



**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

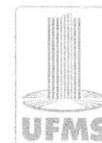
Orientador: Danilo Carloto Gomes

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.

33

Abstract

34 Mato Grosso do Sul plays a key role in beef cattle production. Calf mortality is a challenge,
35 impacting profitability levels due to increased production costs. Most studies indicate digestive and
36 respiratory diseases as the main causes of death, especially in dairy farming systems, both in
37 Brazil and in other countries. This study analyzed the archive of necropsy reports from the
38 Laboratory of Pathological Anatomy of the Federal University of Mato Grosso do Sul (LAP-UFMS)
39 over a period of eleven years. The objective was to identify the causes of death of cattle and
40 buffalo calves, from one day to one year of age, extracting information on the etiologies and their
41 frequencies of occurrence. The data obtained were compiled, relating the etiology of the diseases
42 with a defined age range (0-1 month, 2-5 months, 6-8 months and 9-12 months), and discussed in
43 relation to epidemiological and pathological aspects. Of the reports that were suitable for the study,
44 87.7% were cases of beef calves, 45.2% of which were of the Nelore breed. Infectious and
45 parasitic diseases predominated, accounting for 74.5% of the diagnoses, with emphasis on rabies
46 (22.9%), which occurred in all age groups. In cattle up to 3 months old, bacterial septicemia was
47 the most common diagnosis (7.6%). Septicemic salmonellosis had a significant frequency (6.3%),
48 equivalent to that of blackleg, with a higher incidence in calves up to 3 months old and 4 to 8
49 months old, respectively. Other prominent causes include tick-borne diseases (6.7%), enteritis
50 (5.7%) and pneumonia (2.9%). In diseases that encompass non-infectious diagnostic categories,
51 they were included and grouped into miscellaneous diseases (5.7%), toxic and toxi-infectious
52 diseases (5.7%), deficiency and metabolic diseases (4.9%), diseases caused by physical agents
53 (4.2%), congenital diseases (3.9%) and neoplasms (1%). Outbreaks of monesin poisoning,
54 encephalomyelitis, serositis caused by *Chlamydia pecorum*, and cases of eimeriosis and enteritis
55 of undetermined cause were identified in buffaloes. This study reinforces the need for continuous
56 surveillance and improvements in health management to promote animal health and the
57 sustainability of livestock farming. Part of this study, Chapter II, with reports formatted for
58 publication in a scientific journal, of the outbreak of chlamydiosis in buffaloes and the description of
59 "Wischnewsky spots" in a calf that died of hypothermia.

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

61

62

63

64

LISTA DE TABELAS

65

66

Capítulo I

67 Tabela 1. Doenças inflamatórias e parasitárias diagnosticadas entre janeiro de

68 2014 a dezembro de 2024 em bovinos com 1 dia a 12 meses de idade, no LAP-

69 UFMS em Mato Grosso do Sul.....**14**

70 Tabela 2. Doenças menos frequentes diagnosticadas entre janeiro de 2014 e

71 dezembro de 2024 em bezerros bovinos com idades entre 1 dia e 12 meses, no

72 LAP-UFMS em Mato Grosso do Sul.....**16**

73 Tabela 3. Doenças diagnosticadas entre janeiro de 2014 e dezembro de 2024 em

74 bezerros bovinos neonatos (0 a 1 mês de idade), no LAP-UFMS em Mato Grosso

75 do Sul.....**18**

76 Tabela 4. Doenças diagnosticadas entre janeiro de 2014 e dezembro de 2024 em

77 bezerros bovinos pré-desmamados (de 2 a 5 meses de idade), no LAP-UFMS em

78 Mato Grosso do Sul..... **19**

79 Tabela 5. Doenças diagnosticadas entre janeiro de 2014 e dezembro de 2024 em

80 bezerros bovinos de 6 a 8 meses de idade (período de desmame), no LAP-UFMS

81 em Mato Grosso do Sul.....**20**

82 Tabela 6. Doenças diagnosticadas entre janeiro de 2014 e dezembro de 2024 em

83 bezerros bovinos de 9 a 12 meses de idade (período de desmame), no LAP-

84 UFMS em Mato Grosso do Sul.....**21**

85 Tabela 7. Doenças diagnosticadas entre janeiro de 2014 e dezembro de 2024 em

86 bezerros bubalinos de 15 dias a 6 meses de idade, no LAP-UFMS em Mato

87 Grosso do Sul..... **22**

88

Capítulo II

89

Wischnowsky spots in cases of fatal hypothermia in cattle

90 Table 1. Minimum and maximum temperatures in the week in which deaths from

91 hypothermia had occurred in cattle in the cities of the properties visited in Mato

92 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	folks.....	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

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

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

188 Embora existam pesquisas que abordam causas de morte em bovinos na
189 região Centro-Oeste, como os estudos de Rondelli et al. (2017) e Pupin et al.
190 (2019), no Brasil, há uma lacuna de estudos específicos sobre mortalidade de
191 bovinos e bubalinos até um ano de idade, principalmente em bezerros de corte
192 criados em sistemas extensivos que predomina na região Centro-Oeste

193

194 **1.2. Objetivos**

195 Objetivo Geral

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

199

200 Objetivos específicos

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

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

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

208

209 **1.3. Material e métodos**

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

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

224 As doenças dos bezerros foram categorizadas em: doenças inflamatórias e
225 parasitárias, doenças tóxicas e toxi-infecciosas, doenças causadas por agentes
226 físicos, neoplasias, doenças carenciais e metabólicas e doenças congênitas. As
227 doenças que não se enquadraram nessas categorias foram agrupadas em
228 doenças diversas. As doenças foram distribuídas por faixa etária de 0-1 mês
229 (neonatos), 2-5 meses (pré-desmamados), 6-8 meses (período de desmame) e de
230 9-12 meses (desmamados). A frequência dos diagnósticos foi calculada e
231 realizou-se aproximação decimal nos valores obtidos.

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

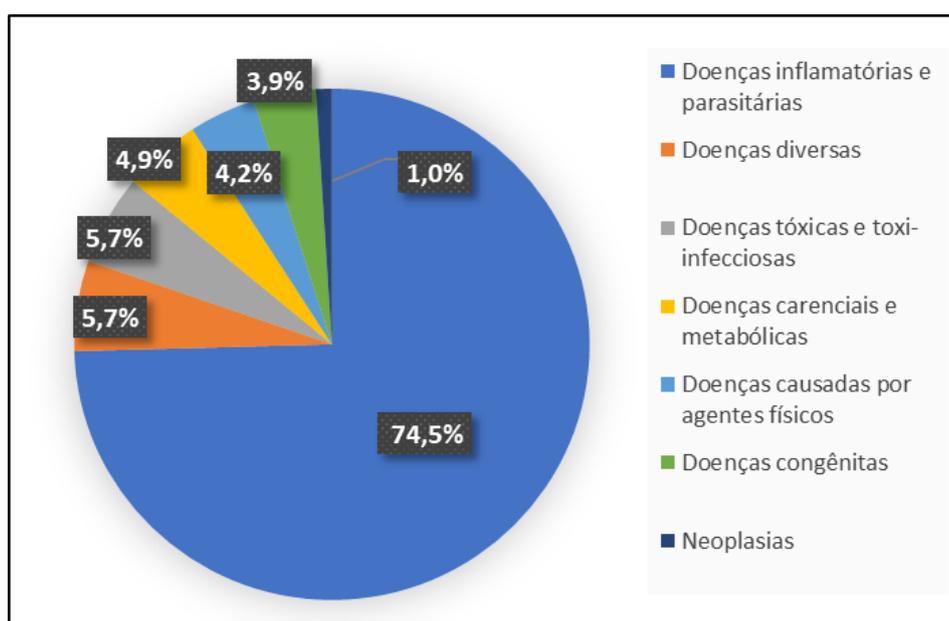
238

239 1.4. Resultados

240 Entre janeiro de 2014 e dezembro de 2024, foram registradas 1.773
241 necropsias de bovinos no LAP-UFMS. Dessas, 511 (28,8%) corresponderam a
242 bovinos com idades entre um dia e 12 meses. Entre elas 259 (50,7%) foram de
243 necropsias realizadas pela equipe do LAP-UFMS, enquanto 252 (49,3%) foram
244 conduzidas por veterinários externos. No total, 75,1% (n = 384/511) das
245 necropsias resultaram em diagnósticos conclusivos, enquanto 24,9% (n =
246 127/511) foram inconclusivas. Entre as necropsias inconclusivas, 79,5% (n =
247 101/127) foram realizadas por veterinários externos e 20,5% (n = 26/127) pela
248 equipe do LAP/UFMS.

249 Com relação às raças dos bezerros bovinos estudados, 87,7% (n =
250 449/511) pertenciam a raças de aptidão para corte, sendo que 45,2% (n =
251 231/511) eram Nelore. Além disso, 8,4% (n = 43/511) tinham aptidão leiteira, 1,2%
252 (n = 6/511) não tinham raça definida e, em 2,5% (n = 13/511) das necropsias, a
253 raça do bovino não foi informada. Em relação a distribuição geográfica das 511
254 amostras encaminhadas, o maior número de casos, com 21,9% (n = 112) eram
255 oriundas do município de Campo Grande, região central do estado. De outros 67
256 municípios de Mato Grosso do Sul foram enviadas 78,1% das amostras (n = 399)
257 e, em 0,8% (n = 4/511), não foram informados os municípios de ocorrência.

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



260
261
262

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.

263
264 As doenças inflamatórias e parasitárias foram as mais frequentes,
265 representando 74,5% dos diagnósticos conclusivos (n=286/384), e estão
266 apresentadas na Tabela 1.

267

268 Tabela 1. Doenças inflamatórias e parasitárias diagnosticadas entre janeiro de 2014 a dezembro
269 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

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

272

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

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

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

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

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

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

312

313 Tabela 2. Doenças menos frequentes diagnosticadas entre janeiro de 2014 e dezembro de 2024
 314 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-infeciosa	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 vaginal	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**

315 *Sugestivo de – casos diagnosticados através dos achados clínicos e patológicos, associados a informações
316 epidemiológicas compatíveis, mas sem confirmação laboratorial do agente etiológico. ^aOs achados
317 patológicos definiram a pneumonia aspirativa como causa da morte. No entanto, foi realizado, nesse bezerro,
318 teste de antígeno para o vírus da diarreia viral bovina (BVDV) da IDEXX® e o resultado foi positivo. ^b
319 diagnóstico histopatológico, sem informações epidemiológicas suficientes para sugerir uma causa.
320

321 De todos os casos considerados neste estudo de mortalidade em bezerros
322 de até um ano, 22,1% (n = 113/511) corresponderam à faixa etária de 0 a 1 mês
323 de idade (bezerros neonatos), dos quais 76,1% (n = 86/113) tiveram resultados
324 conclusivos. Para a faixa etária de 2 a 5 meses de idade (bezerros pré-
325 desmamados), 32,3% (n = 165/511) dos casos foram registrados, sendo 83,6% (n
326 = 138/165) com resultados conclusivos. Na faixa etária de 6 a 8 meses, 18,0% (n
327 = 92/511) dos casos foram registrados, dos quais 72,8% (n = 67/92) tiveram
328 resultados conclusivos. Finalmente, 27,6% (n = 141/511) dos casos
329 corresponderam à faixa etária de 9 a 12 meses, sendo 66,0% (n = 93/141) com
330 resultados conclusivos.

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

335 Tabela 3. Doenças diagnosticadas entre janeiro de 2014 e dezembro de 2024 em bezerras
 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
Total	13	3,4	
Tóxica ou toxi-infecciosa	Intoxicação por abamectina	6	1,6
	Sugestiva de intoxicação por doramectina	3	0,8
	Intoxicação por imidocarb	1	0,3
Total	10	2,6	
Causada por agentes físicos	Hipertermia	2	0,5
	Trauma	2	0,5
	Total	4	1,0
Neoplasia	Linfoma multicêntrico	1	0,3
	Total	1	0,3
Diversa	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
	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 bezerras
 339 bovinos pré-desmamados (de 2 a 5 meses de idade), no LAP-UFMS em Mato Grosso do Sul

Categoria	Diagnóstico	N	%
	Raiva	39	10,2
	Salmonelose septicêmica	16	4,2
	Septicemia bacteriana	12	3,1
	Osteomielite supurativa	9	2,3
	Carbúnculo sintomático	5	1,3
	Anaplasnose 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
	Anaplasnose	2	0,5
	Eimeriose	2	0,5
	Omasite e rumenite supurativas (bebedor ruminal)	1	0,3
	Onfaloflebite	1	0,3
Inflamatória e/ou parasitária	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
	Acidose ruminal	2	0,5
	Indigestão vagal	1	0,3
Carencial ou metabólica	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
	Hipertermia	2	0,5
Causada por agentes físicos	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**

343

344 Tabela 6. Doenças diagnosticadas entre janeiro de 2014 e dezembro de 2024 em bezerros
 345 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
	Anaplasnose	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
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

346

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

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

357

358 Tabela 7. Doenças diagnosticadas entre janeiro de 2014 e dezembro de 2024 em bezerros
 359 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

360

361 1.5. Discussão

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

376 (79,5%). Entre os principais motivos para os resultados inconclusivos,
377 destacaram-se o estado avançado de autólise das amostras destinadas à exames
378 complementares incluindo a histopatologia, a ausência de informações clínicas e
379 epidemiológicas, interpretações controversas sobre lesões, descrições
380 inconsistentes sobre achados de necropsia, necropsia incompleta e não envio de
381 fragmentos de órgãos importantes para confirmação da suspeita clínica e de
382 diagnóstico diferencial. Esses fatores também foram identificados em estudos
383 retrospectivos realizados em outras regiões do Brasil (LUCENA et al., 2010;
384 RONDELLI et al., 2017). Observou-se que a maioria dos bezerros enviados ao
385 LAP/UFMS para diagnóstico eram criados para corte) (87,7%), e que estavam em
386 sistema de criação extensiva, sendo a raça Nelore a mais prevalente. Essa
387 predominância é relevante para explicar a maior incidência de determinadas
388 doenças de bezerros na região Centro-Oeste do Brasil, em comparação com
389 outras regiões do país e do mundo. Das mortes de bezerros com até 12 meses de
390 idade, 54,4% (n = 278/511) ocorreram em animais pré-desmamados, sendo
391 22,1% (n = 113/511) em bezerros com até um mês de idade.

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

399 A raiva foi a doença mais frequentemente diagnosticada em todas as faixas
400 etárias, representando 22,9% (n = 88/384) dos casos totais. A alta prevalência da
401 doença já foi descrita na região, onde observou-se também que o maior número
402 de ocorrências foi em animais jovens, de 48 dias a dois anos (RIBAS et al., 2013).
403 No entanto, no sul do Brasil, a raiva representou menos de 8,6% dos diagnósticos
404 totais (LUCENA et al., 2010; ASSIS-BRASIL et al., 2013a; SCHWERTZ, 2022). A
405 prevalência da doença em bezerros com até 12 meses de idade também foi
406 descrita em estudo retrospectivo em Mato Grosso do Sul, no qual 35,99% dos
407 diagnósticos de raiva em bovinos ocorreram nessa faixa etária (PUPIN et al.,
408 2019). Essa distribuição etária observada pode ser atribuída à vacinação tardia

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

414 O segundo diagnóstico mais frequente foi de septicemia bacteriana, com
415 7,9% (n = 29/384) dos casos, todos ocorrendo em bezerros de até três meses de
416 idade. Em oito desses casos, realizou-se a cultura bacteriana de tecidos afetados,
417 e as seguintes bactérias foram identificadas: *Escherichia coli* (n =5), *Proteus* sp.
418 (n =1 caso), *Pseudomonas* sp. (n =1) e *Corynebacterium* sp. (n =1). Apesar do
419 número limitado de casos com identificação microbiológica, a predominância de
420 *E. coli* reforça seu papel como principal agente etiológico descrito na literatura
421 (FECTEAU et al., 2009). Bezerros de até três meses são particularmente
422 vulneráveis à septicemia devido a dois fatores principais: falha na transferência de
423 imunidade passiva e alta exposição a patógenos ambientais, além de infecções
424 em sítios primários, como o umbigo e estruturas internas relacionadas (FECTEAU
425 et al., 2009). Neste estudo, muitos casos apresentaram descrição de onfoblete
426 associada. Ademais, diagnósticos de osteomielite e abscessos no sistema
427 nervoso central foram frequentemente observados como complicações
428 secundárias à septicemia de origem umbilical.

429 A salmonelose representa outra causa relevante de septicemia bacteriana
430 em bezerros, com infecção geralmente ocorrendo por via fecal-oral, associada à
431 eliminação intermitente de *Salmonella* nas fezes de bovinos infectados. A forma
432 septicêmica da doença foi o terceiro diagnóstico mais frequente, com 6,3% (n =
433 24/384), predominantemente em bezerros de até cinco meses de idade. Essa
434 apresentação clínica está frequentemente relacionada à infecção por *Salmonella*
435 *enterica* sorotipo Dublin, endêmica no Brasil e associada a casos de pneumonia
436 intersticial (MARQUES et al., 2013; GUIZELINI et al., 2020). Neste estudo, não
437 houve nenhum caso de salmonelose apenas com lesões entéricas, e apenas em
438 sete casos, elas foram observadas associadas à septicemia. A importância da
439 septicemia como causa de mortalidade por salmonelose em bezerros já foi
440 relatada por Guizelini et al., 2019. Adicionalmente, apenas um dos casos
441 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 anaplasiose, 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 anaplasiose e babesiose cerebral (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.

475 Posteriormente, a exposição ao carrapato infectado em áreas de estabilidade
476 enzoótica contribui para a manutenção de níveis adequados de anticorpos até os
477 9-10 meses (FARIAS, 2023).

478 Algumas condições aumentam o risco de TPB em bezerros com menos de
479 um ano, incluindo falha na transferência de imunidade passiva pelo colostro, alta
480 infestação por carrapatos infectados associada à queda da imunidade a partir dos
481 20 dias, e movimentação de animais de áreas de instabilidade enzoótica, como o
482 Pantanal, para regiões de estabilidade enzoótica, como o cerrado. No Pantanal,
483 as inundações sazonais interrompem o ciclo do carrapato, reduzindo a exposição
484 dos bovinos aos agentes causadores da TPB (PUENTES & RIET-CORREA,
485 2023). Essa última situação foi observada nos últimos dois anos no Mato Grosso
486 do Sul, relacionada a casos de anaplasnose. No entanto, a maioria dos casos
487 analisados envolveu bezerros de 15 dias a 2 meses, frequentemente com intensa
488 infestação por carrapatos.

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

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

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

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

524 Com relação ao sistema digestivo, as enfermidades que cursam com
525 diarreias e/ou enterites destacam-se entre as principais causas de mortalidade em
526 bezerros pré-desmamados (ASSIS-BRASIL et al., 2013a; CHO & YOON, 2014;
527 SCHWERTZ, 2022; USDA, 2010; WINDEYER et al., 2014; ZHANG et al., 2019;
528 FENTIE et al., 2020). A ocorrência desse problema está associada a múltiplos
529 fatores, como infecções por agentes bacterianos, virais e parasitários, que podem
530 atuar isoladamente ou de forma concomitante, além da imunidade conferida via
531 colostro, condições de manejo, higiênico-sanitárias e a nutrição dos animais. Essa
532 característica multifatorial da diarreia faz com que sua ocorrência varie conforme
533 a localidade geográfica, práticas de manejo e tamanho do rebanho (PESCADOR,
534 2023). No presente estudo, embora a categoria de bezerros neonatos tenha
535 apresentado o maior número de diagnósticos relacionados a diarreias, o número
536 registrado foi baixo em comparação aos estudos de prevalência global, que
537 apontam essa como a principal causa de morbidade e mortalidade (JESSOP et
538 al., 2024). Esses estudos incluem causas não identificadas neste trabalho, como
539 a criptosporidiose. No entanto, *Cryptosporidium* sp. foi identificado nas fezes de
540 bezerros neonatos com diarreia em casos que não foram realizadas necropsias.

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

547 Ao todo, foram diagnosticados casos de salmonelose (n = 8), sendo sete
548 em bezerros de 20 dias a três meses; casos de eimeriose (n = 5), dois em
549 bezerros de até três meses e três em bezerros com mais de oito meses,
550 apresentando a forma neurológica associada; casos de colibacilose (n = 6), todos
551 em bezerros de até 30 dias; e casos de enterite de causa não determinada (n =
552 3), sendo dois em bezerros de até três meses. Esses resultados são compatíveis
553 com as etiologias e os períodos de ocorrência dos agentes causadores de diarreia
554 em bezerros descritos na literatura. Os principais agentes incluem causas virais,
555 como rotavírus e coronavírus, e cepas enterotoxigênicas da *Escherichia coli*
556 (ETEC), que são predominantes até os cinco dias de idade; *Salmonella spp.* e
557 coccídios, a partir dos 30 dias; e o vírus da diarreia viral bovina, geralmente a
558 partir dos três meses (SMITH, 2012). Nos casos de colibacilose entérica deste
559 estudo, a cepa patogênica envolvida não foi identificada, mas em alguns casos as
560 lesões observadas eram compatíveis ao tipo denominado lesão de *attaching and*
561 *effacing* (A/E). A ETEC é a principal causa de diarreia na primeira semana de
562 vida, que coloniza o íleo e produz enterotoxinas que alteram a função dos
563 enterócitos e causam diarreia osmótica, sem causar alterações histológicas
564 significativas. Outros patotipos, como *E. coli* enteropatogênica (EPEC) e *E. coli*
565 enterohemorrágica (EHEC), são causas menos comuns da diarreia neonatal, e
566 são relacionadas a lesões de A/E, caracterizadas por adesão ao epitélio intestinal,
567 destruição de microvilosidades e necrose, especialmente na junção ileocecal e no
568 cólon (MOXLEY, 2010). Entretanto, destaca-se que, em um estudo conduzido no
569 Mato Grosso do Sul, com o isolamento de *E. coli* em fezes diarreicas e não-
570 diarreicas de bezerros neonatos, provenientes de propriedades das quatro
571 regiões do estado, o patotipo ETEC foi o predominante, com identificação em
572 99,43% das amostras, mas cepas de EPEC e EHEC também foram
573 ocasionalmente identificadas em associação com ETEC (TUTIJA et al., 2022),

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

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

582 A meningoencefalite causada pelo herpesvírus bovino (BoHV) também foi
583 identificada, predominantemente em bezerros de 9 a 12 meses, registrados tanto
584 de forma esporádica quanto em surtos. Esta doença neurológica é
585 majoritariamente associada ao BoHV-5 (RISSI et al., 2007), embora alguns
586 estudos tenham relatado casos relacionados ao BoHV-1 (SILVA et al., 2007).
587 Neste estudo, não foi realizada a caracterização específica do agente. A
588 morbidade dessa doença costuma ser baixa, mas a letalidade é alta, chegando a
589 quase 100% (RISSI et al., 2007). Sua ocorrência é mais frequente em bovinos
590 jovens de 13-24 meses, mas ocasionalmente acomete bezerros, com menos de
591 um ano, submetidos a situações de estresse, como desmame, transporte,
592 mudanças no manejo alimentar e vacinações. Essas ocorrências, descritas em
593 diversos estados brasileiros, incluindo Mato Grosso do Sul (RISSI & LEMOS,
594 2023), destacam a vulnerabilidade dos animais nessas condições. Nos casos
595 deste estudo, os fatores predisponentes mais relatados foram transporte e mistura
596 de animais após o desmame.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

707

708 **1.6. Conclusão**

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

724

725 **1.7. Referências bibliográficas**

726 AGERHOLM, J.S.; HEWICKER-TRAUTWEIN, M.; PEPERKAMP, K. et al. Virus-
727 induced congenital malformations in cattle. **Acta Veterinaria Scandinavica**, v. 57,
728 p. 1-14, 2015.

729 ANDRADE, J.S.L.; AZEVEDO, S.S.; PECONICK, A.P. de et al. 2014.
730 Retrospective survey of rabies in Paraíba State, Brazil, from 2004 to 2011.
731 **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**. 51, 3 (Dec.
732 2014), 212–219.

733 ARAUJO, R.F. CURCI, V.C., NOBREGA, F.L. et al. Vaccination protocol and
734 bacterial strain affect the serological response of beef calves against blackleg.
735 **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

923 **2. CAPÍTULO II**
924

925 **2.1. Encephalomyelitis and serositis caused by *Chlamydia pecorum* in**
926 **buffalo calves from Brazil**

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

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

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

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

933 University of Zurich (NB)

934

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

939 **Abstract**

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

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

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

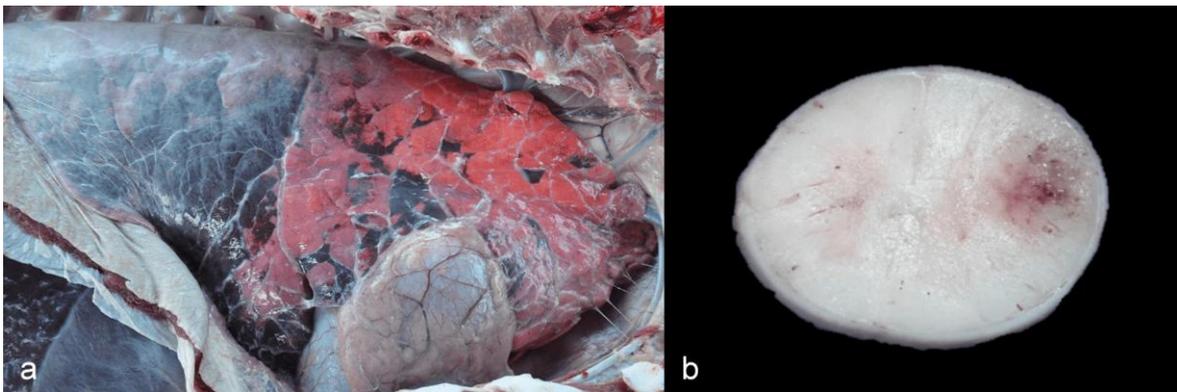
957 The genus *Chlamydia* comprises a group of gram-negative, obligate intracellular
958 bacteria that can infect a wide range of hosts, including domestic and wild
959 animals.^{2,11} *Chlamydia* species exhibit varying degrees of virulence, leading to a
960 spectrum of outcomes from asymptomatic infections to severe systemic diseases.²
961 In cattle, *C. abortus* and *C. pecorum* are the most common chlamydial species.¹⁷
962 Infections caused by *C. pecorum* are typically subclinical, but occasionally
963 manifest as arthritis,¹⁹ abortion,^{6,9} enteritis,¹⁴ pneumonia,²⁰ encephalomyelitis, or
964 serositis.^{7,8,18} Bovine sporadic encephalomyelitis, associated with *C. pecorum* and
965 documented since 1940, presents with encephalomyelitis, vasculitis, and
966 thrombosis.^{7,8,12,18} Buffalo cases are rare, with only reports in Bulgaria¹³ and Italy.⁵
967 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

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

996 On gross examination, both buffaloes had distended urinary bladders filled with
997 urine. Case 1 had a moderate amount of fibrin deposited on the external surface of
998 the pericardium, while case 2 had thickening of the pericardium with whitish
999 material and white strands attached to the pleura (chronic pleuritis). In some
1000 areas, the interstitial septae of the lungs were expanded by fibrosis, and the
1001 pulmonary parenchyma had multifocal dark red areas of atelectasis (Fig. 1a). In
1002 both cases, the fresh brain had slight softening of the telencephalons and diffuse
1003 congestion of leptomeningeal blood vessels. Following fixation in formalin,
1004 sections of the spinal cord, telencephalon, and brainstem revealed multifocal dark
1005 red areas associated with loss of the parenchyma and the formation of variably
1006 sized cavities (Fig. 1b).



1007

1008 **Figure 1.** Gross lesions in buffalo calves associated with *Chlamydia pecorum*
1009 infection. (a) Right lateral view of the thoracic cavity. There is multifocal white
1010 material (fibrosis/fibrous granulation tissue) on the pleural and pericardial surfaces;
1011 a few fibrous/fibrinous strands adhere the visceral and parietal pleura (bottom right
1012 corner). Irregular, multifocal dark red areas are observed in the cranial lobes that

1013 are diffuse in the caudal lobes (atelectasis). Case 2. (b) Cross-section of the
1014 cervical spinal cord after 24 hours of fixation in formalin. There is a focally
1015 extensive red area with small cavitations (malacia) that mostly affects the white
1016 matter. Case 1.

1017

1018 During necropsy, samples of various organs were collected in 10% formalin and
1019 processed according to standard procedures for histopathological evaluation.

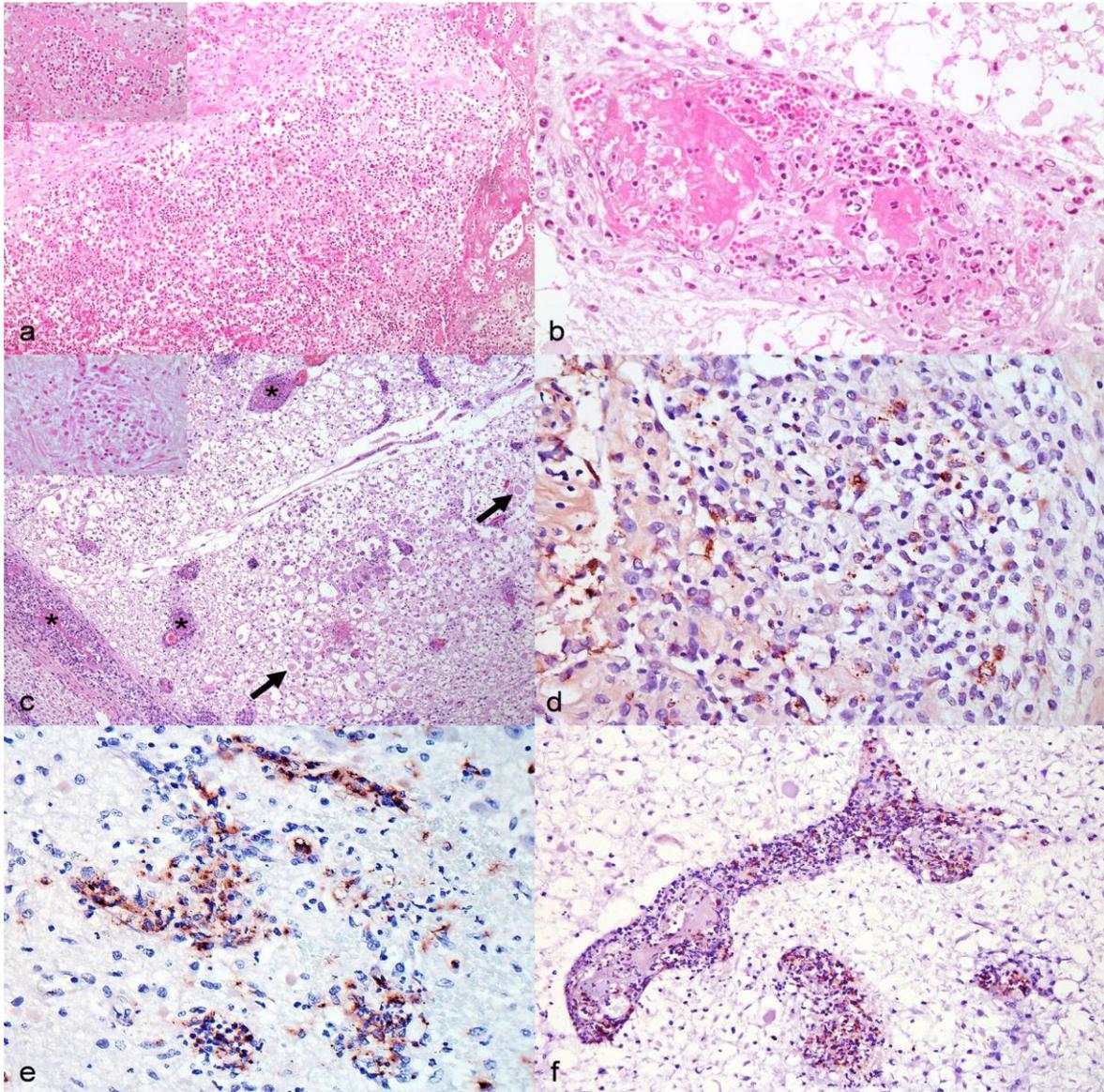
1020 Formalin-fixed, paraffin-embedded sections of the spinal cord, brain, lungs, and
1021 heart of the two buffaloes were subjected to immunohistochemistry (IHC) for
1022 *Chlamydia* sp. (Supplemental Method S1).

1023 Histologically, the pericardium and pleura of case 1 was thickened due to the
1024 presence of fibrin and a marked inflammatory infiltrate composed of macrophages,
1025 lymphocytes, plasma cells, and cellular debris (Fig. 2a). In case 2, there was
1026 thickening of the pleura due to fibrosis and activated mesothelial cells, as well as
1027 endothelial thickening in proliferated blood vessels. In the central nervous system,
1028 lesions were observed in all parts of the brain and spinal cord, with more
1029 pronounced lesions in the cerebral cortex and cervical spinal cord.

1030 The walls of multiple blood vessels, particularly in the white matter and
1031 leptomeninges, were completely or partially replaced by eosinophilic fibrillar
1032 material (fibrinoid necrosis) along with an inflammatory infiltrate comprising
1033 degenerate neutrophils and, to a lesser extent, macrophages, lymphocytes, and
1034 occasional plasma cells (Fig. 2b). Adjacent to these vessels, areas of necrosis
1035 were identified, characterized by intense white matter vacuolation, axonal
1036 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-pherlebitis 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

1155 001. Two of the authors (Ricardo A.A. Lemos and Saulo P. Pavarini) had a
1156 fellowship from Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico
1157 (CNPq), Brazil.

1158

1159 **References**

- 1160 1. Blas-Machado U, Saliki JT, Duffy JC. Bovine viral diarrhea virus type 2-
1161 induced meningoencephalitis in a heifer. *Vet Pathol.* 2004;41(2):190–194.
- 1162 2. Borel N, Polkinghorne A, Pospischil A. A Review on Chlamydial Diseases in
1163 Animals: Still a Challenge for Pathologists?. *Vet Pathol.* 2018;55(3):374-390.
- 1164 3. Cantile C, Youssef S. Nervous system. In: Maxie GM, ed. *Jubb, Kennedy &*
1165 *Palmer's Pathology of Domestic Animals.* 6th ed. Elsevier Health Sciences; 2015
- 1166 4. Fontes DG, Monteiro MVB, Jorge EM, et al. Perfil hematológico e
1167 bioquímico de búfalos (*Bubalus bubalis*) na Amazônia Oriental [Hematological and
1168 biochemical profile of buffaloes (*Bubalus bubalis*) in the Eastern Amazon]. *Pesq*
1169 *Vet.* 2014;34: 57–63.
- 1170 5. Galiero G, Magnino S, Casalone C, et al. Encefalomielite da Clamidia in
1171 vitelli bufalini: descrizione di un focolaio [An outbreak of chlamydial
1172 encephalomyelitis in buffalo calves]. *Selezione Veterinaria.* 1998;4:229-236. 1998.
- 1173 6. Giannitti F, Anderson M, Miller M, et al. *Chlamydia pecorum*: fetal and
1174 placental lesions in sporadic caprine abortion. *J Vet Diagn Invest.* 2016;28(2):184-
1175 9.
- 1176 7. Hunt H, Orbell G, Buckle KN, et al. First report and histological features of
1177 *Chlamydia pecorum* encephalitis in calves in New Zealand. *N Z Vet J.* 2016
1178 ;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

1223 **2.2. Wischnewsky spots in cases of fatal hypothermia in cattle¹**

1224 Larissa L. Souza², Carolina C. Guizelini², Bruno A. Almeida⁴, Thaísa X. Silva², Acauane S. Lima³,
1225 Vitor F. Carvalho³, David Driemeier⁴ and Ricardo Antônio A. Lemos²

1226

1227 Artigo submetido à revista Patologia Veterinária Brasileira, publicado em
1228 novembro de 2023 e escrito conforme as normas da mesma.

1229

1230 ¹ Received on October 17, 2023. Accepted for publication on November 12, 2023. ² Laboratório de
1231 Anatomia Patológica (LAP), Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FAMEZ), Universidade
1232 Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS), Av. Sen. Filinto Müller 2443, Campo Grande, MS 79070-900,
1233 Brazil. *Corresponding author: larissa.lopeiro@ufms.br

1234

1235 **ABSTRACT.** - Souza L.L., Guizelini C.C., Almeida B.A., Silva T.X., Lima A.S., Carvalho V.F., Driemeier D. &
1236 Lemos R.A.A. 2024. **Wischnewsky spots in cases of fatal hypothermia in cattle.** Pesquisa
1237 Veterinária Brasileira 44:e07408, 2024. Laboratório de Anatomia Patológica, Faculdade de Medicina
1238 Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Av. Sen. Filinto Müller 2443,
1239 Campo Grande, MS 79070-900, Brazil. E-mail: larissa.lopeiro@ufms.br Wischnewsky spots (WS) are
1240 hemorrhagic, non-erosive, and non-ulcerative lesions that affect the gastric mucosa. They are
1241 considered common in the stomachs of humans who have died from hypothermia and are rarely
1242 described in other animal species. This study describes the occurrence of WS in cattle that had died of
1243 hypothermia in two cities in the state of Mato Grosso do Sul. Two properties were visited, and three
1244 cattle were necropsied by the team from the Pathological Anatomy Laboratory of the Federal
1245 University of Mato Grosso do Sul (LAP-UFMS). The epidemiological conditions and clinical signs of the
1246 cattle examined on both properties were similar. The deaths occurred on days when there was a
1247 sudden drop in environmental temperature, with continuous rain for more than 24 hours. During the
1248 visits, the most affected live cattle were found in sternal decubitus, with their heads resting on their
1249 flanks, or laterally in a comatose state, with nystagmus and a rectal temperature below 32°C.
1250 Macroscopically, there were multifocal to coalescent red and black areas on the mucosal surface of the
1251 abomasums of the three cattle necropsied, mainly at the apex of the folds, oval or punctate in shape,
1252 measuring 0.1 to 1.0cm in diameter. Microscopically, these dark areas corresponded to areas of
1253 rarefaction of the mucosal epithelial cells associated with hemorrhage and the frequent deposition of
1254 golden-brown pigment (hematin) in the extracellular medium. The diagnosis of hypothermia in cattle
1255 was based on epidemiology, clinical-pathological examination, and the exclusion of differential
1256 diagnoses. The lesions found in the abomasum of cattle that had died from hypothermia were
1257 compatible with WS, highlighting the importance of recognizing them in cases of cattle deaths in which
1258 this condition is suspected. INDEX TERMS: Wischnewsky spots, abomasum, cold, bovine diseases,
1259 hypothermia, cattle.

1260

1261 **RESUMO.- [Manchas de Wischnewsky em casos de hipotermia fatal em bovinos.]** As manchas de
1262 Wischnewsky (WS) são lesões hemorrágicas, não erosivas e não ulcerativas que acometem a mucosa
1263 gástrica. Eles são considerados comuns no estômago de humanos que morreram de hipotermia e
1264 raramente são descritos em outras espécies animais. Este estudo descreve a ocorrência de WS em
1265 bovinos que morreram por hipotermia em duas cidades do estado de Mato Grosso do Sul. Duas
1266 propriedades foram visitadas e três bovinos foram necropsiados pela equipe do Laboratório de
1267 Anatomia Patológica da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (LAP-UFMS). As condições
1268 epidemiológicas e os sinais clínicos dos bovinos examinados nas duas propriedades foram
1269 semelhantes. As mortes ocorreram em dias em que houve queda brusca da temperatura ambiente, com
1270 chuva contínua por mais de 24 horas. Os bovinos vivos mais acometidos no momento das visitas foram
1271 encontrados em decúbito esternal, com a cabeça apoiada nos flancos, ou lateralmente em estado de
1272 coma, com nistagmo e temperatura retal abaixo de 32°C. Macroscopicamente, havia áreas vermelhas e
1273 pretas multifocais a coalescentes na superfície mucosa dos abomasos dos três bovinos necropsiados,
1274 principalmente no ápice das pregas, de formato oval ou pontiforme, medindo de 0,1 a 1,0cm de
1275 diâmetro. Microscopicamente, essas áreas escuras correspondiam a áreas de rarefação das células

1276 epiteliais da mucosa associadas à hemorragia e à frequente deposição de pigmento marrom-dourado
1277 (hematina) no meio extracelular. O diagnóstico de hipotermia em bovinos foi baseado na
1278 epidemiologia, no exame clínico-patológico e na exclusão de diagnósticos diferenciais. As lesões
1279 encontradas no abomaso de bovinos que morreram por hipotermia foram compatíveis com WS,
1280 destacando a importância de reconhecê-las em casos de mortes de bovinos em que haja suspeita desta
1281 condição.

1282
1283 TERMOS DE INDEXAÇÃO: Manchas de Wischnewsky, abomaso, frio, doenças de bovinos, hipotermia,
1284 bovinos.

1285

1286

1286 INTRODUCTION

1287

1288

1289

1290

1291

1292

1293

1294

1295

1296

1297

1298

1299

1300

1301

1302

1303

1304

1305

1306

1307

1308

1309

1310

1311

1312

1313

1314

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.

1315

1316

1317

1318

1319

1320

1321

1322

1323

1324

1325

1326

1327

1328

1329

1330

1331

1332

1333

1314 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

1334 cattle that had resisted the sudden drop in temperature and were found alive. On Property 2, two cattle
 1335 were necropsied: an adult crossbreed cow and a 7-month-old Nelore calf. The cow was found dead
 1336 during the visit, the calf and two other animals found alive in lateral decubitus were clinically assessed,
 1337 and their rectal temperature was measured with the same thermometer used on Property 1. The calf
 1338 and another adult bovine were submitted to blood sampling for a complete blood count and
 1339 biochemical tests for the enzymes aspartate aminotransferase (AST), urea, and creatinine, as well as
 1340 feces collection directly from the rectal ampulla for the egg count per gram of feces (OPG) test. Due to
 1341 the calf's poor prognosis, it was euthanized and necropsied. Euthanasia was carried out in accordance
 1342 with guidelines from the "Conselho Federal de Medicina Veterinária (CFMV)" from Brazil. During
 1343 necropsy, samples of all organs were collected, fixed in 10% formalin, processed routinely, and stained
 1344 with hematoxylin and eosin (HE).

1345 RESULTS

1346 The epidemiological conditions and clinical signs of the cattle examined on the two properties
 1347 visited were similar. On both properties, there was a sudden in environmental temperature in the
 1348 week in which the animals were necropsied (Table 1) and constant rainfall for more than 24 hours in
 1349 the periods leading up to the death of the cattle. On both properties, the animals found dead, including
 1350 the necropsied animals, were in groups, close to fences, or alone among small bushes and tree trunks
 1351 in different paddocks, which had neither natural nor artificial shelters, making the area where the
 1352 cattle stayed an open field. Deaths were rapid, varying between one and two days, and concentrated in
 1353 the two days when the adverse environmental conditions were present. The most affected live cattle
 1354 were found in lateral decubitus, unable to maintain themselves in sternal recumbency or stand up,
 1355 even with assistance. They also had imperceptible and abdominal breathing, did not react to
 1356 environmental stimuli, but sometimes tried to move their thoracic limbs, imitating the pedaling
 1357 movement.

1359 **Table 1. Minimum and maximum temperatures in the week in which deaths from hypothermia**
 1360 **had occurred in cattle in the cities of the properties visited in Mato Grosso do Sul, on June of**
 1361 **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

1362 Fonte: AccuWeather

1363
 1364 Property 1 used an extensive breeding system. In one paddock, located in the highest region of
 1365 the farm, out of a total of 151 Nelore cows and 138 calves at food, 100 had died (95% of the dead
 1366 animals were cows) between June 14th and 15th, with a higher concentration of deaths on June 14.
 1367 During the visit, three adult cows and a calf were alive and showed similar clinical signs: head shaking
 1368 and frequent mooing. The rectal temperature of these animals was below 32°C, below the minimum
 1369 temperature detected by the digital thermometer. A 12-year-old cow found dead was necropsied.
 1370 Property 2 also used a breeding system with calves, heifers, cows, and bulls in a semi-extensive
 1371 production system, sequestering animals in troughs and providing feed during dry periods. There were
 1372 1,556 cattle on the property, divided into eight lots of 100 to 150 animals. Up until the day of the visit,
 1373 72 deaths had been recorded, including cattle of all categories and from different paddocks, except for
 1374 bulls. The euthanized calf and an adult Nelore cow showed the same clinical signs; they were found in
 1375 lateral decubitus and showed depression, absence of corneal reflex, nystagmus, shallow and abdominal
 1376 breathing, and did not react to environmental stimuli but sometimes tried to move their thoracic limbs,
 1377 imitating the pedaling movement. The calf's rectal temperature was below the minimum mark on the
 1378 digital thermometer (32°C), whereas the adult's rectal temperature was 32.4°C. In the biochemical

1379 profile tests, there was an elevation in the serum level of aspartate aminotransferase (AST) in the cow
1380 and calf of 391.7 and 421.6 U/L, respectively (reference interval, 54-135U/L - Cornell University
1381 2017). No alterations were observed in the blood count of either animal. The OPG tests showed low
1382 counts of strongylid eggs in the calf (175 eggs) and in the cow (0 eggs).

1383 Macroscopically, the three cattle necropsied were in fair body condition, with fat reserves that
1384 made it impossible to see the bony prominences, and the ECC was classified as 6 (fair to good). In the
1385 abomasum, throughout the mucosal surface, especially at the apex of the folds, there were multifocal to
1386 coalescent, punctate to oval areas, which varied from red to black and measured between 0.1 to 1.0 cm
1387 in diameter (Figs. 1 and 2). The other organs showed no macroscopic alterations.
1388



1389 **Fig.1.** Wischnewsky spots in hypothermia in cattle. Multiple black dots and spots, sometimes random
1390 red ones, on the mucosal surface of the abomasum.
1391
1392



1393
1394
1395
1396
1397
1398
1399
1400
1401

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.

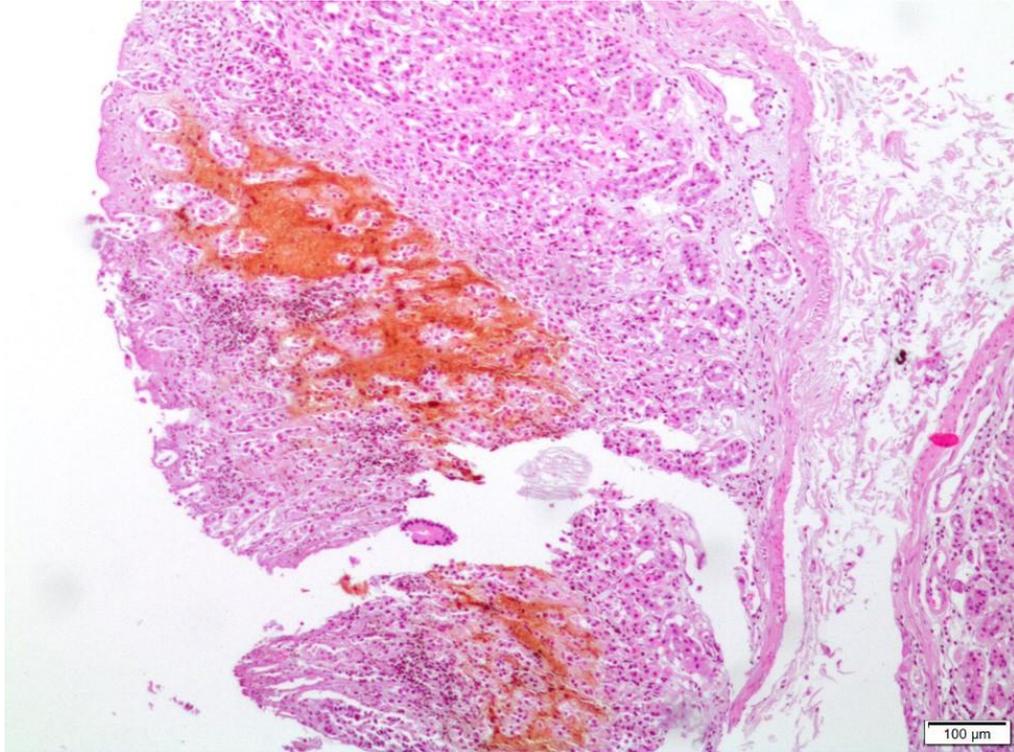


Fig.3. Wischnewsky spots in hypothermia in cattle. Abomasum. Two areas have marked deposition of golden-brown pigment (hematin) in the middle of the mucosal epithelial cells. HE, obj.10x.

1402
1403
1404
1405

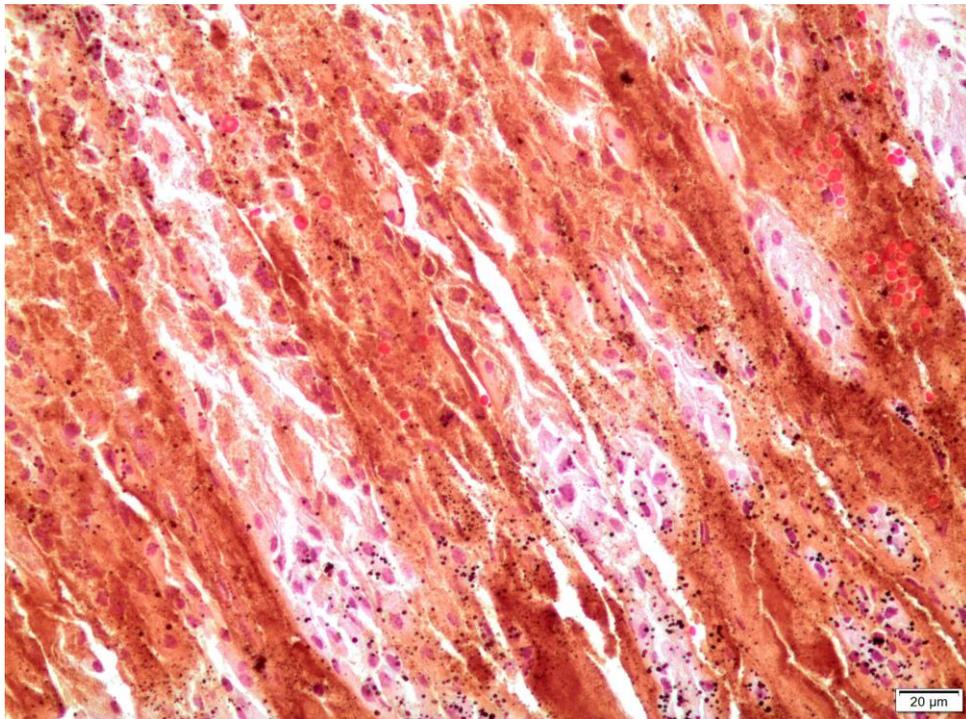


Fig.4. Wischnewsky spots in hypothermia in cattle. Abomasum. Marked deposition of hematin accompanied by areas of hemorrhage. The parietal cells are preserved. HE, obj.40x.

1406
1407
1408
1409
1410
1411
1412
1413

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

1414 the clinical picture was hypothermia since this temperature is considerably below the body
1415 temperature considered normal for the species, which is 38.5°C (Constable et al. 2017).

1416 According to world map productions using the Köppen-Geiger climate system, the predominant
1417 climate in the state of Mato Grosso do Sul is Aw – a megathermic climate with a dry winter and
1418 summer rainfall, in which the average temperature of the coldest month is above 18°C and rainfall is
1419 less than 60mm in the least rainy month (Peel et al. 2007, Beck et al. 2018). Outbreaks of bovine
1420 mortality due to hypothermia in the state were mostly associated with a sudden drop in temperature,
1421 associated with rain and wind, a poor nutritional status of the animals, and the absence of natural
1422 shelters on the properties (Santos et al. 2012). The nutritional status of the cattle necropsied, as well as
1423 that of other affected animals on the properties, was fair to good, unlike that observed in previous
1424 outbreaks. The absence of natural shelters in the paddocks where the deaths had occurred was a
1425 similar epidemiological characteristic in all cases and is increasingly common in the state due to
1426 changes in the production system, with Mato Grosso do Sul being the state with the largest area of
1427 adoption of crop-livestock-forest integration (CLFI) systems in Brazil (Skorupa & Manzatto 2019).

1428 In cattle, urea intoxication and botulism are the main differential diagnoses of hypothermia
1429 since these diseases have similar clinical signs, no significant *post-mortem* lesions, and the death of
1430 several animals in a short period of time. In the case of urea intoxication, although it is related to rain
1431 on properties with uncovered troughs, the animals are usually found dead near the troughs (Gimelli et
1432 al. 2023), a situation that was not observed in the present cases.

1433 The microscopic finding of hypereosinophilic neurons (red neurons) in the gray matter of the
1434 brain has already been described in cases of hypothermia in cattle (Colodel et al. 2006, Santos et al.
1435 2012, Lemos & Riet-Correa 2023). However, validating this finding as evidence of neuronal
1436 degeneration or death can be erroneous and has a poor diagnostic character since it may be an artifact
1437 produced by handling the organ or by trauma to the brain tissue (Jortner 2006).

1438 The red and black foci identified in the abomasum of affected cattle are macro- and
1439 microscopically similar to the WS associated with fatal hypothermia in humans. This *post-mortem*
1440 finding is characterized by hemorrhagic, random, and multidimensional lesions of the gastric folds
1441 (Tsokos et al. 2006, Palmiere et al. 2014). An experimental study using rats showed that cold
1442 stimulates increased gastrin release and acidification of the gastric mucosa, causing small
1443 hemorrhages (Yang et al. 2020). Microscopically, these hemorrhagic lesions can be hematinized after
1444 the interaction of hemoglobin released in the autolysis of red blood cells and gastric secretion; they are
1445 therefore classified as peri-agonal circumscribed hemorrhages related to hypothermia (Tsokos et al.
1446 2006). The presence of hemorrhages in the mucosa of the cases presented suggests that the golden-
1447 brown pigment is also hematin.

1448 Notably, WS must be differentiated from abomasal ulcers and erosions, which occur in cattle
1449 and are incidental findings seen in animals of various ages that died from various causes. Ulcers and
1450 erosions are macroscopically characterized by linear to punctate, brown to black depressions on the
1451 mucosal surface (Uzal et al. 2016). Although they are usually multiple and occur randomly throughout
1452 the organ, they are characterized by tissue loss associated with inflammation, which is not the case in
1453 WS observed in cases of hypothermia (Tsokos et al. 2006).

1454 The formation of WS reported in humans is complex as they are associated with various factors,
1455 such as a decrease in body temperature, physical and psychological stress, and other comorbidities
1456 (Bright et al. 2014, Sacco et al. 2022). In animals, stress factors have also been identified as being
1457 associated with cases of hypothermia, such as neoplasia and starvation in dogs (Stern & Vison 2017),
1458 multiple fractures in rabbit, and severe intestinal parasitism in monkeys (Almeida et al. 2021). In the
1459 cattle evaluated, none of these physical stress factors could be identified; however, as demonstrated in
1460 experiments with rats, psychological stress or the feeling of imminent death can be a significant effect
1461 modifier in the development of WS in cases of lethal hypothermia (Bright et al. 2013b).

1462
1463

CONCLUSION

1464 The lesions found in the abomasum of cattle that had died from hypothermia are compatible with
1465 Wischnewsky spots (WS), which have been frequently identified in humans and described in other
1466 animal species exposed to cold. The presence of WS associated with clinical and epidemiological
1467 findings may be suggestive of hypothermia in the absence of other diseases, highlighting the
1468 importance of recognizing them in cases of bovine deaths in which hypothermia is suspected.

1469
1470

1471 **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

1472 out with the support of the “Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoa de Nível Superior” (CAPES),
 1473 Brazil – Financing Code 001 and by the “Universidade Federal de Mato Grosso do Sul” (UFMS). The
 1474 authors thanks Rayane C. Pupin, from the “Laboratório de Anatomia Patológica da UFMS (LAP-UFMS)”,
 1475 for help with histopathological evaluation, and provision of microscopic figures.

1476
 1477 **Conflict of interest statement.** - The authors declare that there are no conflicts of interest.
 1478

1479 REFERENCES

- 1480 Almeida B.A., Santos I.R., Henker L.C., Lorenzett M.P., Ferrari F.E., Surita L.E., Panziera W., Pavarini S.P.
 1481 & Driemeier D. 2021. Wischnewski Spots and Black Oesophagus in Suspected Fatal Hypothermia in a
 1482 Brown Howler Monkey (*Alouatta guariba clamitans*) and a Rabbit (*Oryctolagus cuniculus*). J. Comp.
 1483 Pathol. 186:18–22. <<https://dx.doi.org/10.1016/j.jcpa.2021.05.001>>
- 1484 Beck H.E., Zimmermann N.E., McVicar T.R., Vergopolan N., Berg A. & Wood E.F. 2018. Present and
 1485 future Köppen-Geiger climate classification maps at 1-km resolution. Sci Data. 30 5:180214.
 1486 <<https://dx.doi.org/10.1038/sdata.2018.214>>
- 1487 Bright F. M., Winsko C., Tsokos M., Walker M., & Byard R. W. 2014. Issues in the diagnosis of
 1488 hypothermia: a comparison of two geographically separate populations. J. Forensic. Leg. Med. 22:30-
 1489 32. <<https://dx.doi.org/10.1016/j.jflm.2013.10.020>>
- 1490 Bright F., Winskog, C. & Byard R.W. 2013a. Wischnewski spots and hypothermia: sensitive, specific, or
 1491 serendipitous?. Forensic Sci Med Pathol. 9: 88-90. <<https://dx.doi.org/10.1007/s12024-012-9342-1>>
- 1492 Bright F., Winskog C., Walker M. & Byard R.W. 2013b. Why are Wischnewski spots not always present
 1493 in lethal hypothermia? The results of testing a stress-reduced animal model. J. Forensic. Leg. Med.
 1494 20(6): 785-787. <<https://dx.doi.org/10.1016/j.jflm.2013.05.003>>
- 1495 Colodel E. M., Angreves G.M., Alberton E.L., Wutker R.M.M., Santos C.E.P. & Nakazato L. 2006. Inversão
 1496 térmica como causa de mortalidade de bovinos no Estado de Mato Grosso. Anais 33o Conbravet,
 1497 Cuiaba, MT, CD ROM. (Resumo)
- 1498 Constable P.D., Hinchcliff K.W., Done S.H. & Grünberg W. 2017. Veterinary Medicine. 11th ed. Saunders
 1499 Elsevier, St. Louis, Missouri, p.1488, 1662-1706
- 1500 Gimelli A., Pupin R.C., Guizelini C.C., Gomes D.C., Franco G.L., Vedovatto M., Gaspar A.O. & Lemos R.A.A.
 1501 2023. Urea poisoning in cattle: A brief review and diagnostic approach. Pesq. Vet. Bras. 43:
 1502 <<https://dx.doi.org/10.1590/1678-5150-PVB-7228>> aceito para publicação.
- 1503 Jortner, B.S. 2006. The return of the dark neuron. A histological artifact complicating contemporary
 1504 neurotoxicologic evaluation. Neurotoxicol. 27(4):628-634.
- 1505 Lemos R.A.A. & Riet-correa F. 2023. Outras doenças: hipotermia, p.744-747. In: Riet-Correa F., Schild
 1506 A.L., Lemos R.A.A., Borges J.R.J, Mendonça F.S. & Machado M. (Eds), Doenças de Ruminantes e Equídeos.
 1507 Vol.2. 4a ed. MedVet, São Paulo, SP.
- 1508 Martony M., Hernandez J.A., de Wit M., Leger J.S., Erlacher-Reid C., Vandenberg J. & Stacy, N. I. 2019.
 1509 Clinicopathological prognostic indicators of survival and pathological findings in cold-stressed Florida
 1510 manatees *Trichechus manatus latirostris*. Dis Aquat Organ. 132(2):85-97. <
 1511 <https://dx.doi.org/10.3354/dao03306>>
- 1512 Merck M., Miller D & Reisman R. 2013. Death due to hypothermia, pp 226–228. In: Merck M (ed),
 1513 Veterinary forensics: animal cruelty investigations. 2ª ed. Wiley-Blackwell, Ames.
- 1514 Nicholson M.J. & Butterworth M.H. 1986. A Guide to Condition Scoring of Zebu Cattle. International
 1515 Livestock Centre for Africa, Addis Ababa. 29p.
- 1516 Palmiere C., Teresiński, G. & Hejna, P. 2014. Postmortem diagnosis of hypothermia. Int J Legal Med.
 1517 128:607-614. <<https://doi.org/10.1007/s00414-014-0977-1>>
- 1518 Peel M.C., Finlayson B.L. & McMahon T.A. 2007. Updated world map of the Koppen-Geiger climate
 1519 classification. Hydrol. Earth Syst. Sci. 11:1633-1644. < [https://dx.doi.org/10.5194/hess-11-1633-](https://dx.doi.org/10.5194/hess-11-1633-2007)
 1520 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

1562 3. CAPÍTULO III

1563 3.1. Considerações finais

1564 Este estudo revelou a relevância das doenças infecciosas e parasitárias
1565 como principais causas de mortalidade em bezerros bovinos e bubalinos no
1566 Centro-Oeste do Brasil, destacando a importância de estratégias de manejo e
1567 vigilância sanitária eficazes. Os resultados evidenciam a necessidade de adoção
1568 de medidas preventivas, como vacinação, controle sanitário e melhorias no
1569 manejo nutricional e ambiental, para reduzir a mortalidade e melhorar a eficiência
1570 produtiva. Adicionalmente, a identificação de surtos específicos, como a
1571 clamidiose em búfalos e a presença de "manchas de Wischnewsky" associadas à
1572 hipotermia, amplia o conhecimento sobre condições patológicas regionais,
1573 contribuindo para o desenvolvimento de métodos diagnósticos mais eficazes. A
1574 integração de informações epidemiológicas e patológicas fornece subsídios para
1575 a formulação de medidas sanitárias voltadas à sustentabilidade da pecuária e à
1576 saúde animal.

1577 3.2. Impacto econômico, social, tecnológico e/ou inovação

1578 A mortalidade de bezerros representa perdas financeiras significativas, seja
1579 pela diminuição do potencial produtivo dos rebanhos, seja pelos custos
1580 associados ao tratamento de doenças e à reposição de animais. Investimentos
1581 em manejo preventivo e em melhorias no diagnóstico podem reduzir essas perdas
1582 e aumentar a rentabilidade dos sistemas de produção.

1583 O impacto da mortalidade de bezerros também se estende à segurança
1584 alimentar, considerando que a pecuária é uma das principais fontes de proteína
1585 para a população brasileira e mundial. A redução das taxas de mortalidade
1586 contribui para a oferta de alimentos de qualidade, além de fomentar o
1587 desenvolvimento de comunidades rurais, criando emprego e renda.

1588 Este trabalho destaca a necessidade de aprimoramento de tecnologias de
1589 diagnóstico, incluindo exames laboratoriais mais precisos e acessíveis, para
1590 identificar com rapidez e eficiência os agentes etiológicos de doenças. O
1591 desenvolvimento de ferramentas como testes rápidos, uso da telepatologia, e a
1592 criação de sistemas de monitoramento digital pode revolucionar a detecção
1593 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