados, pelo respeito e amizade.

Aos professores/orientadores do LAP/UFMS, Danilo e Ricardo, pela gestão dos projetos, por todo conhecimento compartilhado e pela amizade.

Aos pesquisadores da FAMEZ, em especial Prof.^a Cássia e Prof. Carlos, e de outras instituições de ensino, do Brasil e do exterior, que auxiliaram em diferentes projetos no laboratório.

À IAGRO, especialmente ao Fábio Shiroma, por todo recurso material e humano disponibilizado e pela parceria.

A todos os veterinários de campo e produtores que requisitaram os serviços do LAP/UFMS, bem como aos animais que geraram os dados desta pesquisa.

Finalmente, agradeço à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo auxílio financeiro durante todo o meu mestrado.

Sumário

RESUMO.....	v
Abstract.....	vi
1. CAPÍTULO I	10
1.1. Introdução	10
1.2. Objetivos	11
1.3. Material e métodos.....	12
1.4. Resultados	13
1.5. Discussão.....	22
1.6. Conclusão	33
1.7. Referências bibliográficas	33
2. CAPÍTULO II	41
2.1. Encephalomyelitis and serositis caused by <i>Chlamydia pecorum</i> in buffalo calves from Brazil	41
2.2. Wischnewsky spots in cases of fatal hypothermia in cattle	55
3. CAPÍTULO III	64
3.1. Considerações finais.....	64
3.2. Impacto econômico, social, tecnológico e/ou inovação.....	64

RESUMO

O estado de Mato Grosso do Sul desempenha um papel fundamental na produção de bovinos de corte. A mortalidade de bezerros representa um desafio, impactando negativamente a lucratividade pelo aumento nos custos de produção. A maioria dos estudos aponta doenças digestivas e respiratórias como as principais causas de morte, especialmente em sistemas de criação leiteira, tanto no Brasil quanto em outros países. Este estudo, analisou o arquivo de laudos de necropsias do Laboratório de Anatomia Patológica da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (LAP-UFMS) em um período de onze anos. O objetivo foi identificar as causas de mortes de bezerros bovinos e bubalinos, de um dia a um ano de idade, extraindo informações sobre a etiologias e suas frequências de ocorrência. Os dados obtidos foram compilados, relacionando-se a etiologia das doenças com faixa etária definidas (0-1 mês, 2-5 meses, 6-8 meses e 9-12 meses), sendo discutidos em relação a aspectos epidemiológicos e patológicos. Dos laudos que se adequaram ao estudo, 87,7% eram de casos de bezerros de corte, sendo 45,2% da raça Nelore. As doenças infecciosas e parasitárias predominaram, representando 74,5% dos diagnósticos, com destaque para a raiva (22,9%), que ocorreu em todas as faixas etárias. Nos bovinos de até 3 meses, a septicemia bacteriana foi o diagnóstico mais comum (7,6%). A salmonelose septicêmica apresentou uma frequência significativa (6,3%), equivalente à do carbúnculo sintomático, com maior incidência em bezerros de até 3 meses e de 4 a 8 meses, respectivamente. Outras causas destacadas incluem o complexo tristeza parasitária bovina (6,7%), as enterites (5,7%) e as pneumonias (2,9%). Em doenças que abrangem categorias de diagnóstico não-infeccioso, foram incluídas e agrupadas em doenças diversas (5,7%), doenças tóxicas e toxi-infecciosas (5,7%), doenças carenciais e metabólicas (4,9%), doenças causadas por agentes físicos (4,2%), doenças congênitas (3,9%) e neoplasias (1%). Em búfalos, foram identificados surtos de intoxicação por monesina, encefalomielite, serosite causada por *Chlamydia pecorum*, e casos de eimeriose e enterite de causa não determinada. Este trabalho reforça a necessidade de vigilância contínua e melhorias no manejo sanitário para promover a saúde animal e à sustentabilidade da pecuária. É parte desse trabalho, o capítulo II, com os relatos formatados para publicação em revista científica, do surto de clamidiose em búfalos e da descrição de “manchas de Wischnewsky” em um bezerro morto por hipotermia.

Palavras-chave: bezerros de corte, doenças inflamatórias e parasitárias, necropsias, mortalidade.

Abstract

Mato Grosso do Sul plays a key role in beef cattle production. Calf mortality is a challenge, impacting profitability levels due to increased production costs. Most studies indicate digestive and respiratory diseases as the main causes of death, especially in dairy farming systems, both in Brazil and in other countries. This study analyzed the archive of necropsy reports from the Laboratory of Pathological Anatomy of the Federal University of Mato Grosso do Sul (LAP-UFMS) over a period of eleven years. The objective was to identify the causes of death of cattle and buffalo calves, from one day to one year of age, extracting information on the etiologies and their frequencies of occurrence. The data obtained were compiled, relating the etiology of the diseases with a defined age range (0-1 month, 2-5 months, 6-8 months and 9-12 months), and discussed in relation to epidemiological and pathological aspects. Of the reports that were suitable for the study, 87.7% were cases of beef calves, 45.2% of which were of the Nelore breed. Infectious and parasitic diseases predominated, accounting for 74.5% of the diagnoses, with emphasis on rabies (22.9%), which occurred in all age groups. In cattle up to 3 months old, bacterial septicemia was the most common diagnosis (7.6%). Septicemic salmonellosis had a significant frequency (6.3%), equivalent to that of blackleg, with a higher incidence in calves up to 3 months old and 4 to 8 months old, respectively. Other prominent causes include tick-borne diseases (6.7%), enteritis (5.7%) and pneumonia (2.9%). In diseases that encompass non-infectious diagnostic categories, they were included and grouped into miscellaneous diseases (5.7%), toxic and toxi-infectious diseases (5.7%), deficiency and metabolic diseases (4.9%), diseases caused by physical agents (4.2%), congenital diseases (3.9%) and neoplasms (1%). Outbreaks of monesin poisoning, encephalomyelitis, serositis caused by *Chlamydia pecorum*, and cases of eimeriosis and enteritis of undetermined cause were identified in buffaloes. This study reinforces the need for continuous surveillance and improvements in health management to promote animal health and the sustainability of livestock farming. Part of this study, Chapter II, with reports formatted for publication in a scientific journal, of the outbreak of chlamydiosis in buffaloes and the description of "Wischnewsky spots" in a calf that died of hypothermia.

Keywords: beef calves, inflammatory and parasitic diseases, necropsies, mortality

LISTA DE TABELAS

Capítulo I

Tabela 1. Doenças inflamatórias e parasitárias diagnosticadas entre janeiro de 2014 a dezembro de 2024 em bovinos com 1 dia a 12 meses de idade, no LAP-UFMS em Mato Grosso do Sul.....**14**

Tabela 2. Doenças menos frequentes diagnosticadas entre janeiro de 2014 e dezembro de 2024 em bezerros bovinos com idades entre 1 dia e 12 meses, no LAP-UFMS em Mato Grosso do Sul.....**16**

Tabela 3. Doenças diagnosticadas entre janeiro de 2014 e dezembro de 2024 em bezerros bovinos neonatos (0 a 1 mês de idade), no LAP-UFMS em Mato Grosso do Sul.....**18**

Tabela 4. Doenças diagnosticadas entre janeiro de 2014 e dezembro de 2024 em bezerros bovinos pré-desmamados (de 2 a 5 meses de idade), no LAP-UFMS em Mato Grosso do Sul..... **19**

Tabela 5. Doenças diagnosticadas entre janeiro de 2014 e dezembro de 2024 em bezerros bovinos de 6 a 8 meses de idade (período de desmame), no LAP-UFMS em Mato Grosso do Sul.....**20**

Tabela 6. Doenças diagnosticadas entre janeiro de 2014 e dezembro de 2024 em bezerros bovinos de 9 a 12 meses de idade (período de desmame), no LAP-UFMS em Mato Grosso do Sul.....**21**

Tabela 7. Doenças diagnosticadas entre janeiro de 2014 e dezembro de 2024 em bezerros bubalinos de 15 dias a 6 meses de idade, no LAP-UFMS em Mato Grosso do Sul..... **22**

Capítulo II

Wischnewsky spots in cases of fatal hypothermia in cattle

Table 1. Minimum and maximum temperatures in the week in which deaths from hypothermia had occurred in cattle in the cities of the properties visited in Mato Grosso do Sul, on June of 2023.....**57**

93

94

LISTA DE FIGURAS

95

96

Capítulo I

97 Figura 1. Necropsias realizadas em bezerros bovinos de janeiro de 2014 a
 98 dezembro de 2024 em Mato Grosso do Sul e a porcentagem de cada categoria de
 99 diagnóstico.....**13**

100

Capítulo II

101 **Encephalomyelitis and serositis caused by *Chlamydia pecorum* in buffalo**
 102 **calves from Brazil**

103 Figure 1. Gross lesions in buffalo calves associated with *Chlamydia pecorum*
 104 infection. (a) Right lateral view of the thoracic cavity. There is multifocal white
 105 material (fibrosis/fibrous granulation tissue) on the pleural and pericardial surfaces;
 106 a few fibrous/fibrinous strands adhere the visceral and parietal pleura (bottom right
 107 corner). Irregular, multifocal dark red areas are observed in the cranial lobes that
 108 are diffuse in the caudal lobes (atelectasis). Case 2. (b) Cross-section of the
 109 cervical spinal cord after 24 hours of fixation in formalin. There is a focally
 110 extensive red area with small cavitations (malacia) that mostly affects the white
 111 matter. Case 1.....**45**

112 Figure 2. Histological and immunohistochemical aspects of encephalomyelitis and
 113 fibrinous pericarditis caused by *Chlamydia pecorum* in buffalo calves. (a)
 114 Pericardium. There is thickening by fibrin (arrows) and a marked mononuclear
 115 inflammatory infiltrate (inset). Case 1. Hematoxylin and eosin (HE). (b) Spinal
 116 cord. The wall of the blood vessel is infiltrated by degenerate neutrophils and
 117 discrete mononuclear cells and is associated with a central fibrin thrombus
 118 obliterating the lumen and vessel wall. Case 2. HE. (c) Cervical spinal cord.
 119 Multiple blood vessels are occluded by fibrin thrombi (*). There is extensive
 120 necrosis of the adjacent neuroparenchyma with vacuolization of the white matter
 121 and axonal swellings (spheroids, arrows). Case 2. HE. Inset: glial and
 122 inflammatory cell infiltration in the neuroparenchyma. Case 2. HE. (D)
 123 Pericardium, immunolabeling for *Chlamydia* spp, in the cytoplasm of
 124 macrophages. Case 1. Immunohistochemistry (IHC). (E) Brain, immunolabeling for

125	<i>Chlamydia</i> spp. in the inflamed neuroparenchyma. Case 1. IHC. (F) Spinal cord,	
126	immunolabeling for <i>Chlamydia</i> spp. in endothelial cells and macrophages within	
127	the lumen of the blood vessels. Case 2. IHC.....	47

128 **Wischnewsky spots in cases of fatal hypothermia in cattle**

129	Fig.1. Wischnewsky spots in hypothermia in cattle. Multiple black dots and spots,	
130	sometimes random red ones, on the mucosal surface of the	
131	abomasum.....	59

132	Fig.2. Wischnewsky spots in hypothermia in cattle. Black, flat, coalescing foci on	
133	the mucosal surface of the abomasum, mainly at the apex of the	
134	folds.....	60

135	Fig.3. Wischnewsky spots in hypothermia in cattle. Abomasum. Two areas have	
136	marked deposition of golden-brown pigment (hematin) in the middle of the	
137	mucosal epithelial cells. HE, obj.10x.....	61

138	Fig.4. Wischnewsky spots in hypothermia in cattle. Abomasum. Marked deposition	
139	of hematin accompanied by areas of hemorrhage. The parietal cells are	
140	preserved. HE, obj.40x.....	61

141

1. CAPÍTULO I

1.1. Introdução

O Brasil possui um dos maiores rebanhos comerciais de bovinos do mundo, com cerca de 238,6 milhões de cabeças em 2023, sendo o Mato Grosso do Sul (MS) responsável por 18,8 milhões desse total, destacando-se na criação extensiva de bovinos de corte. No mesmo ano, o rebanho bubalino, apesar de ter menor expressão no país, contou com cerca de 1,6 milhões de cabeças no Brasil e 16,6 mil cabeças no MS (IBGE, 2023). A garantia do estado sanitário da cadeia produtiva é essencial para o crescimento da pecuária, e os Laboratórios de Diagnóstico Veterinário (LDVs) desempenham papel crucial nesse cenário ao coletar dados clínicos e epidemiológicos, realizar necropsias e direcionar testes diagnósticos para identificar doenças, novos padrões epidemiológicos e aprimorar técnicas diagnósticas, prevenindo perdas econômicas e promovendo maior eficiência produtiva (WATSON et al., 2008; COSTA et al., 2009; LUCENA et al., 2010; SCHULZ et al., 2018).

Levantamentos realizados em LDVs da região sul do Brasil, abrangendo doenças diagnosticadas em bezerros de até um ano de idade, demonstraram um quantitativo expressivo dessa faixa de idade na casuística dos laboratórios (ASSIS-BRASIL et al., 2013a, SCHWERTZ, 2022). Em Mato Grosso do Sul, foi realizado um estudo pela Embrapa Gado de Corte, com dados em um intervalo de 9 anos de atividades da instituição, constando-se que a mortalidade de bezerros com até um ano de idade representou 53,7% do total de mortalidade de bovinos (CORRÊA et al., 2001).

Em sistemas de produção animal, a alta mortalidade de animais jovens tem o potencial de causar perdas financeiras significativas diretas, pela redução da produção de carne e laticínios, diminuição do número de animais com potencial reprodutivo, principalmente fêmeas, impactando na expansão do rebanho (KIRK et al., 2024), ou de forma indireta, como a perda do trabalho reprodutivo, genético e nutricional realizado para produzir um bezerro, ou perdas geradas para controlar a doença (LOPES et al., 2009). Além disso, as medidas terapêuticas ineficientes também elevam os custos de produção, como, por exemplo, a utilização de

antibióticos sem o correto direcionamento em casos de diarreia em bezerros (BERGE et al., 2009).

Os estudos que relataram causas de mortalidade em bezerros no Brasil, concentram-se na região Sul, e em bovinos leiteiros (ASSIS-BRASIL et al., 2013a; OLMOS et al., 2024). Essa abordagem também é observada em pesquisas realizadas em outros países. Na Noruega (Gulliksen et al. 2009), na Etiópia (FENTIE et al., 2020), na China (ZHANG et al., 2019) e no Canadá (WINDEYER et al., 2014) avaliaram as causas de mortalidade de bezerros leiteiros, com destaques para contextos regionais. Um ponto comum entre esses estudos é a identificação de distúrbios digestivos e respiratórios como principais causas de mortalidade, especialmente em bezerros lactentes. Nos Estados Unidos, problemas digestivos, como enterites, são a principal causa de morte de bezerros lactentes, enquanto problemas respiratórios predominam em bezerros desmamados (USDA 2010).

Embora existam pesquisas que abordam causas de morte em bovinos na região Centro-Oeste, como os estudos de Rondelli et al. (2017) e Pupin et al. (2019), no Brasil, há uma lacuna de estudos específicos sobre mortalidade de bovinos e bubalinos até um ano de idade, principalmente em bezerros de corte criados em sistemas extensivos que predomina na região Centro-Oeste

1.2. Objetivos

Objetivo Geral

Fazer levantamento de arquivo do LAP-UFMS sobre causas de morte em bezerros bovinos e bubalinos, de um dia a 12 meses de idade, em Mato Grosso do Sul.

Objetivos específicos

Determinar a frequência das doenças que causam mortalidade de bezerros bovinos e bubalinos, de um dia a 12 meses de idade registradas em um intervalo de 10 anos no LAP-UFMS;

Compilar e agrupar as principais etiologias de causa de mortalidade de bezerros registradas no LAP-UFMS.;

Correlacionar os principais diagnósticos a aspectos epidemiológicos como a faixa etária dos bezerros acometidos.

1.3. Material e métodos

Foram revisados todos os registros *post mortem* dos arquivos do Laboratório de Anatomia Patológica da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (LAP-UFMS), Mato Grosso do Sul. Foram incluídos no estudo anotações de bovinos e bubalinos com até 12 meses de idade registrados entre janeiro de 2014 a dezembro de 2024. Não foram computados laudos dos animais provenientes de outros estados, de experimentos, de biópsias, ou de fetos, natimortos e neonatos.

Desses registros, foram obtidas informações do local de origem, de idade, sexo, raça, sinais clínicos, manejo sanitário, dados epidemiológicos disponíveis, achados de necropsia, alterações histopatológicas e exames complementares disponíveis, e baseados nestes contextos foi informado a conclusão diagnóstica. Também foram contabilizados os casos em que os exames realizados não foram suficientes para estabelecer o diagnóstico conclusivo, sendo estes denominados de inconclusivos. Cada diagnóstico obtido foi considerado um caso (n), mesmo que fossem de ocorrência no mesmo período e propriedade (surto).

As doenças dos bezerros foram categorizadas em: doenças inflamatórias e parasitárias, doenças tóxicas e toxi-infecciosas, doenças causadas por agentes físicos, neoplasias, doenças carenciais e metabólicas e doenças congênitas. As doenças que não se enquadraram nessas categorias foram agrupadas em doenças diversas. As doenças foram distribuídas por faixa etária de 0-1 mês (neonatos), 2-5 meses (pré-desmamados), 6-8 meses (período de desmame) e de 9-12 meses (desmamados). A frequência dos diagnósticos foi calculada e realizou-se aproximação decimal nos valores obtidos.

Os exames *post-mortem* incluíram informações relativas à avaliação de necropsia e análise microscópica de vários órgãos em cada caso. Dependendo da avaliação morfológica, informações complementares que incluíram resultados de cultura bacteriológica, testes parasitológicos, testes moleculares (PCR), imuno-histoquímica e análises químicas, mineral e toxicológica foram usadas para estabelecer a conclusão diagnóstica

1.4. Resultados

Entre janeiro de 2014 e dezembro de 2024, foram registradas 1.773 necropsias de bovinos no LAP-UFMS. Dessas, 511 (28,8%) corresponderam a bovinos com idades entre um dia e 12 meses. Entre elas 259 (50,7%) foram de necropsias realizadas pela equipe do LAP-UFMS, enquanto 252 (49,3%) foram conduzidas por veterinários externos. No total, 75,1% ($n = 384/511$) das necropsias resultaram em diagnósticos conclusivos, enquanto 24,9% ($n = 127/511$) foram inconclusivas. Entre as necropsias inconclusivas, 79,5% ($n = 101/127$) foram realizadas por veterinários externos e 20,5% ($n = 26/127$) pela equipe do LAP/UFMS.

Com relação às raças dos bezerros bovinos estudados, 87,7% ($n = 449/511$) pertenciam a raças de aptidão para corte, sendo que 45,2% ($n = 231/511$) eram Nelore. Além disso, 8,4% ($n = 43/511$) tinham aptidão leiteira, 1,2% ($n = 6/511$) não tinham raça definida e, em 2,5% ($n = 13/511$) das necropsias, a raça do bovino não foi informada. Em relação a distribuição geográfica das 511 amostras encaminhadas, o maior número de casos, com 21,9% ($n = 112$) eram oriundas do município de Campo Grande, região central do estado. De outros 67 municípios de Mato Grosso do Sul foram enviadas 78,1% das amostras ($n = 399$) e, em 0,8% ($n = 4/511$), não foram informados os municípios de ocorrência.

A estratificação e a frequência de ocorrência das categorias de diagnóstico conclusivos estão apresentadas na Figura 1.

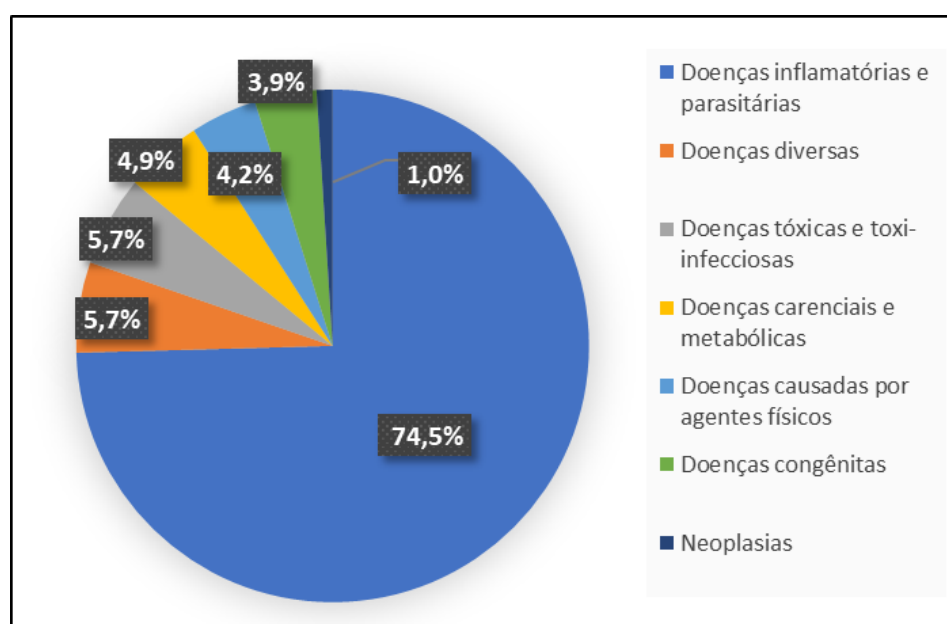


Figura 1. Necropsias realizadas em bezerros bovinos de janeiro de 2014 a dezembro de 2024 em Mato Grosso do Sul e a porcentagem de cada categoria de diagnóstico.

As doenças inflamatórias e parasitárias foram as mais frequentes, representando 74,5% dos diagnósticos conclusivos (n=286/384), e estão apresentadas na Tabela 1.

Tabela 1. Doenças inflamatórias e parasitárias diagnosticadas entre janeiro de 2014 a dezembro de 2024 em bovinos com 1 dia a 12 meses de idade, no LAP-UFMS em Mato Grosso do Sul.

Diagnóstico	N	%
Raiva	88	22,9
Septicemia bacteriana	29	7,6
Carbúnculo sintomático	24	6,3
Salmonelose septicêmica	24	6,3
Pneumonias ^a	13	3,4
Babesiose cerebral	12	3,1
Anaplasmose	9	2,3
Osteomielite supurativa	9	2,3
Meningoencefalite por herpesvírus bovino	9	2,3
Encefalomielite linfocítica (causa não determinada)	7	1,8
Colibacilose entérica	6	1,6
Eimeriose	5	1,3
Anaplasmose e salmonelose	5	1,3
Sugestivo de tristeza parasitária bovina	5	1,3
Diarreia viral bovina	4	1,0
Abscesso encefálico	4	1,0
Febre catarral maligna	4	1,0
Hemoncose	3	0,8
Infecção sistêmica por <i>Acanthamoeba</i> sp. ^b	3	0,8
Espoliação por carrapato	2	0,5
Cistite e uretrite necro-hemorrágica.	2	0,5
Abscesso medular	2	0,5
Abscesso muscular	2	0,5
Onfaloflebite	2	0,5
Enterite necro-hemorrágica	2	0,5
Hepatite e encefalite necrótica por BHV-5	1	0,3
Endocardite piogranulomatosa (tricúspide)	1	0,3
Peritonite por ruptura de úlcera de abomaso	1	0,3
Pleurite piogranulomatosa com fibrose	1	0,3
Omasite e rumenite supurativas (bebedor ruminal)	1	0,3
Meningoencefalite trombótica	1	0,3
Peritonite secundária a hérnia umbilical	1	0,3
Peritonite por ruptura gastroduodenal	1	0,3
Enterite/ necrose de criptas (sugestivo viral)	1	0,3
Infecção fúngica generalizada	1	0,3
Edema maligno	1	0,3
Total	286	74,5

^a Estão inclusos casos de origem bacteriana, viral ou parasitária; ^b Casos diagnosticados pela histopatologia, complementados por técnica de PCR e imunohistoquímica (IHQ).

As pneumonias incluem oito casos de pleuropneumonia fibrinossupurativa, histologicamente compatível com infecção por *Mannheimia haemolytica*, três casos de pneumonia intersticial sugestivos de infecção viral (sem agente

etiológico definido) e dois casos de pneumonia verminótica causada por *Dictyocaulus viviparus*. Os diagnósticos de colibacilose entérica foram realizados associando lesões histopatológicas, caracterizadas por necrose da mucosa e bactérias cocobacilares intralesionais, por vezes intimamente aderidas à superfície intestinal nos segmentos afetados do intestino, e o isolamento da *Escherichia coli*, em cultivo bacteriológico. No caso da salmonelose septicêmica, além do diagnóstico histopatológico e microbiológico, em alguns casos, a imunohistoquímica (IHQ) também foi realizada e detectou o agente nos tecidos acometidos.

A maioria dos casos de raiva foram submetidos e confirmados pelos exames de imunofluorescência direta (IFD) e inoculação intracerebral em camundongos. Em três casos o diagnóstico baseou-se apenas na análise histopatológica, com a identificação de corpúsculos de inclusão e inflamação característica. Os casos de encefalomielite linfocítica de causa indeterminada tiveram resultados negativos para raiva na IFD.

Os casos de diarreia viral bovina foram relacionados a doença das mucosas pelas manifestações clínica e patológica apresentadas, associadas a detecção do vírus no soro sanguíneo dos bezerros acometidos, através da técnica de RT-PCR e sequenciamento, que identificou *Pestivirus braziliense* (HoBi-like pestivirus), além do resultado positivo no teste de antígeno (IDEXX®). O diagnóstico de febre catarral maligna e meningoencefalite por herpesvírus, foram baseados nas lesões histopatológicas e não foram realizadas análises diagnósticas complementares. Os diagnósticos de hemoncose, eimeriose e dictiocaulose foram baseados e localização anatômica no hospedeiro e na morfologia macro e microscópica dos parasitas e de ovos em nos exames coproparasitológicos.

Os diagnósticos de babesiose e anaplasmoses foram baseados nos sinais clínicos, nos achados macro e microscópicos e na identificação de *Anaplasma marginale* em exames citológicos de esfregaços sanguíneos ou *imprint* de baço e fígado, e de *Babesia bovis* pela técnica de squash do córtex encefálico. Em cinco casos, o diagnóstico clínico e patológico foi sugestivo de tristeza parasitária bovina, mas não houve identificação do agente etiológico.

As doenças diversas, tóxicas e toxi-infecciosas, carenciais e metabólicas, doenças causadas por agentes físicos, doenças congênitas e as neoplasias foram menos frequentes, representando menos que 6,0% dos diagnósticos totais em cada categoria. Estes agrupamentos estão apresentados na Tabela 2.

Tabela 2. Doenças menos frequentes diagnosticadas entre janeiro de 2014 e dezembro de 2024 em bezerros bovinos com idades entre 1 dia e 12 meses, no LAP-UFMS em Mato Grosso do Sul.

Categoria	Diagnóstico	N	%
Tóxica ou toxi-infecciosa	Intoxicação por abamectina	8	2,1
	*Sugestivo de intoxicação por doramectina	3	0,8
	Intoxicação por <i>Stryphnodendron fissuratum</i>	3	0,8
	Sugestivo de botulismo	3	0,8
	Intoxicação por <i>Brachiaria</i> sp.	2	0,5
	Intoxicação por imidocarb	1	0,3
	intoxicação por <i>Vernonia rubricaulis</i>	1	0,3
	Intoxicação por sódio	1	0,3
	Total	22	5,7
Carencial ou metabólica	Polioencefalomalacia	7	1,8
	Acidose ruminal	3	0,8
	Caquexia	3	0,8
	Indigestão vagal	2	0,5
	Sugestivo de deficiência de sódio	1	0,3
	Deficiência de vitamina E e Selênio	1	0,3
	Deficiência de vitamina A	1	0,3
	Total	19	4,9
Causada por agentes físicos	Trauma	5	1,3
	Hipotermia	5	1,3
	Hipertermia	4	1,0
	Fratura óssea	2	0,5
	Total	16	4,2
Congênita	Artrogripose	6	1,6
	Malformações múltiplas	2	0,5
	Palatosquise	2	0,5
	Malformações cardíacas	1	0,3
	Doença da membrana hialina neonatal	1	0,3
	Malformação vaginal e prolapso de reto	1	0,3
	Linfedema primário	1	0,3
	Atresia segmentar colônica	1	0,3
	Total	15	3,9
Neoplasia	Linfoma multicêntrico	3	0,8
	Neuroblastoma olfatório	1	0,3
	Total	4	1,0
Diversa	Necrose hepática centrolobular com retenção biliar	7	1,8
	Necrose muscular de causa indeterminada	4	1,0
	Megaesôfago	1	0,3
	Úlceras abomasais	1	0,3
	Sugestivo de acidente ofídico	1	0,3
	Complicação cirúrgica (hérnia umbilical)	1	0,3
	Medula espinhal, necrose focal da substância branca	1	0,3
	Evisceração e perfuração intestinal	1	0,3
	Insuficiência cardíaca esquerda	1	0,3
	Cerebelo, neurônios de purkinje, degeneração	1	0,3
	Choque anafilático por picada de abelhas	1	0,3
	Necrose hepática massiva	1	0,3
	Pneumonia aspirativa (+BVDV)	1	0,3

Total**22****5,7**

*Sugestivo de – casos diagnosticados através dos achados clínicos e patológicos, associados a informações epidemiológicas compatíveis, mas sem confirmação laboratorial do agente etiológico. ^aOs achados patológicos definiram a pneumonia aspirativa como causa da morte. No entanto, foi realizado, nesse bezerro, teste de antígeno para o vírus da diarreia viral bovina (BVDV) da IDEXX® e o resultado foi positivo. ^b diagnóstico histopatológico, sem informações epidemiológicas suficientes para sugerir uma causa.

De todos os casos considerados neste estudo de mortalidade em bezerros de até um ano, 22,1% (n = 113/511) corresponderam à faixa etária de 0 a 1 mês de idade (bezerros neonatos), dos quais 76,1% (n = 86/113) tiveram resultados conclusivos. Para a faixa etária de 2 a 5 meses de idade (bezerros pré-desmamados), 32,3% (n = 165/511) dos casos foram registrados, sendo 83,6% (n = 138/165) com resultados conclusivos. Na faixa etária de 6 a 8 meses, 18,0% (n = 92/511) dos casos foram registrados, dos quais 72,8% (n = 67/92) tiveram resultados conclusivos. Finalmente, 27,6% (n = 141/511) dos casos corresponderam à faixa etária de 9 a 12 meses, sendo 66,0% (n = 93/141) com resultados conclusivos.

A distribuição e a frequência de ocorrência das doenças diagnosticadas em cada faixa etária (neonatos, pré-desmamados, em desmame e desmamados), em relação ao total de diagnósticos conclusivos (n = 384), estão apresentadas nas Tabelas 3, 4, 5 e 6, respectivamente.

335 Tabela 3. Doenças diagnosticadas entre janeiro de 2014 e dezembro de 2024 em bezerros
 336 bovinos neonatos (0 a 1 mês de idade), no LAP-UFMS em Mato Grosso do Sul.

Categoria	Diagnóstico	N	%
Inflamatória e/ou parasitária	Septicemia bacteriana	17	4,4
	Babesiose cerebral	7	1,8
	Colibacilose entérica	6	1,6
	Raiva	5	1,3
	Salmonelose septicêmica	5	1,3
	Sugestivo de tristeza parasitária bovina	2	0,5
	Anaplasmosse	2	0,5
	Pneumonia intersticial	1	0,3
	Pneumonia bacteriana	1	0,3
	Meningoencefalite por herpesvírus bovino	1	0,3
	Onfaloflebite	1	0,3
	Peritonite por ruptura gastroduodenal	1	0,3
	Abscesso medular	1	0,3
	Enterite/ necrose de criptas	1	0,3
	Hepatite e encefalite necrótica por BHV-5	1	0,3
	Infecção fúngica generalizada	1	0,3
	Total	53	13,8
Congênita	Artrogripose	6	1,6
	Malformações múltiplas	2	0,5
	Doença da membrana hialina neonatal	1	0,3
	Palatosquise	1	0,3
	Malformação vaginal e prolapso de reto	1	0,3
	Linfedema primário	1	0,3
	Atresia segmentar colônica	1	0,3
Tóxica ou toxi-infecciosa	Total	13	3,4
	Intoxicação por abamectina	6	1,6
	Sugestiva de intoxicação por doramectina	3	0,8
	Intoxicação por imidocarb	1	0,3
Causada por agentes físicos	Total	10	2,6
	Hipertermia	2	0,5
	Trauma	2	0,5
Neoplasia	Total	4	1,0
	Linfoma multicêntrico	1	0,3
Diversa	Total	1	0,3
	Cerebelo, neurônios de purkinje, degeneração	1	0,3
	Choque anafilático por picada de abelhas	1	0,3
	Necrose hepática massiva	1	0,3
	Pneumonia aspirativa (+BVDV)	1	0,3
Diversa	Hepatite necrótica centrolobular e retenção biliar	1	0,3
	Total	5	1,3

338 Tabela 4. Doenças diagnosticadas entre janeiro de 2014 e dezembro de 2024 em bezerros
 339 bovinos pré-desmamados (de 2 a 5 meses de idade), no LAP-UFMS em Mato Grosso do Sul

Categoria	Diagnóstico	N	%
Inflamatória e/ou parasitária	Raiva	39	10,2
	Salmonelose septicêmica	16	4,2
	Septicemia bacteriana	12	3,1
	Osteomielite supurativa	9	2,3
	Carbúnculo sintomático	5	1,3
	Anaplasmoses e salmonelose	5	1,3
	Sugestivo de tristeza parasitária bovina	3	0,8
	Pneumonia bacteriana	3	0,8
	Febre catarral maligna	3	0,8
	Babesiose cerebral	2	0,5
	Anaplasmoses	2	0,5
	Eimeriose	2	0,5
	Omasite e rumenite supurativas (bebedor ruminal)	1	0,3
	Onfaloflebite	1	0,3
	Meningoencefalite trombótica	1	0,3
	Meningoencefalite por herpesvírus bovino	1	0,3
	Infecção sistêmica por <i>Acanthamoeba</i> sp.	1	0,3
	Abscesso muscular	1	0,3
	Abscesso medular	1	0,3
	Encefalite não supurativa de causa indeterminada	1	0,3
	Enterite necro-hemorrágica	1	0,3
	Peritonite secundária a hérnia umbilical	1	0,3
	Abscesso submandibular	1	0,3
	Abscesso de ponte	1	0,3
	Abscesso de hipófise	1	0,3
	Cistite hemorrágica	1	0,3
	Peritonite por ruptura de úlcera de abomaso	1	0,3
	Pleurite piogranulomatosa com fibrose	1	0,3
	Total	117	30,5
Carencial ou metabólica	Acidose ruminal	2	0,5
	Indigestão vagal	1	0,3
	Sugestivo de deficiência de sódio	1	0,3
	Caquexia	1	0,3
	Deficiência de vitamina E e Selênio	1	0,3
	Total	6	1,6
Causada por agentes físicos	Hipertermia	2	0,5
	Trauma	2	0,5
	Total	4	1,0
Neoplasia	Linfoma multicêntrico	2	0,5
	Total	2	0,5
Tóxica	Intoxicação por abamectina	2	0,5
	Total	2	0,5

			20
Congênita	Malformações cardíacas	1	0,3
	Total	1	0,3
Diversa	Sugestivo de acidente ofídico	1	0,3
	Complicação cirúrgica (hérnia umbilical)	1	0,3
	Medula espinhal, necrose focal da substância branca	1	0,3
	Evisceração e perfuração intestinal	1	0,3
	Insuficiência cardíaca esquerda	1	0,3
	Hepatite necrótica centrolobular e retenção biliar	1	0,3
	Total	6	1,6

340

341 Tabela 5. Doenças diagnosticadas entre janeiro de 2014 e dezembro de 2024 em bezerros
342 bovinos de 6 a 8 meses de idade (período de desmame), no LAP-UFMS em Mato Grosso do Sul.

Categoria	Diagnóstico	N	%
Inflamatória e/ou parasitária	Raiva	21	5,5
	Carbúnculo sintomático	8	2,1
	Encefalomielite não supurativa de causa indeterminada	4	1
	Babesiose cerebral	3	0,8
	Pneumonia bacteriana	3	0,8
	Infecção sistêmica por Acanthamoeba sp.	2	0,5
	Abscesso cerebral	1	0,3
	Abscesso cerebelar	1	0,3
	Eimeriose	1	0,3
	Enterite necro-hemorrágica	1	0,3
	Febre catarral maligna	1	0,3
	Meningoencefalite herpesvírus bovino	1	0,3
	Edema maligno	1	0,3
	Total	48	12,5
Carencial ou metabólica	Polioencefalomalacia	6	1,6
	Sugestivo de deficiência de vitamina E e Selênio	1	0,3
	Indigestão vagal	1	0,3
	Total	8	2,1
Tóxica ou toxi-infecciosa	Sugestivo de botulismo	3	0,8
	Intoxicação por sódio	1	0,3
	Intoxicação por Brachiaria sp.	1	0,3
	Total	5	1,3
Causada por agentes físicos	Trauma físico	1	0,3
	Hipotermia	1	0,3
	Total	2	0,5
Congênita	Palatosquise	1	0,3
	Total	1	0,3
Diversa	Úlceras abomasais	1	0,3
	Necrose muscular polifásica	1	0,3
	Hepatite necrótica centrolobular com acentuada retenção	1	0,3

Total**3****0,8**

Tabela 6. Doenças diagnosticadas entre janeiro de 2014 e dezembro de 2024 em bezerros bovinos de 9 a 12 meses de idade (período de desmame), no LAP-UFMS em Mato Grosso do Sul.

Categoria	Diagnóstico	N	%
Inflamatória e/ou parasitária	Raiva	23	6,0
	Carbúnculo sintomático	11	2,9
	Meningoencefalite por herpesvírus bovino	6	1,6
	Anaplasmoze	5	1,3
	Diarreia viral bovina	4	1,0
	Hemoncose	3	0,8
	Salmonelose septicêmica	3	0,8
	Espoliação por carrapatos	2	0,5
	Pneumonia verminótica	2	0,5
	Eimeriose	2	0,5
	Encefalomielite não supurativa (causa não determinada)	2	0,5
	Pneumonia intersticial	2	0,5
	Cistite e uretrite necro-hemorrágica	1	0,3
	Endocardite piogranulomatosa (tricúspide)	1	0,3
	Pneumonia bacteriana	1	0,3
	Total	68	17,7
Causada por agentes físicos	Hipotermia	4	1,0
	Fratura óssea	2	0,5
	Total	6	1,6
Tóxica	Intoxicação por <i>Stryphnodendron fissuratum</i>	3	0,8
	Intoxicação por <i>Brachiaria</i> sp.	1	0,3
	Intoxicação por <i>Vernonia rubricaulis</i>	1	0,3
	Total	5	1,3
Carencial ou metabólica	Caquexia	2	0,5
	Polioencefalomalacia	1	0,3
	Acidose ruminal	1	0,3
	Deficiência de vitamina A	1	0,3
	Total	5	1,3
Neoplasia	Neuroblastoma olfatório	1	0,3
	Total	1	0,3
Diversa	Hepatite necrótica centrolobular com retenção biliar	4	1,0
	Necrose muscular (causa indeterminada)	3	0,8
	Megaesôfago	1	0,3
	Total	8	2,0

Sobre as doenças de bezerros bubalinos, no período de janeiro de 2014 a dezembro de 2024, foram atendidos no LAP-UFMS 12 casos de bezerros com idades entre 15 dias e 11 meses, todos provenientes de uma única propriedade

leiteira localizada no município de Bandeirantes, em Mato Grosso do Sul. O manejo alimentar dos bezerros de até quatro meses consistia na ingestão de colostro, e posteriormente, do leite em mamadeiras em um período do dia e ração em outro. Os bezerros mais velhos ficavam à pasto de *Brachiaria brizantha* e recebiam suplementação mineral e ração que continha 33,02 mg/kg de monensina. As doenças diagnosticadas em bezerros bubalinos dessa propriedade estão apresentadas na Tabela 7.

Tabela 7. Doenças diagnosticadas entre janeiro de 2014 e dezembro de 2024 em bezerros bubalinos de 15 dias a 6 meses de idade, no LAP-UFMS em Mato Grosso do Sul.

Doença	Idade	N
Intoxicação por monensina	4-6 meses	4
Encefalomielite por <i>Chlamydia pecorum</i>	3 meses	2
Eimeriose	1 e 4 meses	2
Desidratação (diarreia)	15 dias	1
Compactação ruminal e desidratação	1 mês	1
Jejunite linfoplasmocítica com atrofia e fusão de vilosidades	4 meses	1
Acidose ruminal	3 meses	1
Total		12

1.5. Discussão

Os laboratórios de diagnóstico veterinário são componentes fundamentais de um sistema integrado de saúde animal e se dedicam ao estudo de doenças que causam perdas ou limitam a produção animal. O diagnóstico confiável de uma enfermidade consiste em precisar a causa ou natureza de uma doença e depende de interrelacionar alguns pilares fundamentais como a análise epidemiológica do caso, as informações clínicas e lesionais detalhadas, a coleta adequada e preservação de amostras, e a utilização de métodos laboratoriais complementares (SCHULZ et al., 2018). A inconsistência nas informações para estruturar a conclusão diagnóstica leva a resultados inconclusivos. Durante o período de 11 anos desse estudo, o percentual de casos inconclusivos (24,9%) foi inferior ao observado em levantamento prévio com dados de bovinos de todas as idades no período de 1995 a 2018 no LAP/UFMS (PUPIN et al., 2019). Entretanto, manteve-se semelhança na alta frequência dos diagnósticos inconclusivos quando as necropsias eram realizadas por veterinários externos ao LAP/UFMS

(79,5%). Entre os principais motivos para os resultados inconclusivos, destacaram-se o estado avançado de autólise das amostras destinadas à exames complementares incluindo a histopatologia, a ausência de informações clínicas e epidemiológicas, interpretações controversas sobre lesões, descrições inconsistentes sobre achados de necropsia, necropsia incompleta e não envio de fragmentos de órgãos importantes para confirmação da suspeita clínica e de diagnóstico diferencial. Esses fatores também foram identificados em estudos retrospectivos realizados em outras regiões do Brasil (LUCENA et al., 2010; RONDELLI et al., 2017). Observou-se que a maioria dos bezerros enviados ao LAP/UFMS para diagnóstico eram criados para corte (87,7%), e que estavam em sistema de criação extensiva, sendo a raça Nelore a mais prevalente. Essa predominância é relevante para explicar a maior incidência de determinadas doenças de bezerros na região Centro-Oeste do Brasil, em comparação com outras regiões do país e do mundo. Das mortes de bezerros com até 12 meses de idade, 54,4% (n = 278/511) ocorreram em animais pré-desmamados, sendo 22,1% (n = 113/511) em bezerros com até um mês de idade.

No presente estudo, as doenças inflamatórias e parasitárias destacaram-se como as principais causas de mortalidade em bezerros bovinos, resultado consistente com outros trabalhos realizados no sul do Brasil (ASSIS-BRASIL et al., 2013a; SCHWERTZ, 2022) e em bovinos de todas as idades nessa região (LUCENA et al., 2010; MOLOSSI et al., 2021A), bem como em estudos realizados em Mato Grosso (RONDELLI et al., 2017) e no mesmo laboratório deste estudo, em Mato Grosso do Sul (PUPIN et al., 2019).

A raiva foi a doença mais frequentemente diagnosticada em todas as faixas etárias, representando 22,9% (n = 88/384) dos casos totais. A alta prevalência da doença já foi descrita na região, onde observou-se também que o maior número de ocorrências foi em animais jovens, de 48 dias a dois anos (RIBAS et al., 2013). No entanto, no sul do Brasil, a raiva representou menos de 8,6% dos diagnósticos totais (LUCENA et al., 2010; ASSIS-BRASIL et al., 2013a; SCHWERTZ, 2022). A prevalência da doença em bezerros com até 12 meses de idade também foi descrita em estudo retrospectivo em Mato Grosso do Sul, no qual 35,99% dos diagnósticos de raiva em bovinos ocorreram nessa faixa etária (PUPIN et al., 2019). Essa distribuição etária observada pode ser atribuída à vacinação tardia

após os quatro meses de idade ou à aplicação de apenas uma dose vacinal, conforme descrito em estudos no Nordeste do Brasil (LIMA et al., 2005; ANDRADE et al., 2014). Neste levantamento, a raiva também foi diagnosticada em bezerros com menos de um mês de idade, sugerindo possíveis falhas na vacinação das mães ou na transferência de imunidade passiva via colostro.

O segundo diagnóstico mais frequente foi de septicemia bacteriana, com 7,9% (n = 29/384) dos casos, todos ocorrendo em bezerros de até três meses de idade. Em oito desses casos, realizou-se a cultura bacteriana de tecidos afetados, e as seguintes bactérias foram identificadas: *Escherichia coli* (n =5), *Proteus* sp. (n =1 caso), *Pseudomonas* sp. (n =1) e *Corynebacterium* sp. (n =1). Apesar do número limitado de casos com identificação microbiológica, a predominância de *E. coli* reforça seu papel como principal agente etiológico descrito na literatura (FECTEAU et al., 2009). Bezerros de até três meses são particularmente vulneráveis à septicemia devido a dois fatores principais: falha na transferência de imunidade passiva e alta exposição a patógenos ambientais, além de infecções em sítios primários, como o umbigo e estruturas internas relacionadas (FECTEAU et al., 2009). Neste estudo, muitos casos apresentaram descrição de onfoblebite associada. Ademais, diagnósticos de osteomielite e abscessos no sistema nervoso central foram frequentemente observados como complicações secundárias à septicemia de origem umbilical.

A salmonelose representa outra causa relevante de septicemia bacteriana em bezerros, com infecção geralmente ocorrendo por via fecal-oral, associada à eliminação intermitente de *Salmonella* nas fezes de bovinos infectados. A forma septicêmica da doença foi o terceiro diagnóstico mais frequente, com 6,3% (n = 24/384), predominantemente em bezerros de até cinco meses de idade. Essa apresentação clínica está frequentemente relacionada à infecção por *Salmonella enterica* sorotipo Dublin, endêmica no Brasil e associada a casos de pneumonia intersticial (MARQUES et al., 2013; GUIZELINI et al., 2020). Neste estudo, não houve nenhum caso de salmonelose apenas com lesões entéricas, e apenas em sete casos, elas foram observadas associadas à septicemia. A importância da septicemia como causa de mortalidade por salmonelose em bezerros já foi relatada por Guizelini et al., 2019. Adicionalmente, apenas um dos casos envolveu um bezerro neonato, de três dias de idade, que não conseguiu se

442 levantar desde o nascimento. Este caso sugere, com base no período de
443 incubação da doença, uma possível infecção intrauterina. *Salmonella* Dublin
444 também é reconhecida como causa de abortos e natimortos em bovinos (MEE,
445 2023). Além disso, em três casos, a salmonelose foi diagnosticada em associação
446 com anaplasmoses, uma condição já descrita como fator predisponente para o
447 desenvolvimento da doença (MOLOSSI et al., 2021b).

448 O carbúnculo sintomático foi um dos diagnósticos infecciosos mais
449 frequentes neste estudo, especialmente em bezerros de 6 a 12 meses de idade.
450 Essa doença, é uma das mais prevalente em bovinos no Brasil, causada por
451 *Clostridium* spp., e que afeta principalmente bovinos não vacinados com idades
452 entre seis e 24 meses (HECKLER et al., 2018; SANTOS et al., 2019). Os casos
453 observados neste estudo são consistentes com essas características
454 epidemiológicas, tanto na faixa etária acometida quanto na ausência de vacinação
455 ou vacinação em dose única. A recomendação de imunização de bovinos para
456 essa doença é que seja realizada entre três e seis meses de idade, com reforço
457 após 30 dias e repetição anual. No entanto, um estudo brasileiro demonstrou que
458 a primovacinação aos quatro meses, seguida de reforço aos oito meses, também
459 garante títulos satisfatórios de anticorpos até os 10 meses de idade, coincidindo
460 com o período de desmame (ARAUJO et al., 2010), uma prática bastante adotada
461 no estado. Embora a maioria dos casos tenha ocorrido em bezerros
462 desmamados, cinco casos foram registrados em bezerros pré-desmamados, entre
463 dois e quatro meses, ressaltando a importância de estratégias profiláticas
464 adicionais, como a vacinação das vacas.

465 Entre as doenças infecciosas e parasitárias, o complexo tristeza parasitária
466 bovina (TPB) destacou-se pela frequência, abrangendo casos sugestivos e
467 diagnósticos confirmados de anaplasmoses e babesioses cerebrais (n = 26). Esse
468 complexo é causado por *Babesia* spp. e *Anaplasma marginale*, cujo principal
469 vetor é o carrapato *Rhipicephalus microplus*, mas podem também ser transmitidos
470 por via iatrogênica, no caso de *A. marginale*, e transplacentária (COSTA et al.,
471 2016). Um caso de babesiose cerebral do presente estudo ocorreu através dessa
472 última via de transmissão (BONATO et al., 2023). Os bezerros possuem proteção
473 inicial contra esses agentes por imunidade inata inespecífica, reforçada por
474 anticorpos colostrais que começam a declinar a partir dos 20 dias de idade.

Posteriormente, a exposição ao carrapato infectado em áreas de estabilidade enzoótica contribui para a manutenção de níveis adequados de anticorpos até os 9-10 meses (FARIAS, 2023).

Algumas condições aumentam o risco de TPB em bezerros com menos de um ano, incluindo falha na transferência de imunidade passiva pelo colostro, alta infestação por carrapatos infectados associada à queda da imunidade a partir dos 20 dias, e movimentação de animais de áreas de instabilidade enzoótica, como o Pantanal, para regiões de estabilidade enzoótica, como o cerrado. No Pantanal, as inundações sazonais interrompem o ciclo do carrapato, reduzindo a exposição dos bovinos aos agentes causadores da TPB (PUENTES & RIET-CORREA, 2023). Essa última situação foi observada nos últimos dois anos no Mato Grosso do Sul, relacionada a casos de anaplasmoses. No entanto, a maioria dos casos analisados envolveu bezerros de 15 dias a 2 meses, frequentemente com intensa infestação por carrapatos.

O diagnóstico de TPB poderia ser ainda mais frequente se os casos de necrose hepática centrolobular com retenção biliar fossem confirmados como relacionados aos agentes hemolíticos do complexo. No entanto, causas tóxicas também devem ser consideradas. Muitos desses casos eram indeterminados devido ao envio restrito de amostras, geralmente limitadas ao fígado, sem dados complementares sobre achados de necropsia ou sinais clínicos que permitissem uma identificação mais precisa da etiologia da necrose hepática.

As pneumonias bacterianas e intersticiais/virais (n=11) foram diferenciadas com base nos padrões de lesões macro e microscópicas (PANCIERA & CONFER, 2010). Estas representaram doenças infecciosas frequentemente diagnosticadas, ocorrendo tanto em bezerros não desmamados quanto em bezerros mais velhos, já desmamados. A doença respiratória bovina (DRB) é multifatorial e desenvolve-se como resultado da interação entre agentes virais, como o vírus sincicial respiratório bovino, coronavírus bovino, herpesvírus bovino tipo 1, parainfluenza vírus bovino-3 e o vírus da diarreia viral bovina; bactérias oportunistas, como *Mannheimia haemolytica*, *Pasteurella multocida*, *Histophilus somni* e *Mycoplasma bovis*; além de fatores de risco relacionados ao manejo dos animais (KUDIRKIENE et al., 2021). Geralmente, o maior risco de ocorrência da DRB está associado ao transporte de bezerros para sistemas de confinamento e

aos fatores estressantes envolvidos nesse processo, que provocam uma queda na imunidade respiratória. Por outro lado, em bezerros pré-desmamados, destacam-se como fatores de risco a exposição aos agentes virais imunossupressores mencionados, falhas na transferência de imunidade passiva, estresse térmico, mudanças de pastagens e alterações na dieta (STOKKA, 2010). Um dos casos de pneumonia bacteriana foi identificado no mesmo lote de bezerros onde ocorreu um surto de mortalidade associado ao estresse térmico.

As doenças respiratórias estão entre as principais causas de mortalidade em bezerros com até 12 meses de idade no Sul do Brasil, provavelmente devido à maior prevalência em bezerros leiteiros. Nessas condições, o manejo inclui práticas que favorecem o desenvolvimento dessas enfermidades, como o desmame precoce e o confinamento nos primeiros meses de vida (ASSIS-BRASIL et al., 2013b). Em outros países, as doenças respiratórias também assumem a mesma relevância em bezerros expostos a condições semelhantes (USDA, 2010; WINDEYER et al., 2014; ZHANG et al., 2019; FENTIE et al., 2020; FLYNN et al., 2024).

Com relação ao sistema digestivo, as enfermidades que cursam com diarreias e/ou enterites destacam-se entre as principais causas de mortalidade em bezerros pré-desmamados (ASSIS-BRASIL et al., 2013a; CHO & YOON, 2014; SCHWERTZ, 2022; USDA, 2010; WINDEYER et al., 2014; ZHANG et al., 2019; FENTIE et al., 2020). A ocorrência desse problema está associada a múltiplos fatores, como infecções por agentes bacterianos, virais e parasitários, que podem atuar isoladamente ou de forma concomitante, além da imunidade conferida via colostro, condições de manejo, higiênico-sanitárias e a nutrição dos animais. Essa característica multifatorial da diarreia faz com que sua ocorrência varie conforme a localidade geográfica, práticas de manejo e tamanho do rebanho (PESCADOR, 2023). No presente estudo, embora a categoria de bezerros neonatos tenha apresentado o maior número de diagnósticos relacionados a diarreias, o número registrado foi baixo em comparação aos estudos de prevalência global, que apontam essa como a principal causa de morbidade e mortalidade (JESSOP et al., 2024). Esses estudos incluem causas não identificadas neste trabalho, como a criptosporidiose. No entanto, *Cryptosporidium* sp. foi identificado nas fezes de bezerros neonatos com diarreia em casos que não foram realizadas necropsias.

Embora neste estudo as doenças entéricas neonatais não sejam as mais frequentes, é provável que esses dados não reflitam a realidade da região. Através do levantamento do histórico e de dados sanitários das propriedades acompanhadas neste estudo, observou-se que houve muitos relatos da realização de tratamento para diarreias neonatais e mortes frequentes de bovinos nessa faixa etária. Contudo, esses bezerros não foram encaminhados para necropsia.

Ao todo, foram diagnosticados casos de salmonelose (n = 8), sendo sete em bezerros de 20 dias a três meses; casos de eimeriose (n = 5), dois em bezerros de até três meses e três em bezerros com mais de oito meses, apresentando a forma neurológica associada; casos de colibacilose (n = 6), todos em bezerros de até 30 dias; e casos de enterite de causa não determinada (n = 3), sendo dois em bezerros de até três meses. Esses resultados são compatíveis com as etiologias e os períodos de ocorrência dos agentes causadores de diarreia em bezerros descritos na literatura. Os principais agentes incluem causas virais, como rotavírus e coronavírus, e cepas enterotoxigênicas da *Escherichia coli* (ETEC), que são predominantes até os cinco dias de idade; *Salmonella spp.* e coccídios, a partir dos 30 dias; e o vírus da diarreia viral bovina, geralmente a partir dos três meses (SMITH, 2012). Nos casos de colibacilose entérica deste estudo, a cepa patogênica envolvida não foi identificada, mas em alguns casos as lesões observadas eram compatíveis ao tipo denominado lesão de *attaching and effacing* (A/E). A ETEC é a principal causa de diarreia na primeira semana de vida, que coloniza o íleo e produz enterotoxinas que alteram a função dos enterócitos e causam diarreia osmótica, sem causar alterações histológicas significativas. Outros patótipos, como *E. coli* enteropatogênica (EPEC) e *E. coli* enterohemorrágica (EHEC), são causas menos comuns da diarreia neonatal, e são relacionadas a lesões de A/E, caracterizadas por adesão ao epitélio intestinal, destruição de microvilosidades e necrose, especialmente na junção ileocecal e no cólon (MOXLEY, 2010). Entretanto, destaca-se que, em um estudo conduzido no Mato Grosso do Sul, com o isolamento de *E. coli* em fezes diarreicas e não-diarreicas de bezerros neonatos, provenientes de propriedades das quatro regiões do estado, o patótipo ETEC foi o predominante, com identificação em 99,43% das amostras, mas cepas de EPEC e EHEC também foram ocasionalmente identificadas em associação com ETEC (TUTIJA et al., 2022),

demonstrando que são patotipos presentes na região e que podem estar associados a casos de diarreia em bezerros.

Em búfalos, embora a casuística de necropsia na espécie seja baixa, as diarreias destacaram-se entre os diagnósticos obtidos, com a eimeriose sendo o único agente etiológico identificado nesses casos. Essa coccidiose é considerada um importante causa de diarreia em búfalos em diversos países, incluindo o Brasil, e a infecção pode ocorrer logo após o nascimento, acometendo bezerros de até um mês de idade (DUBEY, 2018), como no caso do presente estudo.

A meningoencefalite causada pelo herpesvírus bovino (BoHV) também foi identificada, predominantemente em bezerros de 9 a 12 meses, registrados tanto de forma esporádica quanto em surtos. Esta doença neurológica é majoritariamente associada ao BoHV-5 (RISSI et al., 2007), embora alguns estudos tenham relatado casos relacionados ao BoHV-1 (SILVA et al., 2007). Neste estudo, não foi realizada a caracterização específica do agente. A morbidade dessa doença costuma ser baixa, mas a letalidade é alta, chegando a quase 100% (RISSI et al., 2007). Sua ocorrência é mais frequente em bovinos jovens de 13-24 meses, mas ocasionalmente acomete bezerros, com menos de um ano, submetidos a situações de estresse, como desmame, transporte, mudanças no manejo alimentar e vacinações. Essas ocorrências, descritas em diversos estados brasileiros, incluindo Mato Grosso do Sul (RISSI & LEMOS, 2023), destacam a vulnerabilidade dos animais nessas condições. Nos casos deste estudo, os fatores predisponentes mais relatados foram transporte e mistura de animais após o desmame.

Dentre as causas inflamatórias e parasitárias, dois surtos se destacaram pela ausência de relatos anteriores no Brasil: a infecção por *Acanthamoeba* sp. em bovinos e a encefalomielite e serosite causadas por *Chlamydia pecorum* em búfalos. *Acanthamoeba* spp. são amebas de vida livre, protozoários amplamente distribuídos no ambiente, que esporadicamente causam doenças em humanos e animais. A infecção por esse agente já foi relatada em cães, inclusive no Brasil, com distribuição multissistêmica da infecção e resultado quase invariavelmente fatal (MURILLO et al., 2024). No surto registrado neste levantamento, bezerras desmamadas de 8 meses de idade apresentaram apatia e incoordenação, que evoluíram para decúbito e morte. Na necropsia, observou-se acometimento do

sistema nervoso central, pulmões e rins. Um surto de encefalomielite e serosite induzida por *Chlamydia pecorum* ocorreu em bezerros búfalos de 3 meses de idade e foi relatado por De Souza et al. (2024).

No grupo das doenças tóxicas e toxi-infecciosas, as intoxicações por medicamentos antiparasitários (abamectina e doramectina) foram as mais prevalentes entre os bezerros pré-desmamados. A intoxicação por abamectina ocorreu em bezerros de até quatro meses de idade que receberam doses acima da recomendada, sendo esse um período de risco para a intoxicação, mesmo com a administração da dose terapêutica. Neste estudo, a intoxicação também foi associada ao uso dos produtos nas mães, e os aspectos epidemiológicos e patológicos desses casos foram descritos por Borges et al. (2021). Nos dois surtos, a intoxicação foi confirmada pela identificação de abamectina no tecido nervoso.

Por outro lado, nos casos de intoxicação por doramectina, não foi possível realizar a dosagem no tecido, sendo o diagnóstico baseado no quadro clínico, na ausência de lesões histológicas significativas e na análise epidemiológica. A doramectina é amplamente utilizada no controle de endo e ectoparasitas em criações de bovinos, especialmente no Brasil, devido à sua elevada segurança clínica, amplo espectro de ação e versatilidade nas vias de aplicação (subcutânea e intramuscular). No entanto, mesmo quando administrada na dose terapêutica, podem ocorrer intoxicações, particularmente em animais com baixo escore corporal (MACHADO et al., 2022). Os surtos diagnosticados ocorreram em duas propriedades distintas, afetando bezerros com até uma semana de vida. Esses casos foram associados ao uso de formulações de longa ação em um dos surtos, à administração de doses acima do recomendado e ao tratamento de bezerros com baixo peso ao nascer e reduzida reserva de gordura corporal.

As intoxicações por plantas ocorreram em bezerros desmamados e criados em sistema extensivo. Dentre elas estão: *Brachiaria* spp., *Vernonia rubricaulis* e *Stryphnodendron fissuratum*, as quais já foram diagnosticadas também em bovinos adultos (PUPIN et al., 2019).

Em búfalos, foi registrado um surto de intoxicação por monensina. Casos dessa intoxicação são raros e geralmente ocorrem de forma acidental, em surtos causados por erros na formulação da ração. No presente surto, a concentração

de monensina na ração foi acima do recomendado para bovinos (até 33 ppp), sendo que a resistência aos efeitos tóxicos da monensina é pelo menos quatro vezes maior que a dos búfalos (ROZZA et al., 2007). No Brasil, relatos dessa condição também já foram descritos nas regiões Sul e Nordeste, evidenciando também a pequena margem de segurança para o uso dessa substância nessa espécie (SILVA et al., 2022).

Os distúrbios carenciais e metabólicos apresentaram diagnósticos variados, sendo que, na maioria dos casos, a etiologia primária não foi identificada. A polioencefalomalácia, caracterizada pela necrose cerebrocortical, é uma condição associada a diferentes etiologias, como distúrbios no metabolismo da tiamina, intoxicação por enxofre, intoxicação por chumbo, intoxicação por sódio e privação de água. Nos Estados Unidos trata-se de uma condição comum em bezerros com mais de seis meses de idade, especialmente aqueles mantidos em confinamento (DORE & SMITH, 2017). No presente estudo, todos os casos ocorreram em bezerros com mais de seis meses, em sistemas de criações extensivas.

Outros casos de doenças carenciais, como deficiência de vitamina E e selênio, além de deficiência de vitamina A, foram registrados na forma de surtos. Essas deficiências afetaram bezerros entre 3 e 6 meses de idade, mantidos a pasto e em confinamento, respectivamente. O surto de deficiência de vitamina A foi publicado (PUPIN et al., 2023).

Entre as doenças congênitas, as malformações foram frequentes. Esses casos costumam ser incompatíveis com a vida, levando os bezerros a óbito pouco tempo após o nascimento. A principal malformação diagnosticada foi a artrogripose. Esse diagnóstico também foi relatado na região Sul do Brasil, com causas apontadas como genéticas e o vírus da diarreia viral bovina (MARCOLONGO-PEREIRA et al., 2010). Outras causas virais, como o vírus Akabane, vírus Schmallerberg, vírus da língua azul, ou vírus Aino, são associadas a uma série de malformações congênitas, incluindo a artrogripose (AGERHOLM et al., 2015). A etiologia dos casos relatados no presente estudo não foi determinada, embora muitos estivessem associados a relatos de perdas reprodutivas nas propriedades afetadas.

Dentre as doenças causadas por agentes físicos, as mortes causadas por hipotermia e hipertermia foram importantes e ocorreram na forma de surtos, principalmente em bovinos da raça Nelore e Angus, respectivamente. Surtos de mortalidade por hipotermia foram descritos anteriormente no estado acometendo bovinos de diferentes idades, que ocorreram dentro do período de 10 anos (Santos et al. 2012). Os casos de hipotermia desse estudo ($n = 4$) corresponderam a surtos em diferentes propriedades, no ano de 2023, sendo os achados epidemiológicos, de queda brusca de temperatura e extremos de umidade relativa do ar antecedendo a morte de muitos bovinos, semelhantes aos de casos publicados anteriormente (Santos et al. 2012). Nos casos deste estudo, além desses achados, identificou-se a ocorrência de manchas de Wischnewsky, um achado post-mortem, encontrado em outras espécies animais, principalmente humanos, que morreram por hipotermia (SOUZA et al. 2024).

Os casos de hipertermia ocorreram em forma de surtos, todos em bezerros de raças taurinas com até quatro meses de idade. Esses casos foram registrados em diferentes períodos do ano: em outubro, mês caracterizado pela seca no estado, e em janeiro, período marcado por altas temperaturas ambientais e extremos de umidade relativa do ar nas regiões afetadas. No Brasil e em outros países de clima tropical e subtropical, a maioria dos estudos realizados avalia e quantifica os efeitos do estresse térmico, sobretudo em bovinos leiteiros (GIANNONE et al., 2023). Outros estudos relataram ondas de calor que resultaram na morte de bovinos em confinamento (LEES et al., 2019). No entanto, não foram encontrados estudos relatando condições de mortalidade por hipertermia em bezerros de corte criados extensivamente, como no Centro-Oeste do Brasil.

Fatores predisponentes foram identificados em um dos surtos, como lesões podais observadas nos bezerros mais afetados, decorrentes do parasitismo por carrapatos, que dificultaram a locomoção dos animais em busca de abrigo contra o sol. Além disso, foi constatada ausência de água no rúmen e presença de areia no omaso e abomaso, evidenciando ingestão inadequada de água. A hidratação adequada é essencial para a regulação térmica e para minimizar os efeitos do estresse calórico, incluindo a desidratação. Em outro surto, os fatores predisponentes incluíram a movimentação dos bezerros por longas distâncias no

sistema de pastejo rotacionado e a escassez de áreas sombreadas na propriedade, agravando a condição de estresse térmico.

1.6. Conclusão

Este estudo analisa no Estado de Mato Grosso do Sul, as principais causas de mortalidade em bezerros bovinos e bubalinos com até um ano de idade. Os resultados foram baseados em necropsias realizadas entre 2014 e 2024 no Laboratório de Anatomia Patológica da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (LAP-UFMS). As doenças inflamatórias, como raiva e septicemia bacteriana, foram as mais frequentes. A raiva foi diagnosticada em todas as faixas etárias enquanto a septicemia bacteriana, mais comumente associada à inadequada antisepsia do umbigo ocorreu mais em bezerros com até 3 meses de idade. O estudo também revelou que os distúrbios digestivos e respiratórios foram menos frequentes em comparação a outras regiões do Brasil e do mundo. O estudo também identificou surtos de doenças anteriormente não diagnosticadas no país e intoxicações, muitas vezes associadas ao uso inadequado de antiparasitários. Esses achados reforçam a importância da vigilância contínua e de ajustes no manejo para prevenir esses problemas, promovendo melhoria na saúde animal e na sustentabilidade da pecuária.

1.7. Referências bibliográficas

- AGERHOLM, J.S.; HEWICKER-TRAUTWEIN, M.; PEPERKAMP, K. et al. Virus-induced congenital malformations in cattle. **Acta Veterinaria Scandinavica**, v. 57, p. 1-14, 2015.
- ANDRADE, J.S.L.; AZEVEDO, S.S.; PECONICK, A.P. de et al. 2014. Retrospective survey of rabies in Paraíba State, Brazil, from 2004 to 2011. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**. 51, 3 (Dec. 2014), 212–219.
- ARAUJO, R.F. CURCI, V.C., NOBREGA, F.L. et al. Vaccination protocol and bacterial strain affect the serological response of beef calves against blackleg. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 30, p. 554-558, 2010.

- 736 ASSIS-BRASIL, N.D.; MARCOLONGO-PEREIRA, C.; HINNAH, F.L. et al.
737 Enfermidades diagnosticadas em bezerros na região sul do Rio Grande do Sul.
738 **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.33, p.423-430, 2013a.
- 739 BERGE, A.C.B.; MOORE, D.A.; BESSER, T.E. et al. Targeting therapy to
740 minimize antimicrobial use in preweaned calves: effects on health, growth, and
741 treatment costs. **Journal of dairy science**, v. 92, n. 9, p. 4707-4714, 2009.
- 742 BONATO, G.C, SOUZA, L.L, SILVA, T.X. et al. Cerebral Babesiosis:
743 Transplacental Infection by Babesia bovis in a Calf. **Acta Scientiae Veterinariae**,
744 v.51, 2023.
- 745 BORGES, D.G.L.; BORGES, F.A, VIEIRA, M.C. et al. Poisoning of calves reared
746 with cows treated with abamectin. **Toxicon**, v. 203, p. 115-116, 2021.
- 747 CHO Y.I.; YOON K.J. An overview of calf diarrhea - infectious etiology, diagnosis,
748 and intervention. **Journal of Veterinary Science**, v.15, n.1, p.1-17, 2014.
- 749 CORRÊA, E.S.; EUCLIDES FILHO, K.; ALVES, R.G.O. et al. Desempenho
750 reprodutivo em um sistema de produção de gado de corte. Campo Grande:
751 Embrapa Gado de Corte, 2001, 33 p. (Boletim de Pesquisa, 13).
- 752 COSTA, S.C.L.; MAGALHÃES, V.C.S.; OLIVEIRA, U.V. et al. Transplacental
753 transmission of bovine tickborne pathogens: frequency, co-infections and fatal
754 neonatal anaplasmosis in a region of enzootic stability in the northeast of Brazil.
755 **Ticks and Tick-borne Diseases**, v.7, n.2, p.270-275, 2016
- 756 COSTA, V.M.D.M.; SIMÕES, S.V.; RIET-CORREA, F. Doenças parasitárias em
757 ruminantes no semi-árido brasileiro. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.29,
758 p.563-568, 2009.
- 759 DE SOUZA, L.L. PAVARINI, S.P.; BANDINELLI, M.B. et al. Encephalomyelitis and
760 serositis caused by Chlamydia pecorum in buffalo calves from Brazil. **Veterinary**
761 **Pathology**, p. 03009858241288116, 2024.
- 762 DORE, V; SMITH, G. Cerebral disorders of calves. **Veterinary Clinics: Food**
763 **Animal Practice**, v. 33, n. 1, p. 27-41, 2017.

- 764 DUBEY J. P. (2018). A review of coccidiosis in water buffaloes (*Bubalus bubalis*).
765 **Veterinary parasitology**, 256, 50–57.
- 766 FARIAS, N.A. Doenças parasitárias: tristeza parasitária bovina. In: Riet-Correa F.,
767 Schild A.L., Lemos R.A.A., Borges J.R.J, Mendonça F.S. & Machado M.(Eds),
768 Doenças de Ruminantes e Equídeos. Vol.2. 4a ed. MedVet, São Paulo, SP,
769 p.564-392570, 2023.
- 770 FECTEAU, G.; SMITH, B.P.; GEORGE, L.W. Septicemia and meningitis in the
771 newborn calf. **The Veterinary clinics of North America. Food animal practice**,
772 v.25, n.1, p 195–208, 2009.
- 773 FENTIE, T., Guta, S.; Mekonen, G. et al. Assessment of major causes of calf
774 mortality in urban and periurban dairy production system of Ethiopia. **Veterinary**
775 **Medicine International**, v. 2020, n. 1, p. 3075429, 2020.
- 776 FLYNN, A.; MCALOON, C.; SUGRUE, K. et al. Investigation into the safety, and
777 serological responses elicited by delivery of live intranasal vaccines for bovine
778 herpes virus type 1, bovine respiratory syncytial virus, and parainfluenza type 3 in
779 pre-weaned calves. **Frontiers in Veterinary Science**, v. 11, p. 1283013, 2024.
- 780 GIANNONE, C.; BOVO, M., CECCARELLI, M. et al. Review of the Heat Stress-
781 Induced Responses in Dairy Cattle. **Animals**, v. 13, n. 22, p. 3451, 2023.
- 782 GUIZELINI, C.C. PUPIN, R.C., LEAL, C.R. et al. Salmonellosis in calves without
783 intestinal lesions. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 39, n. 08, p. 580-586, 2019.
- 784 GUIZELINI, C.C.; TUTIJA, J.F.; MORAIS, D.R. et al. Outbreak investigation of
785 septicemic salmonellosis in calves. **Journal of Infection in Developing**
786 **Countries**, v.14, n.1, p.104-108, 2020.
- 787 GULLIKSEN, S.M.; LIE, K.I., LØKEN, T. et al. Calf mortality in Norwegian dairy
788 herds. **Journal of dairy science**, v. 92, n. 6, p. 2782-2795, 2009.

- 789 HECKLER, R.F.; LEMOS, R.A.D.; GOMES, D.C. et al. Blackleg in cattle in the
790 state Mato Grosso do Sul, Brazil: 59 cases. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.
791 38, n. 01, p. 06-14, 2018.
- 792 IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Produção da Pecuária
793 Municipal. 2023. Disponível em: [https://www.ibge.gov.br/explica/producao-](https://www.ibge.gov.br/explica/producao-agropecuaria/bovinos/br)
794 [agropecuaria/bovinos/br](https://www.ibge.gov.br/explica/producao-agropecuaria/bovinos/br). Acessado em 03 de janeiro de 2025.
- 795 JESSOP, E.; LI, L.; RENAUD, D.L. et al. Neonatal Calf Diarrhea and
796 Gastrointestinal Microbiota: Etiologic Agents and Microbiota Manipulation for
797 Treatment and Prevention of Diarrhea. **Veterinary Science**, v.11, n.3, p.108,
798 2024.
- 799 KIRK, T.W.D.; BYRNE, T., BESSEL, P. et al. Cost–benefit analysis of intervention
800 reducing young stock mortality in Ethiopia. **Frontiers in Veterinary Science**, v.
801 11, p. 1290705, 2024.
- 802 KUDIRKIENE, E.; AAGAARD, A.K.; SCHMIDT L.M.B. et al. Occurrence of major
803 and minor pathogens in calves diagnosed with bovine respiratory disease.
804 **Veterinary Microbiology**, v.259, p.109-135, 2021.
- 805 LEES, A.M.; SEJIAN, V.; WALLAGE, A.L. et al. The impact of heat load on
806 cattle. **Animals**, v. 9, n. 6, p. 322, 2019.
- 807 LIMA, E.F.; RIET-CORREA, F.; CASTRO, R.S.D. et al. Sinais clínicos, distribuição
808 das lesões no sistema nervoso e epidemiologia da raiva em herbívoros na região
809 Nordeste do Brasil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.25, n.4, p.250-264, 2005.
- 810 LOPES, M.A.; CARDOSO, M.G.; DEMEU, F.A. Influência de diferentes índices
811 zootécnicos na composição e evolução de rebanhos bovinos leiteiros. **Ciência**
812 **Animal Brasileira**, v.10, n.2, p.446-453, 2009.
- 813 LUCENA, R.B.; PIEREZAN, F.; KOMMERS, G.D. et al. Doenças de bovinos no
814 Sul do Brasil: 6.706 casos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.30, p.428-434,
815 2010.

- 816 MACHADO, M.; RIET-CORREA, F.; PEDROSO, P.M. et al. Doramectin
817 intoxication in malnourished 15-month-old cattle. **Pesquisa Veterinária**
818 **Brasileira**, v. 42, p. e07102, 2022.
- 819 MARCOLONGO-PEREIRA, C.; SCHILD, A.L.; SOARES, M.P.; et al. Defeitos
820 congênitos diagnosticados em ruminantes na Região Sul do Rio Grande do
821 Sul. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 30, p. 816-826, 2010.
- 822 MARQUES, A.L.A.; SIMÕES, S.V.D.; GARINO JUNIOR, F. et al. Outbreak of
823 salmonellosis by serovar Dublin in calves in the State of Maranhão, Brazil.
824 **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.33, p.983–988, 2013.
- 825 MEE, J.F. Invited review: bovine abortion - incidence, risk factors and causes.
826 **Reproduction in Domestic Animals**, v.58, p.23-33, 2023.
- 827 MOLOSSI, F.A.; CECCO, B.S.D.; HENKER, L. C. et al. Epidemiological and
828 pathological aspects of salmonellosis in cattle in southern Brazil. **Ciência Rural**,
829 v.51, e20200459, 2021b.
- 830 MOLOSSI, F.A.; DE CECCO, B.S.; POHL, C.B. et al. Causes of death in beef
831 cattle in southern Brazil. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 33,
832 n. 4, p. 677-683, 2021a.
- 833 MOXLEY, RODNEY A.; SMITH, DAVID R. Attaching-effacing *Escherichia coli*
834 infections in cattle. **Veterinary Clinics: Food Animal Practice**, v. 26, n. 1, p. 29-
835 56, 2010.
- 836 MURILLO, D.F.B.; BERROCAL, A.; ALI, I.K.M. et al. Systemic *Acanthamoeba* T17
837 infection in a free-ranging two-toed sloth: case report and literature review of
838 infections by free-living amebas in mammals. **Journal of Veterinary Diagnostic**
839 **Investigation**: Official Publication of the American Association of Veterinary
840 Laboratory Diagnosticians, Inc, p. 10406387241292346, 2024.
- 841 NATIONAL ANIMAL HEALTH MONITORING SYSTEM (US). Dairy 2007: Heifer
842 Calf Health and Management Practices on US Dairy Operations, 2007. US

- 843 Department of Agriculture, Animal and Plant Health Inspection Service, Veterinary
844 Services, National Animal Health Monitoring System, 2010.
- 845 OLMOS G.A.; FRUSCALSO, V.; HÖTZEL, M.J Farm and Animal Factors
846 Associated with Morbidity, Mortality, and Growth of Pre-Weaned Heifer Dairy
847 Calves in Southern Brazil. **Animals**, v. 14, n. 22, p. 3327, 2024.
- 848 PANCIERA, R.J.; CONFER, A.W. Pathogenesis and pathology of bovine
849 pneumonia. **The Veterinary clinics of North America. Food animal practice**,
850 v.26, n.2, p.191-214, 2010.
- 851 PESCADOR, C.A. Doenças multifatoriais: diarreias em bezerros. In: Riet-Correa
852 F., Schild A.L., Lemos R.A.A., Borges J.R.J, Mendonça F.S. & Machado M.(Eds),
853 Doenças de Ruminantes e Equídeos. Vol.2. 4a ed. MedVet, São Paulo, SP,
854 p.513-519, 2023.
- 855 PUENTES, J.D.; RIET-CORREA, F. Epidemiological aspects of cattle tick fever in
856 Brazil. **Brazilian Journal of Veterinary Parasitology**, v.32, n.1, e014422, 2023.
- 857 PUPIN, R.C.; LEAL, P.V.; PAULA, J.P. et al. Cattle diseases in Mato Grosso do
858 Sul, Brazil: a 24-year survey (1995-2018). **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.39,
859 p.686-695, 2019.
- 860 PUPIN, R.C.; SOUZA, L.L, SILVA, T.X. et al. Vitamin A deficiency as a cause of
861 blindness in feedlot calves. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 43, p. e07249,
862 2023.
- 863 RIBAS, N.L; CARVALHO, R.I., SANTOS, A.C.D. et al. Doenças do sistema
864 nervoso de bovinos no Mato Grosso do Sul: 1082 casos. **Pesquisa Veterinária**
865 **Brasileira**, v. 33, p. 1183-1194, 2013.
- 866 RISSI, D.; LEMOS, R.A.A. Doenças víricas: Infecções por Hespesvírus Bovino.
867 In:Riet-Correa F., Schild A.L., Lemos R.A.A., Borges J.R.J, Mendonça F.S. &
868 Machado M. (Eds), Doenças de Ruminantes e Equídeos. Vol.2. 4a ed. MedVet,
869 São Paulo, SP,p.87-97,2023.

- 870 RISSI, D.R.; RECH, R.R., FLORES, E.F. et al. Meningoencefalite por herpesvírus
871 bovino-5. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 27, p. 251-260, 2007.
- 872 RONDELLI, L.A.S.; SILVA, G.S.; BEZERRA, K.S. et al. Doenças de bovinos em
873 Mato Grosso diagnosticadas no Laboratório de Patologia Veterinária da UFMT
874 (2005-2014). **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.37, n.5, p.432-440, 2017.
- 875 ROZZA, D.B.; CORRÊA, A.M.R., LEAL, J.S. et al. Intoxicação experimental por
876 monensina em búfalos e bovinos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 27, p. 172-
877 178, 2007.
- 878 SANTOS, B.L.; LADEIRA, S.R., RIET-CORREA, F. et al. Clostridial diseases
879 diagnosed in cattle from the South of Rio Grande do Sul, Brazil. A forty-year
880 survey (1978-2018) and a brief review of the literature. **Pesquisa Veterinária**
881 **Brasileira**, v. 39, n. 07, p. 435-446, 2019
- 882 SCHULZ, L.L.; HAYES, D.J.; HOLTKAMP, D. et al. Economic impact of university
883 veterinary diagnostic laboratories: A case study. **Preventive veterinary medicine**,
884 v.151, p.5-12, 2018.
- 885 SCHWERTZ, C.I. Doenças de bezerros no Sul do Brasil. 2022. Tese (Doutorado
886 em Ciências Veterinárias) – Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do
887 Rio Grande do Sul, Porto Alegre.
- 888 SILVA, A.W.O.; MENDONÇA, M.F.; FREITAS, M.D; et al. Intoxicação acidental
889 por monensina em búfalos na Bahia, Brasil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.
890 42, p. e06937, 2022.
- 891 SILVA, M.S.; BRUM, M.C.S., WEIBLEN, R. et al. Identificação e diferenciação de
892 herpesvírus bovino tipos 1 e 5 isolados de amostras clínicas no Centro-Sul do
893 Brasil, Argentina e Uruguai (1987-2006). **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 27,
894 p. 403-408, 2007.
- 895 SMITH, D.R. Field disease diagnostic investigation of neonatal calf diarrhea. **The**
896 **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v.28, n.3, p.465-
897 481, 2012.

- 898 SOUZA, L.L.; GUIZELINI, C.C.; ALMEIDA, B.A. et al. Manchas de Wischnewsky
899 em casos de hipotermia fatal em bovinos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 44,
900 p. e07408, 2024.
- 901 STOKKA, G.L. Prevention of respiratory disease in cow/calf operations. **The**
902 **Veterinary clinics of North America. Food animal practice**, v.26, n.2, p.229-
903 241, 2010.
- 904 TUTIJA, J.F.; RAMOS, C.A.; LEMOS, R.A. et al. Molecular and phenotypic
905 characterization of Escherichia coli from calves in an important meat-producing
906 region in Brazil. **The Journal of Infection in Developing Countries**, v.16, n.06,
907 p.1030-1036, 2022.
- 908 WATSON, E.N.; DAVID, G.P.; COOK, A.J.C. Review of diagnostic laboratory
909 submissions of adult cattle 'found dead' in England and Wales in 2004. **Veterinary**
910 **Record**, v.163, n.18, p.531-535, 2008.
- 911 WINDEYER, M.C.; LESLIE, K.E.; GODDEN, S.M. et al. Factors associated with
912 morbidity, mortality, and growth of dairy heifer calves up to 3 months of age.
913 **Preventive veterinary medicine**, v. 113, n. 2, p. 231-240, 2014.
- 914 ZHANG, H.; Wang, Y.; Chang, Y. et al. Mortality-culling rates of dairy calves and
915 replacement heifers and its risk factors in Holstein cattle. **Animals**, v. 9, n. 10, p.
916 730, 2019.
- 917
- 918
- 919
- 920
- 921
- 922

2. CAPÍTULO II

2.1. Encephalomyelitis and serositis caused by *Chlamydia pecorum* in buffalo calves from Brazil

Larissa L. de Souza, Saulo P. Pavarini, Marcele B. Bandinelli, Nicole Borel, Rayane C. Pupin, Carlos A.N. Ramos, Ricardo A.A. Lemos and Danilo C. Gomes

Artigo submetido à revista Veterinary Pathology, publicado em novembro de 2024 e escrito conforme as normas da mesma.

Federal University of Mato Grosso do Sul (LLS, RCP, CANR, RAAL, DCG)

Federal University of Rio Grande do Sul (SPP, MBB)

University of Zurich (NB)

Larissa L. de Souza, Pathological Anatomy Laboratory, Faculty of Veterinary Medicine and Animal Science, Federal University of Mato Grosso do Sul, 2443 Senador Filinto Müller Avenue, Campo Grande, MS 79070-900, Brazil. Email: larissa.lobeiro@ufms.br

Abstract

Chlamydia pecorum causes subclinical infections in cattle, but sporadic, bovine encephalomyelitis cases have been reported in calves and documented in two instances in European buffalo. An outbreak of *Chlamydia pecorum*-induced encephalomyelitis and serositis occurred in 3-month-old buffalo calves from Brazil. Initially presenting with pelvic limb incoordination, the calves progressed to lateral

recumbency, depression, and death. Necropsies of two calves revealed encephalomyelomalacia, fibrin deposition on the external surface of the pericardium (case 1) and pleural and pericardial fibrosis (case 2). Microscopically, a multifocal to coalescing, necrotizing, neutrophilic and lymphocytic meningoencephalomyelitis with fibrinoid vasculitis and thrombosis was present. Anti-*Chlamydia* antibody labeling was demonstrated by immunohistochemistry. Bacteriological examination yielded no pathogenic bacteria in the brain or lungs. *Chlamydia pecorum* was confirmed by PCR. This work describes the gross, histopathological, microbiological, and molecular findings in two cases from an outbreak of *Chlamydia pecorum*-induced disease in buffalo calves.

Keywords: buffaloes, central nervous system, *Chlamydia pecorum*, immunohistochemistry, vasculitis

The genus *Chlamydia* comprises a group of gram-negative, obligate intracellular bacteria that can infect a wide range of hosts, including domestic and wild animals.^{2,11} *Chlamydia* species exhibit varying degrees of virulence, leading to a spectrum of outcomes from asymptomatic infections to severe systemic diseases.² In cattle, *C. abortus* and *C. pecorum* are the most common chlamydial species.¹⁷ Infections caused by *C. pecorum* are typically subclinical, but occasionally manifest as arthritis,¹⁹ abortion,^{6,9} enteritis,¹⁴ pneumonia,²⁰ encephalomyelitis, or serositis.^{7,8,18} Bovine sporadic encephalomyelitis, associated with *C. pecorum* and documented since 1940, presents with encephalomyelitis, vasculitis, and thrombosis.^{7,8,12,18} Buffalo cases are rare, with only reports in Bulgaria¹³ and Italy.⁵ This present report aims to describe the gross, histopathological, microbiological,

968 and molecular findings in two cases from an outbreak of encephalomyelitis and
969 serositis caused by *Chlamydia pecorum* in Brazilian buffalo calves.

970 The outbreak occurred between March and April 2022 when four, 3-month-old
971 Murrah water buffalo calves (*Bubalus bubalis*) belonging to a dairy farm in the
972 municipality of Bandeirantes (19° 55' 04" S 54° 21' 50" W), Mato Grosso do Sul
973 state, displayed clinical signs of incoordination in their pelvic limbs, which
974 progressed to lateral recumbency, depression, and death. These animals were
975 part of a group of 40 calves housed in a 100 m² paddock. They were weaned at 3
976 months of age and received milk during the day, along with concentrate feed at
977 night. All the affected animals received treatment, including antibiotics from the
978 cephalosporin group, corticosteroids, vitamin B1, and Mercepton (Laboratório
979 Bravet LTDA); however, only one of the animals showed clinical improvement.
980 Two of these buffalo calves (cases 1 and 2) were referred to the Pathological
981 Anatomy Laboratory at the Federal University of Mato Grosso do Sul (LAP/UFMS).
982 Case 1 had been in recumbency for 3 days, with reduced pelvic limb reflexes and
983 8% dehydration. One day after the initial clinical intervention the animal died and
984 was subsequently subjected to necropsy. Ten days after the necropsy of case 1,
985 case 2 was admitted to the veterinary hospital with a history of pelvic limb
986 incoordination, progressing to lateral recumbency and depression within 4 days.
987 The clinical examination revealed the absence of a threat response and
988 swallowing reflex, right eyelid ptosis, and decreased tone in the tongue and tail.
989 The blood count showed a mild thrombocytosis (683,000/mm³; reference interval
990 [RI], 253,790 - 516,830/mm³). Biochemical tests revealed elevated serum levels of
991 aspartate aminotransferase (720.6 UI/L; RI, 104 – 191.6 UI/L), creatine kinase
992 (8,353 UI/L; RI, 88 – 292 UI/L), creatinine (3.2 mg/dL; RI, 0.4 – 0.9 mg/dL), and

urea (141 mg/dL; RI, 7 – 19 mg/dL).⁴ Cerebrospinal fluid analysis revealed marked neutrophilic pleocytosis and elevated globulins. Because of the poor prognosis, the animal was euthanized and necropsied.

On gross examination, both buffaloes had distended urinary bladders filled with urine. Case 1 had a moderate amount of fibrin deposited on the external surface of the pericardium, while case 2 had thickening of the pericardium with whitish material and white strands attached to the pleura (chronic pleuritis). In some areas, the interstitial septae of the lungs were expanded by fibrosis, and the pulmonary parenchyma had multifocal dark red areas of atelectasis (Fig. 1a). In both cases, the fresh brain had slight softening of the telencephalons and diffuse congestion of leptomeningeal blood vessels. Following fixation in formalin, sections of the spinal cord, telencephalon, and brainstem revealed multifocal dark red areas associated with loss of the parenchyma and the formation of variably sized cavities (Fig. 1b).

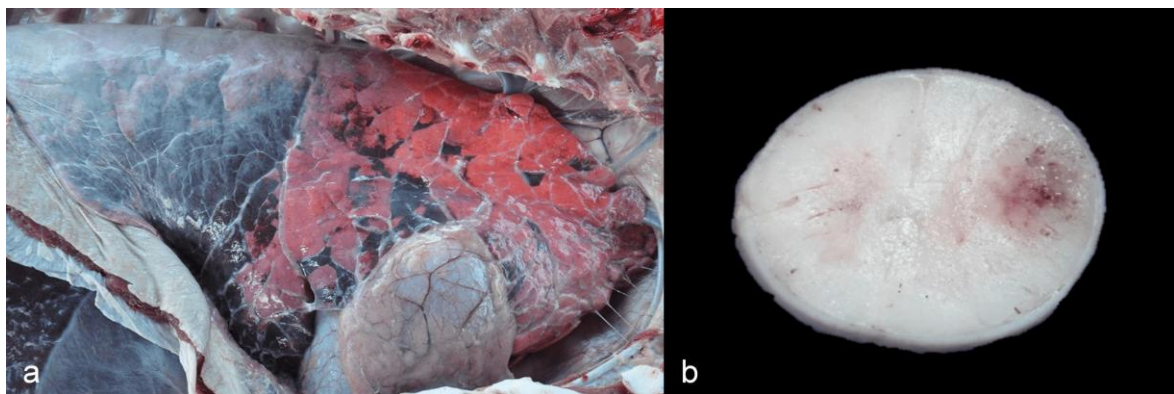


Figure 1. Gross lesions in buffalo calves associated with *Chlamydia pecorum* infection. (a) Right lateral view of the thoracic cavity. There is multifocal white material (fibrosis/fibrous granulation tissue) on the pleural and pericardial surfaces; a few fibrous/fibrinous strands adhere the visceral and parietal pleura (bottom right corner). Irregular, multifocal dark red areas are observed in the cranial lobes that

are diffuse in the caudal lobes (atelectasis). Case 2. (b) Cross-section of the cervical spinal cord after 24 hours of fixation in formalin. There is a focally extensive red area with small cavitations (malacia) that mostly affects the white matter. Case 1.

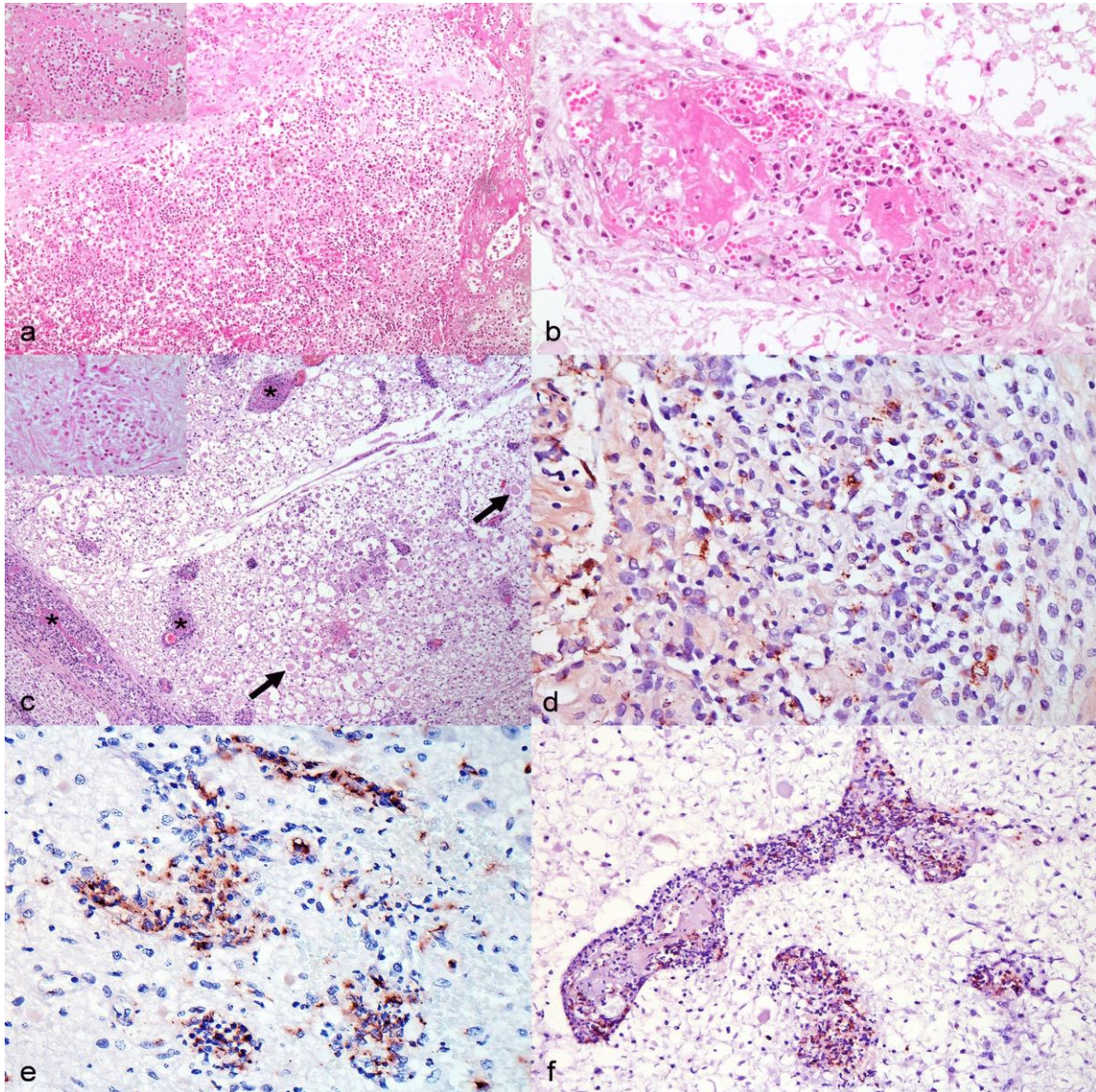
During necropsy, samples of various organs were collected in 10% formalin and processed according to standard procedures for histopathological evaluation. Formalin-fixed, paraffin-embedded sections of the spinal cord, brain, lungs, and heart of the two buffaloes were subjected to immunohistochemistry (IHC) for *Chlamydia* sp. (Supplemental Method S1).

Histologically, the pericardium and pleura of case 1 was thickened due to the presence of fibrin and a marked inflammatory infiltrate composed of macrophages, lymphocytes, plasma cells, and cellular debris (Fig. 2a). In case 2, there was thickening of the pleura due to fibrosis and activated mesothelial cells, as well as endothelial thickening in proliferated blood vessels. In the central nervous system, lesions were observed in all parts of the brain and spinal cord, with more pronounced lesions in the cerebral cortex and cervical spinal cord.

The walls of multiple blood vessels, particularly in the white matter and leptomeninges, were completely or partially replaced by eosinophilic fibrillar material (fibrinoid necrosis) along with an inflammatory infiltrate comprising degenerate neutrophils and, to a lesser extent, macrophages, lymphocytes, and occasional plasma cells (Fig. 2b). Adjacent to these vessels, areas of necrosis were identified, characterized by intense white matter vacuolation, axonal spheroids, hemorrhage, cellular debris, and frequent obliteration of the vascular

1037 lumen due to fibrin thrombi. These areas also contained an infiltrate of neutrophils
1038 and lymphocytes (Fig. 2c). Macroscopically and histologically, no lesions were
1039 observed in other organs, including the joints.

1040 In the immunohistochemical assessment of both buffaloes, sections of the
1041 pericardium and visceral pleura showed multifocal positive chlamydial
1042 immunolabeling within the cytoplasm of macrophages (Fig. 2d). Moreover, in
1043 sections of the brain and spinal cord, there was pronounced multifocal
1044 immunolabeling in the necrotic and inflamed neuroparenchyma (Fig. 2e),
1045 particularly within the affected vessels, present both within macrophages and
1046 endothelial cells or freely within the vessels (Fig. 2f).



1047

1048 **Figure 2.** Histological and immunohistochemical aspects of encephalomyelitis and
 1049 fibrinous pericarditis caused by *Chlamydia pecorum* in buffalo calves. (a)
 1050 Pericardium. There is thickening by fibrin (arrows) and a marked mononuclear
 1051 inflammatory infiltrate (inset). Case 1. Hematoxylin and eosin (HE). (b) Spinal
 1052 cord. The wall of the blood vessel is infiltrated by degenerate neutrophils and
 1053 discrete mononuclear cells and is associated with a central fibrin thrombus
 1054 obliterating the lumen and vessel wall. Case 2. HE. (c) Cervical spinal cord.
 1055 Multiple blood vessels are occluded by fibrin thrombi (*). There is extensive

1056 necrosis of the adjacent neuroparenchyma with vacuolization of the white matter
1057 and axonal swellings (spheroids, arrows). Case 2. HE. Inset: glial and
1058 inflammatory cell infiltration in the neuroparenchyma. Case 2. HE. (D)
1059 Pericardium, immunolabeling for *Chlamydia* spp, in the cytoplasm of
1060 macrophages. Case 1. Immunohistochemistry (IHC). (E) Brain, immunolabeling for
1061 *Chlamydia* spp. in the inflamed neuroparenchyma. Case 1. IHC. (F) Spinal cord,
1062 immunolabeling for *Chlamydia* spp. in endothelial cells and macrophages within
1063 the lumen of the blood vessels. Case 2. IHC.

1064 The brain, spinal cord (cervical, thoracic, lumbar, and sacral portions),
1065 cerebrospinal fluid, joint capsule, liver, and lung samples of case 2 were
1066 processed using standard culture media, including brain heart infusion,
1067 MacConkey, and mannitol, with the spinal cord cultured in enriched media
1068 (chocolate agar) under reduced O₂ atmosphere, 5% CO₂, and pH of 7.6. These
1069 samples were then incubated at 37°C for a maximum of 72 h. No bacterial growth
1070 was observed. Fresh samples from the central nervous system were collected for
1071 direct immunofluorescence and biological testing through intracerebral inoculation
1072 in mice to test for rabies. These samples were subsequently sent to the Official
1073 Diagnostic Laboratory (IAGRO, Mato Grosso do Sul, Brazil). Virological tests for
1074 rabies yielded negative results.

1075 Fresh tissues (brain, spinal cord, pericardium, pleura, lung and joint capsule) from
1076 case 2 underwent testing at the Molecular Biology Laboratory at UFMS using PCR
1077 for the *Chlamydiaceae* family, after DNA extraction using the DNeasy blood &
1078 tissue kit (Qiagen). The primers used were CHYF (5' -
1079 GCCTACCGGCTTACCAAC - 3'), and CHYR (5'- GGCGCAATGATTCTCGAT –
1080 3'), which amplify a 238 bp fragment of the 23S rRNA gene. Amplification was

1081 observed for all tissues analyzed, except for the joint capsule (Supplemental
1082 Figure S1). The PCR product underwent DNA sequencing (Supplemental Method
1083 S2). The DNA sequence obtained in this study has been deposited in GenBank
1084 under the accession number OQ734980.

1085 Formalin and embedded in paraffin blocks tissues (brain and spinal cord) from
1086 both cases were positive using a species-specific *C. pecorum* qPCR targeting a 76
1087 bp sequence within the *ompA* gene (Supplemental Method S3).¹⁶

1088 Encephalomyelitis and serositis in these buffaloes were diagnosed as *Chlamydia*
1089 *pecorum*-induced based on epidemiological data, clinical signs, gross and
1090 histologic findings, immunohistochemistry, molecular identification, and exclusion
1091 of other potential causes. Histological and immunohistochemical observations in
1092 affected buffaloes mirrored those seen in *C. pecorum*-infected bovine calves^{7,8}
1093 and aborted fetuses,¹⁸ including mononuclear vasculitis, neutrophil aggregates,
1094 thrombus formation, malacia, and endothelial and cytoplasmic immunolabeling in
1095 inflammatory cells of the brain, spinal cord, pleura, and pericardium. Similar
1096 lesions in the serosa of the abdominal organs are also described.^{7,8}

1097 The buffaloes' ages, clinical presentation, and morbidity rates mirrored those
1098 reported in prior cattle^{3,7} and buffaloes' cases.^{5,13} Calves were primarily affected,
1099 with few instances of disease in adults. Clinical signs included limb paralysis,
1100 prolonged recumbency, and depression, with morbidity rates around 10%.
1101 Hematological and serum biochemical findings were not detailed in previous
1102 reports, and were absent in case 1 due to the rapid disease progression. However,
1103 minor changes were observed in case 2, such as elevated creatine kinase and
1104 aspartate aminotransferase levels, likely due to muscle injuries from prolonged
1105 recumbency, along with other parameters indicating severe dehydration of this

1106 animal. All brain and spinal cord samples from the two buffaloes were positive in
1107 the species-specific *C. pecorum* qPCR.

1108 Only two prior instances of *Chlamydia* encephalomyelitis in buffaloes have been
1109 documented, occurring in Bulgaria in 1974¹³ and Italy in 1998.⁵ The first diagnosis
1110 relied solely on serological testing and antibody detection, while the second
1111 involved the isolation of *Chlamydia pecorum* from inoculating brain samples from
1112 affected calves into cell culture. Hence, this current report stands as the first to
1113 diagnose the disease via PCR directly from affected buffalo tissues and
1114 immunohistochemistry.

1115 Possible viral causes of neurological lesions in calves include rabies virus, ovine
1116 herpesvirus-2 (linked to malignant catarrhal fever), and bovine viral diarrhea virus.
1117 Rabies was ruled out based on negative virological tests. Molecular tests for other
1118 viruses were not performed, but distinct lesions associated with these diseases
1119 were absent. Histological lesions of malignant catarrhal fever in buffaloes
1120 resemble those in cattle, including disseminated lymphocytic arteritis-phlebitis and
1121 ulcerative lesions in mucosal surfaces from various tissues, with fibrinoid arteritis
1122 being uncommon in buffaloes.¹⁵ Concerning bovine viral diarrhea virus, the most
1123 commonly reported brain injury in calves with transplacental infection is cerebellar
1124 hypoplasia, while meningoencephalitis cases are rare.¹ Although bovine viral
1125 diarrhea virus can cause vasculitis/fibrinoid arteriolitis in some tissues, we have
1126 not found reports of vasculitis caused by this virus in the central nervous system.
1127 Conversely, the bacterium *Histophilus somni* induces lesions similar to *Chlamydia*,
1128 including vasculitis, thrombosis, suppurative inflammation, and central nervous
1129 system malacia, often causing confusion among pathologists.² However, it was
1130 ruled out through microbiological examination in this case.

1131 Most *C. pecorum* infections in ruminants are asymptomatic, with clinical diseases
1132 influenced by factors like host stress,² co-infections, and genotypic variability.⁸
1133 Dairy farms, like the outbreak site, share similarities with locations reporting *C.*
1134 *pecorum* encephalomyelitis in cattle.^{7,8,18} Dairy production systems pose risks for
1135 *Chlamydia* infections due to factors such as introducing animals from external
1136 sources, using breeding bulls, insufficient pen segregation, and poor
1137 environmental hygiene.¹⁰ Overcrowding in the affected herd and the lack of
1138 separate calving pens may have contributed to the disease outbreak.

1139 This study emphasizes *Chlamydia pecorum*-induced lesions as a differential
1140 diagnosis for multifocal necrosuppurative encephalitis with vasculitis, thrombosis,
1141 pleuritis, and pericarditis in buffaloes. Pathological, molecular, and
1142 immunohistochemical analyses confirm the *Chlamydia pecorum* DNA in affected
1143 tissues, providing insights into this pathogen in buffalo livestock.

1144 **Acknowledgments**

1145 The authors are grateful to Sandra Schneider, Institute of Veterinary Pathology,
1146 Vetsuisse Faculty, University of Zurich, for her support with the laboratory work.

1147 **Declaration of Conflicting Interests**

1148 The author(s) declared no potential conflicts of interest with respect to the
1149 research, authorship, and/or publication of this article.

1150 **Funding**

1151 The authors disclosed receipt of the following financial support for the research,
1152 authorship, and/or publication of this article: Financial support was supplied by
1153 Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS/MEC) and Coordenação de
1154 Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES, Brazil) — Finance Code

001. Two of the authors (Ricardo A.A. Lemos and Saulo P. Pavarini) had a fellowship from Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Brazil.

References

1. Blas-Machado U, Saliki JT, Duffy JC. Bovine viral diarrhea virus type 2-induced meningoencephalitis in a heifer. *Vet Pathol.* 2004;41(2):190–194.
2. Borel N, Polkinghorne A, Pospischil A. A Review on Chlamydial Diseases in Animals: Still a Challenge for Pathologists?. *Vet Pathol.* 2018;55(3):374-390.
3. Cantile C, Youssef S. Nervous system. In: Maxie GM, ed. *Jubb, Kennedy & Palmer's Pathology of Domestic Animals*. 6th ed. Elsevier Health Sciences; 2015
4. Fontes DG, Monteiro MVB, Jorge EM, et al. Perfil hematológico e bioquímico de búfalos (*Bubalus bubalis*) na Amazônia Oriental [Hematological and biochemical profile of buffaloes (*Bubalus bubalis*) in the Eastern Amazon]. *Pesq Vet.* 2014;34: 57–63.
5. Galiero G, Magnino S, Casalone C, et al. Encefalomielite da Clamidia in vitelli bufalini: descrizione di un focolaio [An outbreak of chlamydial encephalomyelitis in buffalo calves]. *Selezione Veterinaria.* 1998;4:229-236. 1998.
6. Giannitti F, Anderson M, Miller M, et al. *Chlamydia pecorum*: fetal and placental lesions in sporadic caprine abortion. *J Vet Diagn Invest.* 2016;28(2):184-9.
7. Hunt H, Orbell G, Buckle KN, et al. First report and histological features of *Chlamydia pecorum* encephalitis in calves in New Zealand. *N Z Vet J.* 2016 ;64(6):364-8.

- 1179 8. Jelocnik M, Forshaw D, Cotter J. Molecular and pathological insights into
1180 *Chlamydia pecorum*-associated sporadic bovine encephalomyelitis (SBE) in
1181 Western Australia. BMC Vet Res. 2014; 29;10:121.
- 1182 9. Jenkins C, Jelocnik M, Onizawa E, et al. *Chlamydia pecorum* Ovine
1183 Abortion: Associations between Maternal Infection and Perinatal Mortality.
1184 Pathogens. 2021;22;10(11):1367.
- 1185 10. Kemmerling K, Müller U, Mielenz M. *Chlamydochlamydia* species in dairy farms:
1186 polymerase chain reaction prevalence, disease association, and risk factors
1187 identified in a cross-sectional study in western Germany. J Dairy Sci.
1188 2009;92(9):4347-54.
- 1189 11. Marti H, Jelocnik M. Animal *Chlamydiae*: A Concern for Human and
1190 Veterinary Medicine. Pathogens. 2022;17;11(3):364.
- 1191 12. McNutt SH, Waller EF. Sporadic bovine encephalomyelitis (Buss disease).
1192 Cornell Veterinarian. 1940;30:437–448.
- 1193 13. Ognianov D, Panova M, Pavlov N. Sluchai na sporadichen enshefalomielit
1194 po malachetata [A case of sporadic encephalomyelitis in buffalo calves]. Vet Med
1195 Nauki. 1974;11(1):3-10.
- 1196 14. Ohtani A, Kubo M, Shimoda H, et al. Genetic and antigenic analysis of
1197 *Chlamydia pecorum* strains isolated from calves with diarrhea. J Vet Med Sci.
1198 2015;77(7):777-82.
- 1199 15. O'Toole D, Li H. The pathology of malignant catarrhal fever, with an
1200 emphasis on ovine herpesvirus 2. Vet Pathol. 2014;51(2):437–452.
- 1201 16. Pantchev A, Sting R, Bauerfeind R, et al. Detection of all *Chlamydochlamydia*
1202 and *Chlamydia* spp. of veterinary interest using species-specific real-time PCR
1203 assays. Comp Immunol Microbiol Infect Dis. 2010;33: 473–484.

- 1204 17. Reinhold P, Sachse K, Kaltenboeck B. Chlamydiaceae in cattle:
1205 commensals, trigger organisms, or pathogens?. Vet J. 2011;189(3):257-67.
- 1206 18. Struthers JD, Lim A, Ferguson S, et al. Meningoencephalitis, Vasculitis, and
1207 Abortions Caused by *Chlamydia pecorum* in a Herd of Cattle. Vet Pathol.
1208 2021;58(3):549-557.
- 1209 19. Walker E, Moore C, Shearer P, et al. Clinical, diagnostic and pathologic
1210 features of presumptive cases of *Chlamydia pecorum*-associated arthritis in
1211 Australian sheep flocks. BMC Vet Res. 2016;12(1):193.
- 1212 Wheelhouse N, Longbottom D, Willoughby K. *Chlamydia* in cases of cattle
1213 pneumonia in Scotland. Vet Rec. 2013;172(4):110.

1214

1215

1216

1217

1218

1219

1220

1221

1222

2.2. Wischnewsky spots in cases of fatal hypothermia in cattle¹

Larissa L. Souza², Carolina C. Guizelini², Bruno A. Almeida⁴, Thaísa X. Silva², Acauane S. Lima³, Vitor F. Carvalho³, David Driemeier⁴ and Ricardo Antônio A. Lemos²

Artigo submetido à revista Patologia Veterinária Brasileira, publicado em novembro de 2023 e escrito conforme as normas da mesma.

¹ Received on October 17, 2023. Accepted for publication on November 12, 2023. ² Laboratório de Anatomia Patológica (LAP), Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FAMEZ), Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS), Av. Sen. Filinto Müller 2443, Campo Grande, MS 79070-900, Brazil. *Corresponding author: larissa.lopeiro@ufms.br

ABSTRACT. - Souza L.L., Guizelini C.C., Almeida B.A., Silva T.X., Lima A.S., Carvalho V.F., Driemeier D. & Lemos R.A.A. 2024. **Wischnewsky spots in cases of fatal hypothermia in cattle.** Pesquisa Veterinária Brasileira 44:e07408, 2024. Laboratório de Anatomia Patológica, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Av. Sen. Filinto Müller 2443, Campo Grande, MS 79070-900, Brazil. E-mail: larissa.lopeiro@ufms.br Wischnewsky spots (WS) are hemorrhagic, non-erosive, and non-ulcerative lesions that affect the gastric mucosa. They are considered common in the stomachs of humans who have died from hypothermia and are rarely described in other animal species. This study describes the occurrence of WS in cattle that had died of hypothermia in two cities in the state of Mato Grosso do Sul. Two properties were visited, and three cattle were necropsied by the team from the Pathological Anatomy Laboratory of the Federal University of Mato Grosso do Sul (LAP-UFMS). The epidemiological conditions and clinical signs of the cattle examined on both properties were similar. The deaths occurred on days when there was a sudden drop in environmental temperature, with continuous rain for more than 24 hours. During the visits, the most affected live cattle were found in sternal decubitus, with their heads resting on their flanks, or laterally in a comatose state, with nystagmus and a rectal temperature below 32°C. Macroscopically, there were multifocal to coalescent red and black areas on the mucosal surface of the abomasums of the three cattle necropsied, mainly at the apex of the folds, oval or punctate in shape, measuring 0.1 to 1.0cm in diameter. Microscopically, these dark areas corresponded to areas of rarefaction of the mucosal epithelial cells associated with hemorrhage and the frequent deposition of golden-brown pigment (hematin) in the extracellular medium. The diagnosis of hypothermia in cattle was based on epidemiology, clinical-pathological examination, and the exclusion of differential diagnoses. The lesions found in the abomasum of cattle that had died from hypothermia were compatible with WS, highlighting the importance of recognizing them in cases of cattle deaths in which this condition is suspected. INDEX TERMS: Wischnewsky spots, abomasum, cold, bovine diseases, hypothermia, cattle.

RESUMO.- [Manchas de Wischnewsky em casos de hipotermia fatal em bovinos.] As manchas de Wischnewsky (WS) são lesões hemorrágicas, não erosivas e não ulcerativas que acometem a mucosa gástrica. Eles são considerados comuns no estômago de humanos que morreram de hipotermia e raramente são descritos em outras espécies animais. Este estudo descreve a ocorrência de WS em bovinos que morreram por hipotermia em duas cidades do estado de Mato Grosso do Sul. Duas propriedades foram visitadas e três bovinos foram necropsiados pela equipe do Laboratório de Anatomia Patológica da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (LAP-UFMS). As condições epidemiológicas e os sinais clínicos dos bovinos examinados nas duas propriedades foram semelhantes. As mortes ocorreram em dias em que houve queda brusca da temperatura ambiente, com chuva contínua por mais de 24 horas. Os bovinos vivos mais acometidos no momento das visitas foram encontrados em decúbito esternal, com a cabeça apoiada nos flancos, ou lateralmente em estado de coma, com nistagmo e temperatura retal abaixo de 32°C. Macroscopicamente, havia áreas vermelhas e pretas multifocais a coalescentes na superfície mucosa dos abomasos dos três bovinos necropsiados, principalmente no ápice das pregas, de formato oval ou pontiforme, medindo de 0,1 a 1,0cm de diâmetro. Microscopicamente, essas áreas escuras correspondiam a áreas de rarefação das células

epiteliais da mucosa associadas à hemorragia e à frequente deposição de pigmento marrom-dourado (hematina) no meio extracelular. O diagnóstico de hipotermia em bovinos foi baseado na epidemiologia, no exame clínico-patológico e na exclusão de diagnósticos diferenciais. As lesões encontradas no abomaso de bovinos que morreram por hipotermia foram compatíveis com WS, destacando a importância de reconhecer-las em casos de mortes de bovinos em que haja suspeita desta condição.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Manchas de Wischnewsky, abomaso, frio, doenças de bovinos, hipotermia, bovinos.

INTRODUCTION

Hypothermia is the reduction of body temperature below the normal physiological temperature, which occurs when heat loss is faster than its production by the body, causing functional injuries and animal deaths (Merck et al. 2013). In cattle, intense heat loss occurs when a sudden drop in environmental temperature is associated with wind and rain. Cattle are usually found dead the day after the sudden drop in temperature or are found alive in a sternal decubitus position, with their heads resting on their flanks, or laterally in a comatose state, with nystagmus and a rectal temperature below 37°C (Santos et al. 2012, Lemos & Riet-Correa 2022). Deaths from hypothermia occur in cattle of different ages. However, they are more frequent in newborns when there is an association between low environmental temperature, low birth weight, and the calf's starvation, as reduced energy reserves result in heat production (Riet-Correa 2022). A post-mortem finding observed in cases of cold stress is the occurrence of so-called "Wischnewsky spots" (WS), often described in autopsies of humans with hypothermia and characterized by red to dark brown spots on the stomach mucosa, which correspond to a superficial, non-erosive, and non-ulcerative hemorrhagic lesion of the mucosa (Tsokos et al. 2006, Bright et al. 2013a, Palmiere et al. 2014, Sacco et al. 2022). In other animal species, this finding is rarely described. However, it has already been documented in two dogs found dead in an extremely cold environment (Stern & Vieson 2017), in suspected cases of hypothermia in a free-living monkey and a domestic rabbit (Almeida et al. 2021), and in manatees that presented cold stress (Martony et al. 2019). In forensic pathology, although the absence of WS does not exclude cases of fatal hypothermia, the presence of this finding is indicative. It helps in the investigation of the mortality of people and other animals exposed to low environmental temperature, especially where information such as body temperature and the exact circumstance of death is not available (Bright et al. 2013a, Palmiere et al. 2014).

Given the lack of reports of this finding in cattle with hypothermia and the limitation of important clinical and epidemiological information in potential cases of death from this condition, this study describes the anatomopathological findings of three cases of hypothermia in cattle monitored in the state of Mato Grosso do Sul, with emphasis on the characterization of WS in the necropsied animals.

MATERIALS AND METHODS

Animal Ethics. This study was not submitted to the Ethics Committee on the Use of Animals (CEUA) of the "Universidade Federal de Mato Grosso do Sul" (UFMS), because the cases studied were sick or dead cattle from laboratory routine and the legislation only provides for the use of live animals for experimentation. On June 15th and 16th of 2023, a team from the "Laboratório de Anatomia Patológica" of the "Universidade Federal de Mato Grosso do Sul" (LAP-UFMS) visited two properties to attend to cases of bovine mortality, on the first day in Campo Grande (Property 1) and the other day in Nova Andradina (Property 2), both cities in the state of Mato Grosso do Sul. Epidemiological data from the properties visited were obtained through interviews with the owners and epidemiological and clinical investigations by the LAP-UFMS team. The following parameters were assessed to characterize the epidemiology of the places where the cases had occurred: body condition score of the cattle necropsied, presence of natural or artificial shelters, breed and age of the cattle affected, distributions of deaths in the different pastures on the property, and location of the cadavers within the same pasture. The body condition score (ECC) was classified on a scale of 1 to 9, where the extremes correspond to very thin and very fat animals, respectively (Nicholson & Butterworth 1986).

Climate data, such as the minimum and maximum temperatures in the cities of the properties visited on the day and on days close to when the deaths had occurred, were obtained by consulting the AccuWeather website recorded, and the necropsies were carried out by the LAP team. On Property 1, a 12-year-old cow found dead was necropsied. At the same time, clinical examination and body temperature measurement using a digital thermometer (G-tech®) were carried out on four other

cattle that had resisted the sudden drop in temperature and were found alive. On Property 2, two cattle were necropsied: an adult crossbreed cow and a 7-month-old Nelore calf. The cow was found dead during the visit, the calf and two other animals found alive in lateral decubitus were clinically assessed, and their rectal temperature was measured with the same thermometer used on Property 1. The calf and another adult bovine were submitted to blood sampling for a complete blood count and biochemical tests for the enzymes aspartate aminotransferase (AST), urea, and creatinine, as well as feces collection directly from the rectal ampulla for the egg count per gram of feces (OPG) test. Due to the calf's poor prognosis, it was euthanized and necropsied. Euthanasia was carried out in accordance with guidelines from the "Conselho Federal de Medicina Veterinária (CFMV)" from Brazil. During necropsy, samples of all organs were collected, fixed in 10% formalin, processed routinely, and stained with hematoxylin and eosin (HE).

RESULTS

The epidemiological conditions and clinical signs of the cattle examined on the two properties visited were similar. On both properties, there was a sudden in environmental temperature in the week in which the animals were necropsied (Table 1) and constant rainfall for more than 24 hours in the periods leading up to the death of the cattle. On both properties, the animals found dead, including the necropsied animals, were in groups, close to fences, or alone among small bushes and tree trunks in different paddocks, which had neither natural nor artificial shelters, making the area where the cattle stayed an open field. Deaths were rapid, varying between one and two days, and concentrated in the two days when the adverse environmental conditions were present. The most affected live cattle were found in lateral decubitus, unable to maintain themselves in sternal recumbency or stand up, even with assistance. They also had imperceptible and abdominal breathing, did not react to environmental stimuli, but sometimes tried to move their thoracic limbs, imitating the pedaling movement.

Table 1. Minimum and maximum temperatures in the week in which deaths from hypothermia had occurred in cattle in the cities of the properties visited in Mato Grosso do Sul, on June of 2023.

Property	Dates	Minimum temperature (°C)	Maximum temperature (°C)
1 (Campo Grande)	10 e 11/06/2023	18	31
	14 e 15/06/2023	6	14
2 (Nova Andradina)	10 e 11/06/2023	16	31
	15 e 16/06/2023	7	18

Fonte: AccuWeather

Property 1 used an extensive breeding system. In one paddock, located in the highest region of the farm, out of a total of 151 Nelore cows and 138 calves at food, 100 had died (95% of the dead animals were cows) between June 14th and 15th, with a higher concentration of deaths on June 14. During the visit, three adult cows and a calf were alive and showed similar clinical signs: head shaking and frequent mooing. The rectal temperature of these animals was below 32°C, below the minimum temperature detected by the digital thermometer. A 12-year-old cow found dead was necropsied. Property 2 also used a breeding system with calves, heifers, cows, and bulls in a semi-extensive production system, sequestering animals in troughs and providing feed during dry periods. There were 1,556 cattle on the property, divided into eight lots of 100 to 150 animals. Up until the day of the visit, 72 deaths had been recorded, including cattle of all categories and from different paddocks, except for bulls. The euthanized calf and an adult Nelore cow showed the same clinical signs; they were found in lateral decubitus and showed depression, absence of corneal reflex, nystagmus, shallow and abdominal breathing, and did not react to environmental stimuli but sometimes tried to move their thoracic limbs, imitating the pedaling movement. The calf's rectal temperature was below the minimum mark on the digital thermometer (32°C), whereas the adult's rectal temperature was 32.4°C. In the biochemical

profile tests, there was an elevation in the serum level of aspartate aminotransferase (AST) in the cow and calf of 391.7 and 421.6 U/L, respectively (reference interval, 54-135U/L - Cornell University 2017). No alterations were observed in the blood count of either animal. The OPG tests showed low counts of strongylid eggs in the calf (175 eggs) and in the cow (0 eggs).

Macroscopically, the three cattle necropsied were in fair body condition, with fat reserves that made it impossible to see the bony prominences, and the ECC was classified as 6 (fair to good). In the abomasum, throughout the mucosal surface, especially at the apex of the folds, there were multifocal to coalescent, punctate to oval areas, which varied from red to black and measured between 0.1 to 1.0 cm in diameter (Figs. 1 and 2). The other organs showed no macroscopic alterations.



Fig.1. Wischnewsky spots in hypothermia in cattle. Multiple black dots and spots, sometimes random red ones, on the mucosal surface of the abomasum.



Fig.2. Wischnewsky spots in hypothermia in cattle. Black, flat, coalescing foci on the mucosal surface of the abomasum, mainly at the apex of the folds./

Histologically, the blackened focal areas observed macroscopically in the abomasum corresponded to regions of rarefaction of the mucosal epithelial cells associated with hemorrhage and the frequent deposition of a golden-brown pigment, compatible with hematin, abundant in the extracellular medium (Figs. 3 and 4). Sometimes, the parietal cells located in the middle of and adjacent to the pigment were pycnotic and karyolytic. In addition, a moderate lymphocytic infiltrate was observed in the lamina propria of two of the cattle evaluated.

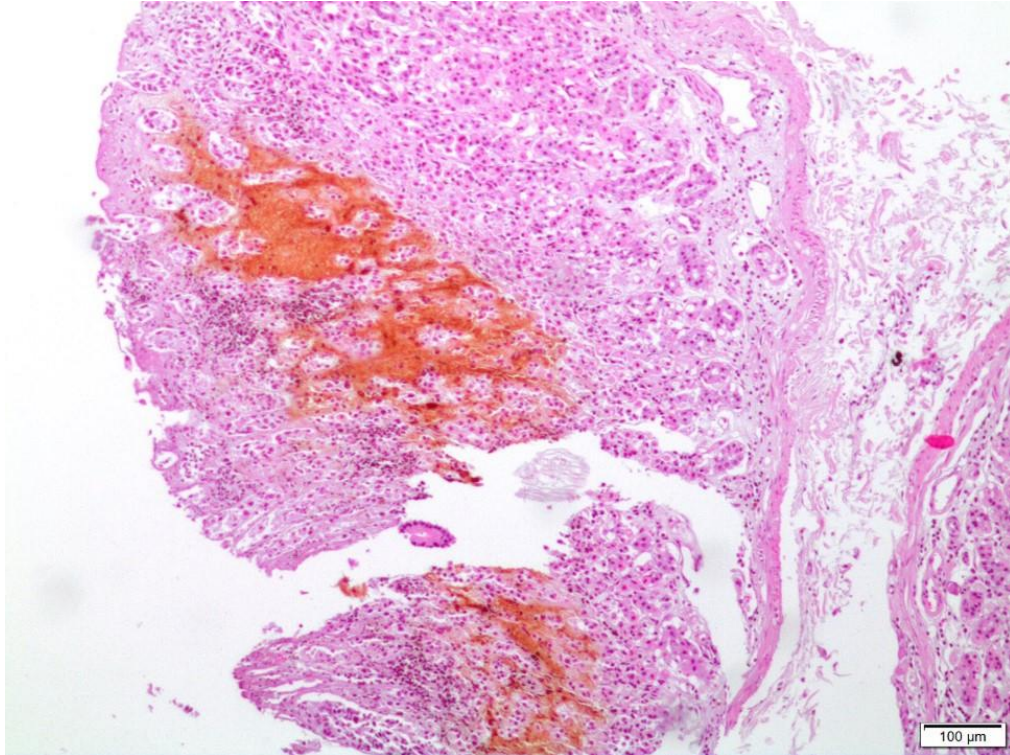


Fig.3. Wischnewsky spots in hypothermia in cattle. Abomasum. Two areas have marked deposition of golden-brown pigment (hematin) in the middle of the mucosal epithelial cells. HE, obj.10x.

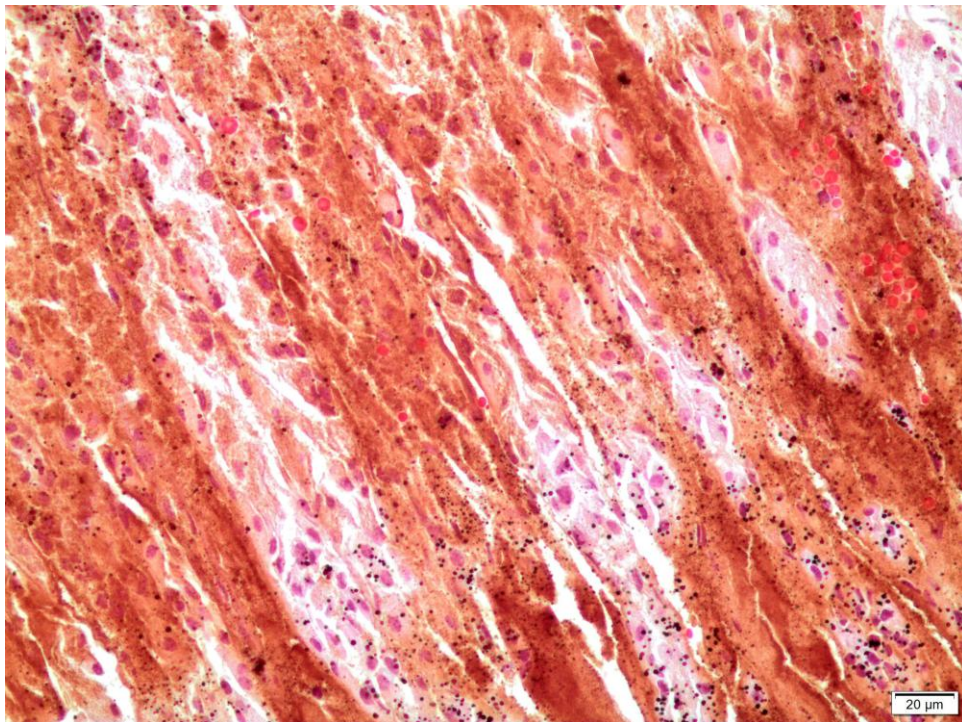


Fig.4. Wischnewsky spots in hypothermia in cattle. Abomasum. Marked deposition of hematin accompanied by areas of hemorrhage. The parietal cells are preserved. HE, obj.40x.

DISCUSSION

The diagnosis of hypothermia in cattle was based on epidemiological, clinical, and anatomopathological findings and the exclusion of differential diagnoses. Measuring the body temperature of the live cattle on the two properties, which was below 32°C, led to the conclusion that

the clinical picture was hypothermia since this temperature is considerably below the body temperature considered normal for the species, which is 38.5°C (Constable et al. 2017).

According to world map productions using the Köppen-Geiger climate system, the predominant climate in the state of Mato Grosso do Sul is Aw – a megathermic climate with a dry winter and summer rainfall, in which the average temperature of the coldest month is above 18°C and rainfall is less than 60mm in the least rainy month (Peel et al. 2007, Beck et al. 2018). Outbreaks of bovine mortality due to hypothermia in the state were mostly associated with a sudden drop in temperature, associated with rain and wind, a poor nutritional status of the animals, and the absence of natural shelters on the properties (Santos et al. 2012). The nutritional status of the cattle necropsied, as well as that of other affected animals on the properties, was fair to good, unlike that observed in previous outbreaks. The absence of natural shelters in the paddocks where the deaths had occurred was a similar epidemiological characteristic in all cases and is increasingly common in the state due to changes in the production system, with Mato Grosso do Sul being the state with the largest area of adoption of crop-livestock-forest integration (CLFI) systems in Brazil (Skorupa & Manzatto 2019).

In cattle, urea intoxication and botulism are the main differential diagnoses of hypothermia since these diseases have similar clinical signs, no significant *post-mortem* lesions, and the death of several animals in a short period of time. In the case of urea intoxication, although it is related to rain on properties with uncovered troughs, the animals are usually found dead near the troughs (Gimelli et al. 2023), a situation that was not observed in the present cases.

The microscopic finding of hypereosinophilic neurons (red neurons) in the gray matter of the brain has already been described in cases of hypothermia in cattle (Colodel et al. 2006, Santos et al. 2012, Lemos & Riet-Correa 2023). However, validating this finding as evidence of neuronal degeneration or death can be erroneous and has a poor diagnostic character since it may be an artifact produced by handling the organ or by trauma to the brain tissue (Jortner 2006).

The red and black foci identified in the abomasum of affected cattle are macro- and microscopically similar to the WS associated with fatal hypothermia in humans. This *post-mortem* finding is characterized by hemorrhagic, random, and multidimensional lesions of the gastric folds (Tsokos et al. 2006, Palmiere et al. 2014). An experimental study using rats showed that cold stimulates increased gastrin release and acidification of the gastric mucosa, causing small hemorrhages (Yang et al. 2020). Microscopically, these hemorrhagic lesions can be hematinized after the interaction of hemoglobin released in the autolysis of red blood cells and gastric secretion; they are therefore classified as peri-agonal circumscribed hemorrhages related to hypothermia (Tsokos et al. 2006). The presence of hemorrhages in the mucosa of the cases presented suggests that the golden-brown pigment is also hematin.

Notably, WS must be differentiated from abomasal ulcers and erosions, which occur in cattle and are incidental findings seen in animals of various ages that died from various causes. Ulcers and erosions are macroscopically characterized by linear to punctate, brown to black depressions on the mucosal surface (Uzal et al. 2016). Although they are usually multiple and occur randomly throughout the organ, they are characterized by tissue loss associated with inflammation, which is not the case in WS observed in cases of hypothermia (Tsokos et al. 2006).

The formation of WS reported in humans is complex as they are associated with various factors, such as a decrease in body temperature, physical and psychological stress, and other comorbidities (Bright et al. 2014, Sacco et al. 2022). In animals, stress factors have also been identified as being associated with cases of hypothermia, such as neoplasia and starvation in dogs (Stern & Vison 2017), multiple fractures in rabbit, and severe intestinal parasitism in monkeys (Almeida et al. 2021). In the cattle evaluated, none of these physical stress factors could be identified; however, as demonstrated in experiments with rats, psychological stress or the feeling of imminent death can be a significant effect modifier in the development of WS in cases of lethal hypothermia (Bright et al. 2013b).

CONCLUSION

The lesions found in the abomasum of cattle that had died from hypothermia are compatible with Wischnewsky spots (WS), which have been frequently identified in humans and described in other animal species exposed to cold. The presence of WS associated with clinical and epidemiological findings may be suggestive of hypothermia in the absence of other diseases, highlighting the importance of recognizing them in cases of bovine deaths in which hypothermia is suspected.

Acknowledgments. – The authors R.A.A. Lemos and D. Driemeier. received a research fellowship from the “Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico” (CNPq). This work was carried

out with the support of the “Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoa de Nível Superior” (CAPES), Brazil – Financing Code 001 and by the “Universidade Federal de Mato Grosso do Sul” (UFMS). The authors thanks Rayane C. Pupin, from the “Laboratório de Anatomia Patológica da UFMS (LAP-UFMS)”, for help with histopathological evaluation, and provision of microscopic figures.

Conflict of interest statement. - The authors declare that there are no conflicts of interest.

REFERENCES

- Almeida B.A., Santos I.R., Henker L.C., Lorenzetti M.P., Ferrari F.E., Surita L.E., Panziera W., Pavarini S.P. & Driemeier D. 2021. Wischniewski Spots and Black Oesophagus in Suspected Fatal Hypothermia in a Brown Howler Monkey (*Alouatta guariba clamitans*) and a Rabbit (*Oryctolagus cuniculus*). J. Comp. Pathol. 186:18–22. <<https://dx.doi.org/10.1016/j.jcpa.2021.05.001>>
- Beck H.E., Zimmermann N.E., McVicar T.R., Vergopalan N., Berg A. & Wood E.F. 2018. Present and future Köppen-Geiger climate classification maps at 1-km resolution. Sci Data. 30 5:180214. <<https://dx.doi.org/10.1038/sdata.2018.214>>
- Bright F. M., Winsko C., Tsokos M., Walker M., & Byard R. W. 2014. Issues in the diagnosis of hypothermia: a comparison of two geographically separate populations. J. Forensic. Leg. Med. 22:30–32. <<https://dx.doi.org/10.1016/j.jflm.2013.10.020>>
- Bright F., Winskog, C. & Byard R.W. 2013a. Wischniewski spots and hypothermia: sensitive, specific, or serendipitous?. Forensic Sci Med Pathol. 9: 88–90. <<https://dx.doi.org/10.1007/s12024-012-9342-1>>
- Bright F., Winskog C., Walker M. & Byard R.W. 2013b. Why are Wischniewski spots not always present in lethal hypothermia? The results of testing a stress-reduced animal model. J. Forensic. Leg. Med. 20(6): 785–787. <<https://dx.doi.org/10.1016/j.jflm.2013.05.003>>
- Colodel E. M., Angreves G.M., Alberton E.L., Wutker R.M.M., Santos C.E.P. & Nakazato L. 2006. Inversão térmica como causa de mortalidade de bovinos no Estado de Mato Grosso. Anais 33o Conbravet, Cuiaba, MT, CD ROM. (Resumo)
- Constable P.D., Hinchcliff K.W., Done S.H. & Grünberg W. 2017. Veterinary Medicine. 11th ed. Saunders Elsevier, St. Louis, Missouri, p.1488, 1662–1706
- Gimelli A., Pupin R.C., Guizelini C.C., Gomes D.C., Franco G.L., Vedovatto M., Gaspar A.O. & Lemos R.A.A. 2023. Urea poisoning in cattle: A brief review and diagnostic approach. Pesq. Vet. Bras. 43: <<https://dx.doi.org/10.1590/1678-5150-PVB-7228>> aceito para publicação.
- Jortner, B.S. 2006. The return of the dark neuron. A histological artifact complicating contemporary neurotoxicologic evaluation. Neurotoxicol. 27(4):628–634.
- Lemos R.A.A. & Riet-correa F. 2023. Outras doenças: hipotermia, p.744–747. In: Riet-Correa F., Schild A.L., Lemos R.A.A., Borges J.R.J., Mendonça F.S. & Machado M. (Eds), Doenças de Ruminantes e Equídeos. Vol.2. 4a ed. MedVet, São Paulo, SP.
- Martony M., Hernandez J.A., de Wit M., Leger J.S., Erlacher-Reid C., Vandenberg J. & Stacy, N. I. 2019. Clinicopathological prognostic indicators of survival and pathological findings in cold-stressed Florida manatees *Trichechus manatus latirostris*. Dis Aquat Organ. 132(2):85–97. <<https://dx.doi.org/10.3354/dao03306>>
- Merck M., Miller D & Reisman R. 2013. Death due to hypothermia, pp 226–228. In: Merck M (ed), Veterinary forensics: animal cruelty investigations. 2ª ed. Wiley-Blackwell, Ames.
- Nicholson M.J. & Butterworth M.H. 1986. A Guide to Condition Scoring of Zebu Cattle. International Livestock Centre for Africa, Addis Ababa. 29p.
- Palmiere C., Teresiński, G. & Hejna, P. 2014. Postmortem diagnosis of hypothermia. Int J Legal Med. 128:607–614. <<https://doi.org/10.1007/s00414-014-0977-1>>
- Peel M.C., Finlayson B.L. & McMahon T.A. 2007. Updated world map of the Koppen-Geiger climate classification. Hydrol. Earth Syst. Sci. 11:1633–1644. <<https://dx.doi.org/10.5194/hess-11-1633-2007>>

- 1521 Riet-correa F. 2023. Doenças da Reprodução: Mortalidade Perinatal em Ruminantes, p.578-586. In:
1522 Riet-Correa F., Schild A.L., Lemos R.A.A., Borges J.R.J, Mendonça F.S. & Machado M.(Eds), Doenças de
1523 Ruminantes e Equídeos. Vol.2. 4a ed. MedVet, São Paulo, SP.
- 1524 Sacco M.A., Abenavoli L., Juan C., Ricci, P. & Aquila I. 2022. Biological mechanisms behind wischnewsky
1525 spots finding on gastric mucosa: Autopsy cases and literature review. Int. J. Environ. Res. Public.
1526 Health. 19(6): 3601. <<https://dx.doi.org/10.3390/ijerph19063601>>
- 1527 Santos B.S., Pinto A.P., Aniz A., de Almeida A.P., Franco GL., Guimarães E.B. & Lemos R.A. 2012.
1528 Mortalidade de bovinos zebuínos por hipotermia em Mato Grosso do Sul. Pesq. Vet. Bras. 32:204-210.
1529 <<https://doi.org/10.1590/S0100-736X2012000300004> >
- 1530 Skorupa, L. A., & Manzatto, C. V. 2019. Avaliação da adoção de sistemas de integração lavoura-pecuária-
1531 floresta (ILPF) no Brasil. In: Ibid. (Eds). Sistemas de integração lavoura-pecuária-floresta no Brasil:
1532 estratégias regionais de transferência de tecnologia, avaliação da adoção e de impactos. Brasília: DF,
1533 Embrapa.
- 1534 Stern A.W. & Vieson M.D. Wischnewsky-like spots in fatal cases of canine hypothermia. Int. J. Legal.
1535 Med. 131:1639-1641, 2017. <<https://doi.org/10.1007/s00414-017-1640-4>>
- 1536 Tsokos M., Rothschild M.A., Madea B., Rie M. & Sperhake J.P. 2006. Histological and
1537 immunohistochemical study of Wischnewsky spots in fatal hypothermia. Am. J. Forensic. Med. Pathol.
1538 27(1):70-74.
- 1539 Uzal F.A., Plattner B.L. & Hostetter J.M. 2016. Alimentary system, p.1-257. In: Maxie M.G. (Ed.), Jubb,
1540 Kennedy and Palmer's Pathology of Domestic Animals. Vol.2. 6th ed. Elsevier, St Louis, Missouri
- 1541 Yang C., Sugimoto K., Murata Y., Hirata Y., Kamakura Y., Koyama, Y. & Matsumoto H. 2020. Molecular
1542 mechanisms of Wischnewski spot development on gastric mucosa in fatal hypothermia: an
1543 experimental study in rats. Sci. Rep.10(1):1877.
- 1544
- 1545
- 1546
- 1547
- 1548
- 1549
- 1550
- 1551
- 1552
- 1553
- 1554
- 1555
- 1556
- 1557
- 1558
- 1559
- 1560
- 1561

3. CAPÍTULO III

3.1. Considerações finais

Este estudo revelou a relevância das doenças infecciosas e parasitárias como principais causas de mortalidade em bezerros bovinos e bubalinos no Centro-Oeste do Brasil, destacando a importância de estratégias de manejo e vigilância sanitária eficazes. Os resultados evidenciam a necessidade de adoção de medidas preventivas, como vacinação, controle sanitário e melhorias no manejo nutricional e ambiental, para reduzir a mortalidade e melhorar a eficiência produtiva. Adicionalmente, a identificação de surtos específicos, como a clamidiose em búfalos e a presença de "manchas de Wischnewsky" associadas à hipotermia, amplia o conhecimento sobre condições patológicas regionais, contribuindo para o desenvolvimento de métodos diagnósticos mais eficazes. A integração de informações epidemiológicas e patológicas fornece subsídios para a formulação de medidas sanitárias voltadas à sustentabilidade da pecuária e à saúde animal.

3.2. Impacto econômico, social, tecnológico e/ou inovação

A mortalidade de bezerros representa perdas financeiras significativas, seja pela diminuição do potencial produtivo dos rebanhos, seja pelos custos associados ao tratamento de doenças e à reposição de animais. Investimentos em manejo preventivo e em melhorias no diagnóstico podem reduzir essas perdas e aumentar a rentabilidade dos sistemas de produção.

O impacto da mortalidade de bezerros também se estende à segurança alimentar, considerando que a pecuária é uma das principais fontes de proteína para a população brasileira e mundial. A redução das taxas de mortalidade contribui para a oferta de alimentos de qualidade, além de fomentar o desenvolvimento de comunidades rurais, criando emprego e renda.

Este trabalho destaca a necessidade de aprimoramento de tecnologias de diagnóstico, incluindo exames laboratoriais mais precisos e acessíveis, para identificar com rapidez e eficiência os agentes etiológicos de doenças. O desenvolvimento de ferramentas como testes rápidos, uso da telepatologia, e a criação de sistemas de monitoramento digital pode revolucionar a detecção precoce de surtos e o manejo preventivo das doenças.

1594 A identificação de padrões epidemiológicos e a publicação de dados
1595 inéditos, como o surto de clamidiose em búfalos, abrem novas possibilidades de
1596 pesquisa e desenvolvimento de vacinas e terapias específicas para as doenças,
1597 promovendo avanços na saúde animal e na proteção dos rebanhos.
1598
1599