

ADRIANA DE SOUZA COUTINHO

**Mannheimiose pneumônica experimentalmente
induzida em bezerros pela *Mannheimia*
(*Pasteurella*) *haemolytica* A1- cepa D153:
achados do exame físico, hemograma e *swabs* nasal
e nasofaríngeo**

Tese apresentada à Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de Botucatu, para obtenção do título de Doutor em Medicina Veterinária. Área de concentração: Clínica Veterinária

**BOTUCATU – SÃO PAULO
2004**

ADRIANA DE SOUZA COUTINHO

**Mannheimiose pneumônica experimentalmente
induzida em bezerros pela *Mannheimia*
(*Pasteurella*) *haemolytica* A1- cepa D153:
achados do exame físico, hemograma e swabs nasal
e nasofaringeano**

Tese apresentada à Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de Botucatu, para obtenção do título de Doutor em Medicina Veterinária. Área de concentração: Clínica Veterinária

Orientador: Professor Ass. Dr. Roberto Calderon Gonçalves

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉCNICA DE AQUISIÇÃO E TRATAMENTO
DA INFORMAÇÃO
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CAMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: SELMA MARIA DE JESUS

Coutinho, Adriana de Souza.

Mannheimiose pneumônica experimentalmente induzida em bezerros pela Mannheimia (Pasteurella) haemolytica A1- cepa D153 : achados do exame físico, hemograma e swabs nasal e nasofaríngeo / Adriana de Souza Coutinho. – 2004.

Tese (doutorado) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu, 2004.

Orientador: Roberto Calderon Gonçalves

Assunto CAPES: 505010062

1. Bovino – Doenças

CDD 636.20896075

Palavras-chave: Diagnóstico; Doenças respiratórias; Bovinos; Mannheimia haemolytica

**Dedico este trabalho
à minha família.**

*Aos meus pais, **João e Irene**, pelo amor, dedicação e incentivo, que desfrutei cada dia da minha vida. Sem vocês, este trabalho não teria se concretizado.*

*Às minhas irmãs, **Aline, Aildes, Aciomara e Arilane**, e ao meu irmão **Alcione**, “in memoriam”. Juntas, estamos sempre fortalecendo umas às outras e, assim, vamos superando, com a fé que temos em Deus, as tribulações que a vida nos apresenta. Muito obrigado pela confiança que sempre depositaram em mim e pelo apoio incondicional para a realização deste trabalho.*

*Aos meus cunhados, **Cornélio, Norton e Rogério**, e aos meus sobrinhos, **Daniela, Priscila, Hugo, Júlia, Victor, Samuel, Jéssica, Artur, Rafael, Talita, Daiana, Gleisson e Vitória**, pelo amor e disponibilidade para me ajudar a cumprir mais esta etapa da minha vida.*

*Ao meu noivo, **Roberto**, pelo amor, carinho, dedicação e amizade. Você aflorou em mim o desejo de construir uma família que, assim como as dos nossos pais, irá nos unir e se tornar o motivo de nossa existência.*

A todos vocês, o meu mais profundo agradecimento pelas alegrias que me proporcionaram e, principalmente, por saber que sempre estarão ao meu lado para o que for necessário.

Agradeço:

Ao **Prof. Dr. Roberto Calderon Gonçalves** pela orientação, ensinamentos, amizade e oportunidade de realizar meu doutorado na FMVZ/UNESP/Botucatu.

Aos professores da Clínica de Grandes Animais da FMVZ/UNESP/Botucatu **Dr. Márcio Rubens Graf Kuchembuck, Dr. Simone Biagio Chiacchio, Dr. Alexandre Secorun Borges e Dr. Rogério Martins Amorim**, pelo agradável convívio e oportunidade de realizar este trabalho nas dependências da Clínica e, muitas vezes, com recursos do Setor.

Aos professores da FMVZ/UNESP/Botucatu, **Dra. Noeme de Sousa Rocha, Dra. Regina Kiomi Takahira, Dra. Jaqueline Mamprim e Dr. Antonio Carlos Paes**, pela amizade e inestimável colaboração na realização deste trabalho, com ensinamentos e disponibilização de material e laboratórios.

Aos professores da IB/UNESP/Botucatu, **Dra. Maria de Lourdes R. S. da Cunha e Dra. Teresinha Perazzoli**, pelas sugestões e oportunidade de utilizar seus laboratórios para desenvolver esta pesquisa.

Aos Professores aposentados da UNESP/Botucatu, **Dra. Maria Aparecida Mourão Brasil e Dr. Paulo Roberto Curi**, pela consultoria na área de estatística.

Ao Professor aposentado da FMVZ/UNESP/Botucatu, **Dr. Cid Figueiredo**, pela amizade, ensinamentos e oportunidades profissionais a mim oferecidas.

Aos Professores da Clínica de Ruminantes da EV-UFMG, **Dr. Paulo Marcos Ferreira e Dr. Elias Jorge Facury Filho**, pelos ensinamentos e amizade inestimáveis.

Ao Professor da Clínica de Ruminantes da EV-UFMG, **Dr. Antônio Último de Carvalho**, amigo ímpar e profissional de competência invejável, que contribui, a cada dia, para minha formação profissional e pessoal.

À Professora de Bovinocultura de Leite da EV-UFMG, **Dra. Sandra Gesteira Coelho**, grande amiga e profissional admirável pela competência, profissionalismo e capacidade de trabalho.

Ao Professor aposentado da EV-UFMG, **Dr. Homem Israel Ferreira**, meu grande mestre e amigo.

Aos Professores de Estatística do Departamento de Zootecnia da EV-UFMG, **Dra. Ângela Lana**, e do Departamento de Ciências Exatas da UFLA, **Dr. Eduardo Bearzoti**, pela valiosa ajuda nas análises estatísticas deste trabalho.

Ao Pós-Graduando do Departamento de Ciências Exatas da UFLA, **Marcelo Cirillo**, pelo processamento das análises estatísticas empregadas nesta tese.

À Professora da Faculdade de Umuarama/PR, **Dra. Lisiane de Almeida Martins**, pela valiosa ajuda na produção dos inóculos utilizados nesta pesquisa.

Aos pós-graduandos, **Louisiane e Paulinho**, aos residentes **Kazu, Leonardo, Ranielli, José Filho, Andressa, Camila, Fábio** e à estagiária, **Amanda**, da FMVZ/UNESP/Botucatu, pela ajuda nas colheitas e processamento do material utilizado neste estudo.

Ao técnico do Laboratório de Moléstias Infecciosas do Departamento de Higiene e Saúde Pública Veterinária da FMVZ/UNESP/Botucatu, **Fernando José Paganini Listoni**, pela amizade e ajuda no processamento das amostras deste trabalho.

Aos funcionários da Clínica de Grandes Animais da FMVZ/UNESP/Botucatu, **Irineu, Marcão e Vado**, pela amizade e ajuda nas colheitas das amostras deste trabalho.

Aos colegas da UFLA/MG, **Profa. Gabriela Rodrigues Sampaio e Prof. Dr. Carlos Artur Lopes Leite**, meus grandes amigos, pela ajuda e companheirismo durante esta etapa da minha vida.

Aos amigos do Curso de Pós-graduação da FMVZ/UNESP/Botucatu, **Thaís, Caio, Graziela, Ana Cláudia, Joandes, Porfírio, Leomar, Louisiane, Mércia, Edna e Ana Assis**, pelo agradável convívio durante o curso.

Aos amigos Botucatuenses, **Rose, Waltinho, Alexandre, Bruno, Débora, Letícia, Bárbara, Rosemary, Carolina e Aline**, que, muitas vezes, supriram a falta dos meus familiares e serão sempre lembrados com carinho.

Aos Laboratórios Veterinários, **Merial e Schering-Ploug Coopers**, divisão de Pecuária Leiteira, pelo apoio para a realização desta pesquisa.

A **Deus**, que sempre me fortaleceu e munuiu de perseverança para enfrentar as dificuldades da vida. Hoje, se Doutora for, louvo a Deus.

RESUMO

COUTINHO, A.S. **Mannheimiose pneumônica experimentalmente induzida em bezerros pela *Mannheimia (Pasteurella) haemolytica* A1- cepa D153: achados do exame físico, hemograma e swabs nasal e nasofaríngeo.** Botucatu, 2004. 186p. Tese de Doutorado - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista.

A *Mannheimia haemolytica* A1 é o agente etiológico da Mannheimiose Pneumônica Bovina (MPB), uma doença de grande importância econômica. Um modelo experimental de MPB foi utilizado com o objetivo de avaliar os sinais clínicos, as alterações hematológicas e as espécies bacterianas das cavidades nasais e nasofaríngeas de bezerros com MPB, em diferentes momentos do curso da doença. Um total de 28 bezerros foi dividido em sete lotes e os bezerros de cada lote foram distribuídos aleatoriamente em cada um dos quatro grupos. Cada grupo foi avaliado em um momento do curso da MPB: grupo I às 12, grupo II às 24, grupo III às 48 e grupo IV às 72 horas após a inoculação. Após incubação por cinco horas, a 37°C e sob rotação de 150 ciclos/min, os inóculos da cepa D153 de *M. haemolytica* A1, com concentrações variando entre $1,5 \times 10^8$ a $8,20 \times 10^9$ UFCs (Unidades Formadoras de Colônias), foram infundidos na região da carina em todos os bezerros de cada lote, por via transtraqueal, enquanto eram mantidos em decúbito lateral direito. As respostas dos bezerros de cada grupo, I a IV, à *M. haemolytica* A1 foram caracterizadas por: hipertermia e taquicardia, com a temperatura corporal e a frequência cardíaca tendendo a ser mais baixa nos grupos I a III e alcançando valores mais elevados no grupo IV. A frequência respiratória aumentou em todos os grupos após a inoculação, com os valores dos grupos III e IV tendendo a ser mais elevados. Os sinais clínicos qualitativos da MPB que indicaram alterações da condição física geral, do sistema cardiovascular e alterações oculares tenderam a melhorar à medida que a doença progrediu, quando os quatro grupos foram comparados. Adicionalmente, a frequência da secreção nasal mucosa e a intensidade da secreção nasal muco-purulenta tenderam a aumentar, concomitantemente com o aumento da frequência e da intensidade das tosse espontâneas e induzidas, as quais tenderam a ser mais úmidas e produtivas. Todos os grupos demonstraram algum grau de atividade respiratória anormal, a qual variou de hiperpnéia a dispnéia mista, com dispnéia inspiratória tendendo a diminuir e a dispnéia expiratória tendendo a aumentar do grupo I para o IV. Além disso, o ruído respiratório laringotraqueal tendeu a ser mais intenso com a evolução da MPB, especialmente durante a expiração. Os ruídos traqueo-brônquico e brônquio-bronquiolares nos lados direito e esquerdo foram mais audíveis na maioria dos animais após a inoculação, mas estes sinais não demonstraram tendência de aumento do grupo I para o IV. A auscultação de ruídos traqueo-brônquicos relativamente menos intensos nas extremidades dos campos cranioventrais do pulmão direito tendeu a ser mais frequente com o aumento do tempo de inoculação. Entre os ruídos adventícios traqueais, crepitação grossa e sibilo, e torácicos, crepitação grossa, sibilo, inspiração interrompida, roce pleural e aumento da propagação dos batimentos cardíacos, apenas as crepitações

grossas no campo cranioventral do pulmão direito tenderam a ser mais freqüentes e intensas do grupo I para o IV. A presença de sub-macicez na extremidade do campo cranioventral do pulmão direito também tendeu a aumentar. As alterações no número de hemácias, concentração de hemoglobina e volume globular nos grupos I a IV foram importantes. As leucocitoses decorrentes de neutrofilias, com os desvios para a esquerda, mostraram tendências de diminuição com a evolução da MPB, sendo expressiva no grupo I e significativamente mais baixas nos grupos III e IV ($P < 0,05$). As alterações observadas nas contagens de linfócitos, eosinófilos, basófilos e monócitos após a indução da MPB não foram importantes. Após a indução da MPB, a *M. haemolytica* biotipo A foi a bactéria predominante, sendo isolada em 27 swabs nasais (96,43%) e em 28 swabs nasofaríngeanos (100%). A freqüência da *P. multocida* tendeu a aumentar, sendo isolada em 10 swabs nasais (35,71%) e 14 nasofaríngeanos (50,0%).

Palavras-chave: diagnóstico; doenças respiratórias; bovinos; *Mannheimia haemolytica*

ABSTRACT

COUTINHO, A.S. **Experimental pneumonic mannheimiosis induced in calves with *Mannheimia (Pasteurella) haemolytica* A1- D153 strain: physical examination, total blood cell count and nasal and nasofaringean swabs findings.** Botucatu, 2004. 186p. Tese de Doutorado - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista.

Mannheimia haemolytica A1 is the etiologic agent of Bovine Pneumonic Mannheimiosis (BPM), a disease of great economic importance. An experimental model of BPM was utilized with the objective of evaluating the clinical signs, hematologic changes and the bacterial species of the nasal and nasopharynx cavities of calves with BPM at different moments of the course of the disease. A total of 28 calves were divided in seven blocks, and the calves of each block were randomized to take part in one of four groups. Each group was evaluated at one moment of the course of BPM: group I at 12, II at 24, III at 48 and IV at 72 hours after inoculation. After incubation for 5 hours at 37°C and under rotation of 150 cycles/min, the inoculums of the D153 strain of *M. haemolytica* A1, with concentrations varying between $1,5 \times 10^8$ a $8,20 \times 10^9$ CFU (Colonies Forming Unit), were infused at the karin region in all calves of each block, through transtraqueal route, while the calves were in right side lying. The reaction of the calves of each group (I to IV) to *M. haemolytica* A1 was characterized by: hipertermia and tachycardia, with body temperature and heart rate tending to be lower in groups I to III and reaching higher values in group IV. Respiratory rate increased in all groups after inoculation, with the values of groups III and IV tending to be higher. BPM qualitative clinical signs which indicated alterations of general physical condition, alterations of the cardiovascular system and ocular changes tended to improve along the progression of the disease when the four groups were compared. Additionally, the frequency of the mucous nasal secretion and the intensity of the mucous purulent nasal secretion tended to increase concomitantly with the increase in frequency and intensity of spontaneous and induced coughing, which tended to be more humid and productive. All groups demonstrated some degree of abnormal respiratory activity, which varied from hyperpnea to mixed dyspnea, with inspiratory dyspnea tending to decrease and expiratory dyspnea tending to increase from groups I to IV. Furthermore, the breath sound heard in larynx-tracheal segment tended to be more intense with the evolution of BPM, specially during expiration. The tracheo-bronchial and broncho-bronchiolar sounds at the right and left sides were more audible in the majority of the animals after inoculation, however these signs did not demonstrate any tendency to increase from groups I to IV. The hearing of relatively less intense tracheo-bronchials sounds at the extremity of the right anterior ventral lung field tended to be more frequent with the increase in time of inoculation. Among the tracheal adventitious sounds, crackles and wheezes, and thoracic adventitious sounds, crackle, wheeze, discontinuous inspiration, pleural friction rubs and increase in the hearing area of the heart beats, only the crackles in the right anterior ventral lung field tended to be more frequent

and intense from groups I to IV. The presence of dullness at the extremity of the right anterior ventral lung field also tended to increase. The alterations in the red blood cell count, hemoglobin concentration and packed cell volume observed in the groups I to IV were not important. The leucocytosis due to neutrophilia, with left shifts, demonstrated tendencies to decrease with the evolution of BPM, being expressive at group I and significantly lower at groups III and IV ($P < 0,05$). The alterations observed in the lymphocytes, eosinophils, basophils and monocytes counts after the induction of BPM were unimportant in all groups. After the induction of BPM, the *M. haemolytica* biotype A was the predominant bacterium, being isolated in 27 nasal swabs (96,43%) and in 28 nasofaringean swabs (100%). The frequency of *P. multocida* tended to increase, being isolated in 10 nasal swabs (35,71%) and 14 nasofariangean swabs (50,0%).

Key words: diagnostic; respiratory diseases; bovines; *Mannheimia haemolytica*

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	23
2. REVISÃO DE LITERATURA	29
3. OBJETIVOS.....	60
4. MATERIAL E MÉTODOS	61
4.1. MATERIAL	61
4.1.1 Animais	61
4.1.2 Lotes e Grupos Experimentais	62
4.1.3 Delineamento Experimental	63
4.1.3.1 Fase de adaptação	63
4.1.3.2 Fase controle	63
4.1.3.3 Inoculação	64
4.1.3.4 Fase experimental	65
4.2. MÉTODOS	65
4.2.1 Exame Físico	66
4.2.2 Hemograma	67
4.2.3 Exame Microbiológico das VAAs	68
4.2.4 Inoculação	72
4.2.4.1 Produção do inóculo de <i>Mannheimia haemolytica</i> A1 – cepa D153	72
4.2.4.2 Infusão do inóculo de <i>M. haemolytica</i> A1.....	81
4.2.5 Documentação fotográfica	82
4.2.6 Eutanásia	82
4.2.7 Análise estatística	83
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	85
5.1 Exame Físico	85
5.2 Hemograma	124
5.3 Exames Microbiológicos das VAAs	147
6. CONCLUSÕES	155
7. REFERÊNCIAS	156
8. ANEXOS	178

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Protocolos utilizados na produção de inóculos de <i>M. haemolytica</i> A1 para indução da Mannheimiose Pneumônica em bezerros, ordenados pelo ano de publicação	44
Tabela 2. Valores médios absolutos da Temperatura Corporal (T °C), Freqüência Respiratória (FR) e Freqüência Cardíaca (FC) de bezerros sadios antes, variação basal, e em diferentes momentos do curso da Mannheimiose Pneumônica Bovina experimental, ordenados conforme o ano de publicação	47
Tabela 3. Valores médios absolutos dos componentes do hemograma de bezerros sadios antes, variação basal, e em diferentes momentos após a indução experimental da Mannheimiose Pneumônica Bovina com inóculos com diferentes concentrações de <i>M. haemolytica</i> A1, ordenados conforme o ano de publicação	58
Tabela 4. Faixas de variação dos escores de intensidade utilizados para classificação da Temperatura corporal (TC) e das Freqüências Cardíaca (FC) e Respiratória (FR) em normal (e0) ou de suas elevações, após a indução da Mannheimiose Pneumônica Bovina pela cepa D153 da <i>M. haemolytica</i> A1 nos bezerros dos grupos GI a GIV, nos níveis de intensidade leve (e1), moderada (e2) e grave (e3)	67
Tabela 5. Determinação retrospectiva do número de unidades formadoras de colônias (UFC) da cepa D153 de <i>M. haemolytica</i> A1, após 24 horas de incubação em placas de ágar-sangue em	

após 24 horas de incubação em placas de ágar-sangue em aerobiose, a 37°C, e valores da densidade óptica (DO) dos inóculos infundidos nos bezerros do lotes experimentais, L1 a L7, obtidos por espectrofotometria em comprimento de onda de 540 nm e DO igual a um, para os tempos de 30 minutos e primeira à sétima hora de incubação.....	79
Tabela 6. Totais de UFCs, por mililitro e na dose total do inóculo, diluição, volume e densidade óptica (DO) dos inóculos da cepa D153 de <i>M. haemolytica</i> A1 na 5ª hora de incubação a 37°C, sob agitação constante de 150 ciclos/minuto, e volume de BHI estéril infundidos nos 28 bezerros dos lotes experimentais, L1 a L7.....	80
Tabela 7. Comparação entre as médias da Temperatura Corporal (TC), Freqüência Cardíaca (FC) e Freqüência Respiratória (FR), obtidas sete dias antes da inoculação da cepa D153 da <i>M. haemolytica</i> A1, variação basal, e às 12, 24, 48 e 72 horas após a indução da Mannheimiose Pneumônica Bovina, respectivamente, nos bezerros dos grupos GI a GIV.....	86
Tabela 8. Efeito do fator lote, L1 a L7, e do fator grupo sobre as médias da Temperatura Corporal (TC), Freqüência Cardíaca (FC) e Freqüência Respiratória (FR) determinadas nos bezerros dos grupos GI a GIV, respectivamente, às 12, 24, 48 e 72 horas após a indução da Mannheimiose Pneumônica Bovina com a cepa D153 de <i>M. haemolytica</i> A1.....	93

Tabela 9. Comparação entre as médias da Frequência Respiratórias (FR) obtidas às 12, 24, 48 e 72 horas após a indução da Mannheimiose Pneumônica Bovina pela cepa D153 da <i>M. haemolytica</i> A1, respectivamente, nos bezerros dos grupos GI a GIV.....	96
Tabela 10. Comparação entre as médias \pm desvio padrão do número de hemácias, concentração de hemoglobina, volume globular e números de leucócitos, metamielócitos, neutrófilos bastonetes, neutrófilos segmentados, linfócitos, monócitos, eosinófilos e basófilos obtidas sete dias antes da inoculação da cepa D153 da <i>M. haemolytica</i> A1, variação basal, e 12, 24, 48 e 72 horas após a indução da Mannheimiose Pneumônica Bovina, respectivamente, nos bezerros dos grupos GI a GIV.....	125
Tabela 11. Efeito do fator lote, L1 a L7, e do fator grupo sobre os valores médios do número de hemácias (He), concentração de hemoglobina (Hb), volume globular (VG) e números de leucócitos (Le), metamielócitos (Me), neutrófilos bastonetes (NeB), neutrófilos segmentados (NeS), linfócitos (Li), eosinófilos (Eo), basófilos (Bf) e monócitos determinados antes da inoculação da cepa D153 de <i>M. haemolytica</i> A1, variação basal, e às 12, 24, 48 e 72 horas após a indução da Mannheimiose Pneumônica Bovina, respectivamente, nos bezerros dos grupos GI a GIV.....	126

Tabela 12. Comparação entre os grupos GI a GIV em relação às medias absolutas da contagem de hemácias (He) e do volume globular (VG), determinados antes da indução da Mannheimiose Pneumônica Bovina com a cepa D153 da <i>M. haemolytica</i> A1.....	128
Tabela 13. Comparação entre os grupos GI a GIV, respectivamente 12, 24, 48 e 72 horas após a indução da Mannheimiose Pneumônica Bovina com a cepa D153 da <i>M. haemolytica</i> A1, em relação às médias absolutas de leucócitos (Le), bastonetes (Bt) e neutrófilos segmentados (Se)	144
Tabela 14. Comparação entre os grupos GI a GIV em relação às taxas de isolamento dos diferentes agentes bacterianos nos <i>swabs</i> nasal (SN) e nasofaríngeo (SNF) antes e após a indução da Mannheimiose Pneumônica Bovina com a cepa D153 de <i>M. haemolytica</i> A1, considerando os lotes, L1 a L7, como bloco.....	147
Tabela 15. Totais de isolamento de agentes bacterianos, em valores absolutos e relativos, nos <i>swabs</i> nasal (SN) e nasofaríngeo (SNF) dos quatro grupos experimentais, GI a GIV, antes e após a indução da Mannheimiose Pneumônica Bovina com a cepa D153 de <i>M. haemolytica</i> A1.....	148

Tabela 16. Comparação entre as frequências de isolamento de agentes bacterianos nos *swabs* nasal (SN) e nasofaríngeo (SNF) antes da inoculação da cepa D153 de *M. haemolytica* A1, flora normal, e às 12, 24, 48 e 72 horas após o início da Mannheimiose Pneumônica Bovina, respectivamente, nos grupos GI a GIV..... 152

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Visão panorâmica do bezerreiro e do piquete (1); Detalhes do conjunto de três baias, da tela e das aberturas na metade superior das paredes externas do bezerreiro (2); e Divisórias de madeira para evitar o contato direto entre os bezerros (3) 62
- Figura 2.** Material de colheita das secreções nasal e nasofaríngea (1). Procedimentos de colheita da secreção nasofaríngea: (2) anti-sepsia da narina; (3) sonda-guia; (4) introdução da sonda-guia até a nasofarínge; (5) passagem do *swab* por dentro da sonda-guia; (6) retirada do *swab* dentro da sonda guia, para proteção; (7) acondicionamento do *swab* em tubo contendo meio de transporte de Stuart..... 69
- Figura 3.** Cepa de *Mannheimia haemolytica* A em ágar-sague bovino (5%), apresentando halos de β -hemólise no entorno das colônias (1), colônias diminutas (\pm 1mm) de *M. haemolytica* A em ágar de McConkey (2) e colônias de *Pasteurella multocida* em ágar-sangue bovino (5%), sem β -hemólise (3) 70
- Figura 4.** Perfil bioquímico de uma cepa de *Mannheimia haemolytica* A: (1) Urease negativa; (2) MIO - mobilidade, indol e ornitina decarboxilase – negativas; (3) maltose, (4) glicose, (5) lactose, (6) sacarose, (7) manitol e (8) arabinose positivas e (9) trealose negativa; (10) testemunha 71

Figura 5. Fluxograma de produção do inóculo de <i>M. haemolytica</i> A1, cepa D153	76
Figura 6. Seqüência de procedimentos utilizados na inoculação: (1), Contenção do bezerro em decúbito lateral direito e preparo da área; (2), Introdução da agulha do cateter; (3), Passagem do cateter pela agulha; (4), Extremidade interna do cateter posicionada no terço final da traquéia; (5), Adaptação da seringa com o inóculo ao cateter e infusão do inóculo da cepa D153 de <i>M. haemolytica</i> A1; (6), Infusão de caldo BHI para esvaziamento e lavagem do cateter	82
Figura 7. Bezerro do grupo GI (12h) em decúbito esternal, apresentado depressão leve (A); Bezerro do grupo GI (12h), apresentado depressão moderada, com cabeça e pescoço abaixados, e leve abdução do cotovelo (B); Bezerro do grupo GIV (72h), apresentando distensão da cabeça e pescoço, abertura dos membros torácicos e respiração com a boca aberta (C).....	100

LISTA DE GRÁFICOS

- Gráfico 1.** Valores médios da Temperatura Corporal (TC), Freqüência Cardíaca (FC) e Freqüência Respiratória (FR), aferidas antes da inoculação da cepa D153 de *M. haemolytica* A1, variação basal, e às 12, 24, 48 e 72 horas após a indução da MPB, respectivamente, nos bezerros dos grupos GI a GIV..... 87
- Gráfico 2.** Valores médios absolutos do número de hemácias (superior), concentração de hemoglobina (central) e volume globular (inferior), obtidos antes da inoculação da cepa D153 de *M. haemolytica* A1, variação basal, e às 12, 24, 48 e 72 horas após a indução da Mannheimiose Pneumônica Bovina, respectivamente, nos bezerros dos grupos GI a GIV..... 129
- Gráfico 3.** Valores médios absolutos do número de leucócitos e de neutrófilos metamielócitos, bastonetes e segmentados obtidos antes da inoculação da cepa D153 de *M. haemolytica* A1, variação basal, e às 12, 24, 48 e 72 horas após a indução da Mannheimiose Pneumônica Bovina, respectivamente, nos bezerros dos grupos GI a GIV..... 133
- Gráfico 4.** Valores médios absolutos do número de linfócitos, monócitos, eosinófilos e basófilos obtidos antes da inoculação da cepa D153 de *M. haemolytica* A1, variação basal, e às 12, 24, 48 e 72 horas após a indução da Mannheimiose Pneumônica Bovina, respectivamente, nos bezerros dos grupos GI a GIV..... 139

Gráfico 5. Frequências totais de isolamento bacteriano, em %, nos *swabs* nasais (SN), acima, e *swabs* nasofaríngeanos (SNF), abaixo, colhidos antes e após a indução da Mannheimiose Pneumônica Bovina com a cepa D153 de *M. haemolytica* A1 nos quatro grupos experimentais GI a GIV..... 149

LISTA DE ABREVIATURAS

ABREVIATURAS

SIGNIFICADOS

Bf	Basófilos
ICC	Infusão Cérebro-Coração
bpm	batimentos por minuto
CCAC	Canadian Council on Animal Care
ciclos/min	ciclos por minuto
CDRB	Complexo das Doenças Respiratórias Bovinas
DO	Densidade Óptica
SSTP	Solução Salina Tamponada com Fosfato
EDTA-potássico	Ácido etilenodiaminotetracético de potássio
Eo	Eosinófilos
FC	Frequência Cardíaca
FMVZ	Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia
FNT- α	Fator de Necrose Tumoral - α
FR	Frequência Respiratória
g	gravidade
h	hora
Hb	Hemoglobina
He	Hemácias

HV	Hospital Veterinário
IgA	Imunoglobulina A
IgG	Imunoglobulina G
IL- 1 β	Interleucina - 1 β
IL-8	Interleucina 8
Le	Leucócitos
Li	Linfócitos
LKT	Leucotoxina
LPS	Lipopolissacarídeo
LTB ₄	Leucotrieno B ₄
MAPs	Macrófagos Alveolares Pulmonares
Me	Metamielócitos
MIO	Mobilidade, Indol e Ornitina dextracarboxilase
mL	mililitro
mm	milímetro
mm ³	milímetro cúbico
Mo	Monócitos
MPB	Mannheimiose Pneumônica Bovina
mpm	movimentos por minuto
NeB	Neutrófilos bastonetes
NeS	Neutrófilos segmentados

nm	nanômetros
°C	Graus centígrados
q.s.p.	quantidade suficiente para
RBB	Ruído Brônquico-Bronquiolar
RLT	Ruído Laringo-Traqueal
RTB	Ruído Traqueo-Brônquico
SN	<i>Swab</i> nasal
SNF	<i>Swab</i> nasofaríngeo
TC	Temperatura corporal
UFC	Unidades Formadoras de Colônias
VAAAs	Vias Aéreas Anteriores
VDBV	Vírus da Diarréia Bovina à Vírus
VG	Volume Globular
VPI-3	Vírus da Parainfluenza - 3
VRBI	Vírus da Rinotraqueíte Bovina Infecciosa
VSRB	Vírus Sincicial Respiratório Bovino

1. INTRODUÇÃO

No início da década de 1990, estudos envolvendo hibridização de ADN-ADN, propriedades bioquímicas e análises genéticas permitiram a reclassificação do biotipo T da *Pasteurella haemolytica* como uma nova espécie, denominada *Pasteurella trehalose*, a qual continuou englobando os sorotipos 3, 4, 10 e 15 (BINGHAM et al., 1990; SNEATH & STEVENS, 1990).

No final da década de 1990, as cepas de *Pasteurella haemolytica* do biotipo A isoladas de ruminantes foram reclassificadas com base em investigações compreendendo avaliações quantitativas de dados fenotípicos, ribotipagem, eletroforese de enzimas multiloculares, seqüenciamento de ARNr 16S e hibridização de ADN-ADN (ANGEN et al., 1997a,b,c; ANGEN et al., 1999) e estabeleceu-se um novo gênero, chamado de *Mannheimia*, que é composto por cinco espécies, *M. haemolytica*, *M. glucosida*, *M. ruminalis*, *M. granulomatis* e *M. varigena* (ANGEN et al., 1999).

Atualmente, a *Mannheimia haemolytica* do biotipo A engloba 12 sorotipos, 1, 2, 5-9, 12-14, 16 e 17. O sorotipo 11 do biotipo A da antiga *P. haemolytica* passou a denominar-se *M. glucosida* (ANGEN et al., 2002).

Em 2004, a doença pneumônica bovina causada pela antiga *Pasteurella haemolytica* A1, até então denominada de Pasteurelose Pneumônica Bovina, começou a ser chamada de Mannheimiose Pneumonia Bovina (MPB) por MALAZDREWICH et al. (2004).

De agora em diante neste trabalho, os nomes atuais, *Mannheimia haemolytica* A1, *Pasteurella trealosi* e MPB, serão utilizados em substituição aos termos antigos, respectivamente, *Pasteurella haemolytica* A1, *Pasteurella haemolytica* biotipo T e Pasteurelose Pneumônica Bovina, sempre que estes forem encontrados na literatura consultada.

O complexo das doenças respiratórias bovinas (CDRB) é considerado um importante problema de sanidade animal, pois sua etiologia multifatorial, envolvendo fatores ambientais, condições de manejo e agentes infecciosos (WILKSE, 1990; RADOSTITS et al, 2000; SMITH, 2001), faz com que acarrete perdas econômicas significativas em função de elevadas taxas de mortalidade, taxas de crescimento reduzidas, descarte precoce dos animais acometidos, aumento da idade ao primeiro serviço e ao parto, condenação de carcaças em abatedouros, além dos custos com medicação e mão-de-obra associadas ao tratamento (BLUM et al., 1996; GRIFFIN, 1997; ESSLEMONT & KOSSAIBATI, 1999; VIRTALA et al., 1999).

A MPB é a broncopneumonia de maior prevalência e impacto econômico dentro do CDRB (LILLIE, 1974; REHMTULLA & THOMSON, 1981; RADOSTITS et al, 2000, SMITH, 2001). No ano de 1998, somente a MPB foi responsável por perdas econômicas da ordem 800 milhões de dólares nos Estados Unidos (WEEKLEY et al., 1998a). Pequenos rebanhos bovinos e lotes

de grandes propriedades de produção de leite ou de confinamentos de gado de corte são igualmente acometidos pela MPB (BROGDEN et al., 1998).

No Brasil, levantamentos realizados no Estado de São Paulo obtiveram taxas de incidência de broncopneumonias em bezerros de 12,7% na região de Araçatuba (BARROS et al., 1965/66) e de 12,27% na região de Botucatu (GONÇALVES et al., 2000). Na Clínica de Bovinos de Garanhuns – UFRPE, as broncopneumonias foram a principal causa de atendimento e/ou internamento de bovinos jovens (BARROS et al., 1994).

Até o momento, existem apenas três relatos nacionais de surtos de MPB natural. O primeiro descreveu a doença em 92 bovinos importados da Alemanha, que foram levados para o Estado do Pará (TÚRY et al., 1996). FIGUEIREDO (1997), relatou a ocorrência de 595 focos de MPB no Estado de Minas Gerais, entre 1990 a 1996, com 1540 bovinos doentes e 300 mortos. Em 1999, a MPB acometeu 70% de um rebanho de 18.000 bovinos num confinamento no Estado de São Paulo (GAVA et al., 1999).

Em nenhum destes relatos, o montante dos prejuízos causados pela MPB foi estimado e, segundo FIGUEIREDO (1997), a incidência da MPB no Brasil seria bem maior se não fossem as falhas de diagnóstico e se houvesse maior preocupação em publicar os casos diagnosticados. Diante desse alerta e da estimativa de produção de 37,5 milhões de bezerros/ano no Brasil, num rebanho bovino de aproximadamente 161,8 milhões de cabeças (ANUALPEC, 2001), a MPB pode ser considerada uma doença potencialmente importante para o país. Na opinião de FIGUEIREDO (1997), a MPB é uma doença que

merece ser destacada, dentre aquelas emergentes no Brasil, devido à grande importância econômica para a pecuária nacional.

As manifestações clínicas das broncopneumonias em bovinos refletem o comprometimento do estado geral e da capacidade respiratória dos animais, variando de acordo com a extensão do parênquima pulmonar acometido e, na maioria das vezes, não dependem do tipo de agente infeccioso envolvido (DIRKSEN et al., 1993; RADOSTITS et al., 2000).

A gravidade das broncopneumonias em bezerros é variável (WILKSE, 1990; WILSON & LOFSTEDT, 1990; COLLIE, 1992), mas os sinais clínicos que sugerem lesões de vias áreas inferiores e parênquima pulmonar são indicativos de broncopneumonia se observados isoladamente e, principalmente, quando ocorrem associados (BREEZE, 1985; WILSON & LOFSTEDT, 1990; ANDREWS, 1992; DIRKSEN et al., 1993; RADOSTITIS et al., 1995; REBHUN et al., 1995; GONÇALVES, 1997). Mesmo nas infecções respiratórias experimentais, quando as condições são padronizadas e controladas, é comum notar certa variabilidade na gravidade da doença (THOMAS et al., 1977; LEKEUX et al., 1985).

VESTWEBER et al. (1977), encontraram dificuldade para determinar a intensidade das lesões pulmonares em bezerros com broncopneumonias exclusivamente pelo exame físico. Para RABELING et al. (1998), apenas o exame físico não é suficiente para localizar e avaliar as lesões pulmonares em bezerros, devendo-se lançar mão de métodos diagnósticos auxiliares para melhor caracterizar as lesões pulmonares.

A anamnese, inspeção, percussão, auscultação e olfação são métodos semiológicos de diagnóstico que, quando realizados de maneira correta, se tornam insubstituíveis por quaisquer exames complementares (GONÇALVES, 2000b). O estudo dos sinais clínicos das broncopneumonias de bezerros constituiu-se método eficaz de avaliação da intensidade das lesões pulmonares, permitindo classificar os quadros clínicos em leves, moderados ou graves (CURRLE, 1985) ou em moderados ou graves (GONÇALVES et al., 2001).

O valor diagnóstico do hemograma de bezerros com MPB natural é pouco expressivo, visto que ocorre leucocitose e neutrofilia em alguns animais, e, em outros, pode haver neutropenia ou nenhuma alteração significativa (RADOSTITIS et al., 2000).

Em Botucatu/SP, GONÇALVES (1987) isolou, em lavados traqueobrônquicos, enterobactérias e *Pseudomonas* spp. como os agentes etiológicos mais comuns de bovinos com broncopneumonia. Os agentes *Mycoplasma* spp., *Chlamydia* spp., *Salmonella dublin*, *Arcanobacterium pyogenes*, *P. multocida*, *M. haemolytica* e *Streptococcus* spp. foram isolados de bovinos com pneumonia na região de Cantagalo/RJ (PESAGRO, 1987). Na Universidade Federal de Pernambuco, BARROS et al. (1994) obtiveram taxas de isolamento de enterobactérias, 90,4 e 57,6%, e de cocos Gram-positivos, 19,2 e 50,0%, respectivamente, nas secreções nasal e brônquica de bezerros com broncopneumonia.

Os sinais clínicos, as alterações do hemograma e a flora bacteriana das vias aéreas anteriores (VAAs) de bovinos com broncopneumonias são muito

variáveis. No que diz respeito à MPB, a literatura disponível, sobretudo a nacional, consta de um reduzido número de trabalhos conduzidos com o objetivo de detalhar esses aspectos da doença. Considerando a importância econômica da MPB, torna-se clara a necessidade de pesquisas que gerem conhecimentos mais precisos sobre os sinais clínicos, alterações hematológicas e modificações da flora bacteriana das VAAs dos bovinos em diferentes momentos do curso da doença.

Para o buiatra, a possibilidade de utilizar dados sobre a apresentação clínica e alterações do hemograma e da flora bacteriana das VAAs de bovinos com MPB, sobretudo aquelas que se desenvolvem nos primeiros dias da doença, assume grande importância. Deve-se salientar que, em condições naturais, esta afecção ocorre, a despeito da adoção de medidas profiláticas, na forma de surtos e acomete um número significativo de animais, pois se observa a intercorrência de fatores predisponentes, que, muitas vezes, não podem ser controlados.

Portanto, um diagnóstico precoce, rápido e pouco dispendioso da MPB, e de sua gravidade, é fundamental para a imediata implementação de medidas terapêuticas e profiláticas adequadas, o que pode ser obtido mediante exames físicos, se realizados de forma meticulosa, associados a exames auxiliares, como o hemograma e os cultivos bacteriológicos das secreções das VAAs.

2. REVISÃO DE LITERATURA

Apesar da maior frequência de doenças inflamatórias pulmonares em bovinos, devido a particularidades anatômicas do trato respiratório desta espécie (VEIT & FARREL, 1978; MAZZUCHELLI & RODRIGUEZ, 1995), a constante exposição aos agentes infecciosos ambientais e comensais das vias aéreas anteriores (VAAs) não resulta em processos pneumônicos quando os diferentes mecanismos de defesa do trato respiratório se mantêm íntegros (MAZZUCHELLI & RODRIGUEZ, 1995; WEEKLEY et al., 1998a; ACKERMANN & BROGDEN, 2000).

Os mecanismos de defesa do trato respiratório dos ruminantes se dividem em três processos básicos: (a) *físicos*, como a filtração aerodinâmica e o aparelho mucociliar; (b) *secretórios*, representados pelas proteínas do surfactante, imunoglobulinas IgA e IgG, peptídeo antimicrobiano traqueal, peptídeos catiônicos, peroxidase, lactoferrina, lisozima, proteína indutora de permeabilidade bacteriana-1, proteína inibidora de leucoprotease secretória e outras substâncias solúveis presentes no líquido de revestimento do epitélio respiratório; (c) *celulares*, representados principalmente pelos macrófagos alveolares pulmonares (MAPs), células que mantêm a integridade pulmonar

devido à capacidade de destruir microrganismos, atuar como célula assessora em respostas imunes, recrutar e ativar outras células inflamatórias e manter e reparar o parênquima pulmonar (MANZ-KEINLE et al., 1982; WILKIE, 1982; ANDERSON et al., 1986; BROGDEN, 1992; BROGDEN et al., 1997; BROGDEN et al., 1998a,b; ACKERMANN & BROGDEN, 2000; RADOSTITS et al., 2000; SMITH, 2001).

Falhas na transferência de imunidade passiva são associadas à mortalidade de bovinos jovens por pneumonia (THOMAS & SWANN, 1973). Segundo HUSHAND et al. (1972), as imunoglobulinas colostrais alcançam as concentrações máximas no soro dos bezerros às 24 horas após o nascimento, sendo catabolizadas até alcançarem os mais baixos níveis ao redor de 30 dias de vida.

Os títulos de anticorpos séricos contra *M. haemolytica* A1 são um indicador de resistência contra a MPB em bezerros, uma vez que os animais com títulos mais baixos são aqueles que desenvolvem quadros mais graves da doença, quando comparados aos bezerros com títulos mais elevados (THOMSON et al., 1975).

CONFER et al. (1988), relataram correlação positiva significativa entre elevadas concentrações séricas de anticorpos passivos e resistência dos bezerros ao desafio transtorácico com a *M. haemolytica* A1, recomendando a avaliação do título de anticorpos nos animais que serão submetidos a desafios experimentais. SHEVEN (2001)[†], salientou a necessidade de descartar os bezerros que apresentam títulos de anticorpos contra *M. haemolytica* A1 acima

[†] SHEWEN, P.E. Help in research with *Pasteurella haemolytica* A1. Comunicação pessoal, 2001.

de 1/32 no teste de neutralização sérica, pois, provavelmente, estes animais não desenvolveriam a MPB ou a doença experimental seria muito discreta, não se prestando à utilização em pesquisas.

A flora bacteriana comensal das narinas de bezerros sadios é muito diversificada, sendo a *P. multocida*, *M. haemolytica* A1, *P. pseudotuberculosis*, *Francisella tularensis*, *E. coli*, *Klebsiella* spp., *Shigella* spp., *Proteus* spp., *Haemophilus* spp., *Neisseria* spp., *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp., *Micrococcus* spp. e *Pneumococcus* spp. os isolados mais comuns (PASS & THOMSON, 1971).

Dentre os agentes bacterianos mais importantes da flora comensal das narinas de bezerros sadios (*Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp., *M. haemolytica*, *Neisseria catarrhalis*, *Escherichia coli*, *Micrococcus* spp., *Arcanobacterium* spp. e *Pseudomonas* spp.), o *Staphylococcus* spp. foi o mais freqüentemente isolado (WOLDEIHIWET et al., 1990).

MAGWOOD et al. (1969), classificaram a flora bacteriana das VAAs de 272 bezerros de 12 rebanhos Canadenses em três categorias:

1) Flora *basal*: Aquela cujas espécies foram amplamente distribuídas na população de bezerros, incluindo *P. multocida* (61,3%), *M. haemolytica* (23,0%), *Neisseria catarrhalis* (46,3%), *Micrococcus* spp. (53,3%), *Streptococcus* beta-hemolítico (10,3%);

2) Flora *suplementar*: Aquela composta de espécies capazes de colonizar a mucosa nasal, como *Moraxella duplex* (5,1%), *Moraxella saccharolytica* (0,2%), *Haemophilus parainfluenzae* (0,6%), *Diplococcus*

pneumonia (0,1%), *Arcanobacterium pyogenes* (0,2%), corinebactérias saprófitas (0,2%) e *Streptococcus* spp. (15,2%);

3) Flora *transitória*: Aquela considerada originária do ambiente e que, em geral, é incapaz de colonizar a mucosa nasal, como as enterobactérias - *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Paracolonobacterium* spp., *Proteus* spp., com 8,2% – e os “gêneros das poeiras” – *Flavobacterium*, *Chromobacterium*, *Streptomyces*, *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Serratia* e *Lactobacillus*, com 23,4%.

As bactérias da família *Enterobacteriaceae* são organismos ubíquos, podendo ser encontrados no solo, cama, água e pastagens utilizadas pelos bovinos (LILLIE, 1974). Quando isoladas das VAAs de bovinos sadios, as enterobactérias são consideradas contaminantes (COLLIER & ROSSOW, 1964).

O gênero *Bacillus* também é onipresente e o isolamento das diferentes espécies em amostras das VAAs de animais é vista como uma contaminação insignificante na ausência de doença respiratória característica (MURRAY et al., 1999).

Os diferentes sorotipos da *M. haemolytica* são comensais das VAAs de bovinos sadios (MAGWOOD et al., 1969; PASS & THOMSON, 1971; WOLDEIHIWET et al., 1990), mas, em geral, são encontrados apenas em pequenas quantidades (PASS & THOMSON, 1971; YATES, 1982; PANCIERA & CORSTVET, 1984; WILKIE & SHEWEN, 1988) e por curtos períodos de tempo, na maioria das vezes inferiores há um dia (FRANK et al., 1986). O sorotipo A1 é encontrado em menores quantidades que o A2, que é o sorotipo

mais freqüentemente isolado das VAAs de bovinos sadios (PASS & THOMSON, 1971; YATES, 1982; FRANK & WESSMAN, 1978).

A *M. haemolytica* A1 foi isolada das tonsilas e/ou linfonodos retrofaringeanos de bezerros em que cultivos microbiológicos das secreções nasais foram negativos para este agente (FRANK & BRIGGS, 1992). Após estresse por transporte, os cultivos das secreções nasais dos bezerros se tornaram positivos para *M. haemolytica* A1, sugerindo que o estresse tenha estimulado os carreadores tonsilares sãos a se tornarem disseminadores nasais (FRANK et al., 1994). Estes achados indicam que o epitélio nasal pode não ser o único ou, até mesmo, o mais importante local de persistência da *M. haemolytica* A1 em bovinos carreadores sãos, devendo-se atribuir maior importância ao tecido linfóide da nasofaringe (SHOO et al., 1990).

Além da *M. haemolytica* A1, bactérias como *P. multocida*, *P. trealose*, *Haemophilus somnus*, *Arcanobacterium pyogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Streptococcus* spp., *Staphylococcus* spp., *Micrococcus* spp., *Moraxella* spp., *Salmonella* spp., *Bacteroides nodosus* e *Fusobacterium* spp. foram isoladas dos pulmões de bovinos que apresentaram casos naturais de MPB (WRAY & THOMPSON, 1973; REHMTULLA & THOMSON, 1981; FRANK & SMITH, 1983; ALLAN et al., 1985b; JUBB et al., 1985; FRANK et al., 1986; TÚRY et al., 1996; BARRAGRY et al., 1994; WEEKLEY et al., 1998a; RADOSTITS et al., 2000; SMITH, 2001).

A quantidade de organismos de *M. haemolytica* A1 e *P. multocida* presente nos swabs nasais de bovinos com MPB aguda é bem mais elevada que aquelas recuperadas de animais sadios (THOMSON et al., 1975;

RADOSTITS et al., 2000). Segundo GREY & THOMSON (1971), a *M. haemolytica* A1 se proliferou mais intensamente nas VAAs de bovinos com MPB, em comparação com animais sadios, tornando-os mais propensos a inalar maiores quantidades desta bactéria.

Segundo ALLAN et al. (1985b), a *M. haemolytica* A1 foi isolada da nasofaringe, tonsilas, traquéia, lobos do pulmão direito e linfonodos brônquicos nos dias dois, três, seis, nove e 10 após a inoculação em todos os bezerros inoculados com 2×10^9 e 8×10^{11} UFCs deste organismo.

Por tratar-se de um agente oportunista, a *M. haemolytica* A1 necessita da ação sinérgica de fatores predisponentes, que, individualmente ou em associação, enfraquecem os mecanismos de defesa do trato respiratório dos bovinos e, dessa forma, induzem o desenvolvimento dos quadros clássicos de MPB natural. Dentre as situações que podem causar estresse físico aos animais, são comuns: falhas de transferência de imunidade passiva; deficiências nutricionais; desmama; mudanças alimentares; cirurgias como descorna e castração; fome, desidratação e exaustão durante o transporte; mistura de animais de diferentes origens e faixas etárias em espaços restritos nas feiras e leilões; ventilação inadequada, com níveis elevados de umidade e gases de dejetos, dentro das instalações; quantidades excessivas de lama em confinamentos; e cargas elevadas de parasitos (THOMSON et al., 1969; WRAY & THOMPSON, 1973; LILLIE, 1974; THOMSON et al., 1975; REHMTULLA & THOMSON, 1981; YATES, 1982; FRANK & SMITH, 1983; JUBB et al., 1985; GILMOUR & GILMOUR, 1989; BROGDEN et al., 1998a;

WEEKLEY et al, 1998a; BARRAGRY et al., 1994; RADOSTITS et al., 2000; SMITH, 2001).

Além dos estresses físicos, os infecciosos, como ocorre nas infecções do trato respiratório pelo vírus da parainfluenza 3 - VPI-3, vírus da rinotraqueíte bovina infecciosa - VRBI (FRANK et al., 1986), vírus sincicial respiratório bovino - VSRB (ROSENQUIST, 1974) e vírus da diarreia bovina a vírus - VDBV (POTGIETER et al., 1984), também predispõem os bovinos ao desenvolvimento da MPB natural, uma vez que estes vírus criam condições que permitem à *M. haemolytica* A1 colonizar maciçamente a nasofaringe (JUBB et al., 1985; GILMOUR & GILMOUR, 1989; RADOSTITS et al., 2000; BARRAGRY & POWERS, 1994; SMITH, 2001). Os vírus reduzem a capacidade do trato respiratório para eliminar patógenos bacterianos, pois, ao lesarem o epitélio ciliado das VAAs e/ou diminuir a capacidade de fagocitose ou o potencial bactericida dos macrófagos alveolares, debilitam a resposta imune local (THOMSON et al., 1975; JAKAB, 1982; JUBB et al., 1985; GILMOUR & GILMOUR, 1989; BROGDEN et al., 1998a; SMITH, 2001).

Diferentes fatores de virulência, ligados às células ou secretados pelos organismos de *M. haemolytica* A1, enfraquecem ainda mais os mecanismos de defesa do trato respiratório dos bovinos e, ao mesmo tempo em que possibilitam a multiplicação maciça da *M. haemolytica* A1 nas VAAs, participam do desenvolvimento das lesões pulmonares clássicas da MPB. Dentre os fatores de virulência envolvidos na patogênese da MPB, citam-se as fímbrias (MORCK, 1988), o polissacarídeo capsular (WHITELEY et al., 1990), enzimas como a superóxido dismutase (ROWE et al., 1997), as proteases de

imunoglobulinas (LEE & SHEWEN, 1996) e a neuraminidase (STRAUS et al., 1993), o lipopolissacarídeo (LPS) capsular e uma leucotoxina (LKT) exotóxica, sendo os dois últimos considerados de maior importância na inflamação aguda provocada pela *M. haemolytica* A1 (CONFER & SIMONS, 1986; WHITELEY et al., 1990; WHITELEY et al., 1991b; MAHESWARAN et al., 1993; BROGDEN et al., 1998a; ACKERMANN & BROGDEN, 2000).

O LPS da *M. haemolytica* A1 induz os MAPs a secretarem citocinas inflamatórias como a interleucina 8 (IL-8), o fator de necrose tumoral - α (FNT- α) e a interleucina 1 β (IL-1 β) (YOO et al., 1995; LAFLEUR et al., 1998; MORSEY et al., 1999), deflagrando um profundo estado pró-coagulante que resulta em extensa polimerização de fibrina no tecido pulmonar de bovinos com MPB (CAR et al., 1991). Outros mediadores inflamatórios liberados pelo pulmão bovino em resposta ao LPS da *M. haemolytica* A1 incluem leucotrieno B₄ (LTB₄), histamina e prostaglandina E-2 (SABAN et al., 1997; CUDD et al., 1999).

A LKT é secretada durante a fase de crescimento logarítmico da *M. haemolytica* A1 (SHEWEN & WILKIE, 1982, SHEWEN & WILKIE, 1985). Quando em concentrações elevadas, esta exotoxina é altamente citotóxica para os leucócitos e as plaquetas de ruminantes, provavelmente por induzir a formação de poros e outros defeitos de membrana (BALUYUT et al., 1981; SHEWEN & WILKIE, 1982; SUTHERLAND et al., 1983; CLINKENBEARD et al., 1989; CLINKENBEARD & UPTON, 1991; LAINSON et al., 1996), os quais possibilitariam o influxo de água e o intumescimento dos leucócitos e

plaquetas, levando-os à morte rápida por lise (BALUYUT et al., 1981; SHEWEN & WILKIE, 1982; CLINKENBEARD et al., 1989).

Quando em baixas concentrações, a LKT da *M. haemolytica* A1 estimula MAPs, neutrófilos e mastócitos a liberarem compostos de oxigênio reativos, enzimas proteolíticas, eicosanóides, citocinas e histamina nos pulmões dos bovinos, os quais provocam lesões inflamatórias agudas no parênquima pulmonar (CZUPRYNSKI et al., 1991; HENRICKS et al., 1992; MAHESWARAN et al., 1992; MAHESWARAN et al., 1993; ADUSU et al., 1994; CLINKENBEARD et al., 1994), e pode induzir apoptose em leucócitos de bovinos (STEVENS & CZUPRYNSKI, 1996).

A LKT da *M. haemolytica* A1 pode estimular os MAPs a expressar atividade pró-coagulante em suas superfícies, induzindo a produção de FTN- α e IL-1 β , com conseqüente amplificação da deposição de fibrina no parênquima pulmonar e superfícies pleurais (CAR et al., 1991; RASHID et al., 1997). O aumento da atividade pró-coagulante foi exacerbado pela diminuição significativa da atividade pró-fibrinolítica de macrófagos e neutrófilos, resultando em desequilíbrio não apenas pela excessiva deposição de fibrina, mas também pelo retardamento do processo de remoção de fibrina (CAR et al., 1991).

A *M. haemolytica* A1 não é apenas o agente infeccioso mais freqüentemente isolado de bovinos com MPB natural, mas a causa primária dos eventos patológicos que caracterizam esta doença clínica como uma broncopneumonia fibrinosa lobar aguda (CARTER, 1964; COLLIER, 1968a,b;

LILLIE, 1974; REHMTULLA & THOMSON, 1981; WIKSE, 1985; JUBB et al., 1985; RADOSTITS et al., 2000).

Segundo LILLIE (1974), a multiplicação maciça da *M. haemolytica* A1 nas VAAs dos bovinos, com o desenvolvimento de uma população bacteriana tóxica, é fundamental na patogênese da MPB natural. Quando em quantidades maciças nas VAAs, a *M. haemolytica* A1 alcança os pulmões, via gotículas aerossolizadas, em concentrações elevadas e, assim, consegue suplantar os mecanismos de defesa locais e multiplicar-se intensamente no parênquima pulmonar, o que a torna responsável pelas lesões clássicas da MPB natural (LILLIE, 1974; REHMTULLA & THOMSON, 1981; ALLAN et al., 1985a; AMES et al., 1985; JUBB et al., 1985; CONFER et al., 1988; FRANK, 1988; GILMOUR & GILMOUR, 1989; CARLTON & McGAVIN, 1995; BROGDEN et al., 1998a; WEEKLEY et al., 1998a; ACKERMANN & BROGDEN, 2000; RADOSTITS et al., 2000; SMITH, 2001).

As infecções pulmonares causadas pela *M. haemolytica* A1 se caracterizam por uma resposta inflamatória fibrinosa supurativa e necrotizante, de caráter peragudo a agudo. Dentro de horas após a infecção, os brônquios, bronquíolos e alvéolos pulmonares contêm densos infiltrados de neutrófilos, fibrina, líquido seroproteínico e sangue. O exsudato está associado à necrose parenquimal extensa, que é causada por produtos da *M. haemolytica* A1 como a leucotoxina, o lipopolissacarídeo e o polissacarídeo capsular, e também por fatores inflamatórios liberados por neutrófilos e outras células do processo inflamatório agudo (SLOCOMBE et al., 1985). Embora a infiltração de neutrófilos durante a pneumonia causada por *M. haemolytica* A1 seja

necessária para a resistência à infecção, a resposta é tipicamente extensa e excessiva (ACKERMANN & BROGDEN, 2000).

Macroscopicamente, a broncopneumonia fibrinosa lobar aguda causada pela *M. haemolytica* A1 se caracteriza por intensa congestão e hemorragia, que conferem aos pulmões uma coloração vermelha típica, e por abundante exsudação de fibrina, que pode se acumular nas superfícies pleurais formando espessas placas amarelas, e acúmulo de quantidades variáveis de líquido amarelo na cavidade torácica (SLOCOMBE et al., 1984b; CARLTON & McGAVIN, 1995; WHITELEY et al., 1991a,b; RADOSTITS et al., 2000). As superfícies de corte das lesões pulmonares se mostram firmes, com septos interlobulares espessados pelo acúmulo de exsudato edematoso transparente, delineando os lóbulos pulmonares, que se apresentam consolidados e exsudando líquido sanguinolento (SLOCOMBE et al., 1984b; VESTWEBER et al., 1990a). A distribuição das lesões é cranioventral e o processo inflamatório não se limita a um único lóbulo pulmonar, envolvendo lóbulos contíguos até acometer todo o lobo. Mesmo quando a área pulmonar total acometida pela broncopneumonia fibrinosa é igual 30%, ou menos, os sinais clínicos e a morte podem resultar de toxemia grave (CARLTON & McGAVIN, 1995; RADOSTITS et al., 2000).

As lesões macroscópicas observadas em seis bezerros convencionais, às 24 horas após inoculação da *M. haemolytica* A1, envolveram 20 a 100% do lobo pulmonar inoculado, o cranial direito, e, exceto por essa variabilidade na extensão do tecido pulmonar acometido, o aspecto das lesões foi bastante semelhantes. Estas se apresentaram intensamente congestionadas, edematosas,

firmes e salientes em relação ao tecido pulmonar adjacente. As superfícies pleurais estavam consistentemente espessadas e cobertas por fibrina (VESTWEBER et al., 1990a).

Microscopicamente, a broncopneumonia fibrinosa lobar aguda causada pela *M. haemolytica* A1 é caracterizada por maciça exsudação de proteínas plasmáticas para o interior dos brônquios, bronquíolos e alvéolos e, conseqüentemente, pela obliteração da maioria dos espaços aéreos com exsudato fluido (REHMTULLA & THOMSON, 1981; SLOCOMBE et al., 1984b; WHITELEY et al., 1991a,b; CARLTON & McGAVIN, 1995). Como a fibrina é quimiotáxica para neutrófilos, estes leucócitos sempre estão presentes no exsudato produzido nas vias aéreas submetidas à inflamação fibrinosa. À medida que a inflamação progride, o exsudato fluido é gradativamente substituído por um exsudato fibrinocelular, composto de fibrina, neutrófilos, macrófagos e debris necróticos. Em geral, ocorre acentuada dilatação e trombose de vasos linfáticos e distensão dos septos interlobulares por edema e exsudato fibrinocelular. Áreas focais de necrose coagulativa também são comuns e os centros necróticos, envolvendo um grupo de alvéolos, são delineados por capilares congestos e repletos de fibrina, material proteináceo, colônias bacterianas, eritrócitos, neutrófilos e macrófagos (REHMTULLA & THOMSON, 1981; SLOCOMBE et al., 1984b; WHITELEY et al., 1991a,b; CARLTON & McGAVIN, 1995; BROGDEN et al., 1998a; ACKERMANN & BROGDEN, 2000). Muitas vezes, uma área necrótica central é circundada por células basofílicas em forma de fusos, orientadas de modo a formarem feixes de células paralelas, que lhe confere a aparência de um redemoinho. Próximo

à margem da lesão, o exsudato contendo neutrófilos e macrófagos forma uma transição abrupta para o pulmão normal, sem cápsula de tecido fibroso (REHMTULLA & THOMSON, 1981; ALLAN et al., 1985a; BROGDEN et al., 1998a). Nos animais que sobrevivem ao estágio agudo da MPB, a necrose pulmonar muitas vezes se desenvolve para “seqüestros”, que são fragmentos de tecido pulmonar necrótico encapsulado por tecido conjuntivo (CARLTON & McGAVIN, 1995).

Às 72 horas após a inoculação $5,4 \times 10^8$ a $6,7 \times 10^{11}$ UFCs de *M. haemolytica* A1 em bezerros, observaram-se alterações macroscópicas típicas de MPB, as quais acometiam áreas pulmonares extensas e se caracterizavam por necrose de coagulação discreta e exsudato purulento evidente em bronquíolos, constituído por neutrófilos e debris necróticos (FRIEND et al., 1977).

GIBBS et al. (1984), observaram lesões típicas de MPB em bezerros necropsiados 48 e 72 horas após a inoculação inicial de *M. haemolytica* A1, as quais envolviam 70% dos lobos anteriores. No nono e décimo dias após a inoculação, as lesões eram similares, porém, evidenciavam-se áreas de pneumonia fibrinosa, confinadas por cápsula fibrosa, e nódulos bem definidos.

Para ALLAN et al. (1985a), a reação inflamatória aguda, avaliada às 48 e 72 horas após a infecção experimental de bezerros com *M. haemolytica* A1, foi semelhante na aparência, intensidade (grave) e distribuição, atingindo cerca de 70% dos lobos pulmonares anteriores. As lesões observadas no sexto dia foram similares às aquelas de 48 e 72 horas, porém, um pouco mais firmes e nodulares. No nono e 10^o dias, a consolidação pulmonar manteve-se restrita à

mesma área, apesar da existência de uma reação nodular mais evidente, acometendo uma maior proporção do tecido lesado.

As lesões típicas da MPB foram reproduzidas experimentalmente em bezerros mediante técnicas de inoculação intrapulmonar transtorácica (PANCIERA & CORSTVET, 1984), intratraqueal (ALLAN et al., 1985a; AMES et al., 1985) ou intrabronquial (VESTWEBER et al., 1990a; WEISS et al., 1991).

Quando se utilizam procedimentos em que os organismos de *M. haemolytica* A1 são depositados diretamente nos pulmões, os fatores que causam estresses físicos ou infecciosos, que têm a função de suprimir os mecanismos de defesa das VAAs, não se fazem mais necessários, o que torna estas técnicas mais vantajosas e úteis em pesquisas sobre a MPB (WILKIE et al., 1980; VESTWEBER et al., 1990a). Assim, a suscetibilidade e a resistência ao desafio são diretamente dependentes da concentração e patogenicidade dos inóculos de *M. haemolytica* A1 e da relação entre fatores de suscetibilidade/resistência dentro dos próprios pulmões (PANCIERA & CORSTVET, 1984).

Devem ser infundidas, no mínimo, 5×10^9 unidades formadoras de colônia - UFC de *M. haemolytica* A1 em fase de crescimento logarítmico para que se possa reproduzir eficazmente a MPB (SHOO, 1989; GONZALEZ & MAHESWARAN, 1993).

Em todas as concentrações, 5×10^7 , 5×10^8 e 5×10^9 UFCs de *M. haemolytica* A1, os inóculos em fase de crescimento logarítmico produziram sinais clínicos, alterações hematológicas e lesões pulmonares mais graves que

os correspondentes cultivos em fase estacionária. Os efeitos foram tanto mais graves, quando mais concentrados eram os inóculos (AMES et al, 1985).

Além da virulência própria de cada cepa de *M. haemolytica* A1, a idade do cultivo bacteriano e as técnicas de cultivo podem provocar variações na patogenicidade da cepa *in vivo*. Na fase de crescimento logarítmico, que se estende dos primeiros 30 minutos à quinta ou sexta horas de incubação, os inóculos possuem concentrações mais elevadas de LKT, enquanto na fase estacionária, que geralmente se inicia após a sexta hora, a concentração de LPS aumenta. O inóculo produzido em caldo ICC é mais rico em LKT e LPS do que aqueles que utilizaram o meio de cultivo de células RPMI (SHEWEN & WILKIE, 1985).

Na literatura consultada, percebe-se grande variação na metodologia de produção dos inóculos de *M. haemolytica* A1 para indução da MPB, sobretudo em relação a: meios de cultivos e suplementação de nutrientes; temperatura, tempo de incubação, ambiente e velocidade de agitação do inóculo durante o cultivo; número de colônias de *M. haemolytica* A1 inicialmente utilizado; densidade óptica e comprimento de onda utilizados para determinar o volume e a concentração final do inóculo, e quantidade e tipo de líquido inerte infundido após o inóculo, sem considerar as diferentes cepas utilizadas. Na Tabela 1, faz-se uma síntese das diferenças mais importantes.

Tabela 1. Protocolos utilizados na produção de inóculos de *M. haemolytica* A1 para indução da Manheimiose Pneumônica em bezerros, ordenados pelo ano de publicação.

AUTOR (ES)	CEPA	PROTÓCOLO DE CULTIVO DAS CEPAS DE <i>M. haemolytica</i> A1	UFCs^A
PANCIERA & CORSTVET, 1984	-	Cultivo do liofilizado em ágar-sangue, com 1% de extrato de levedura e 1% de soro equino (37°C, 18 a 20h) → 5 a 10 colônias em 1mL de SSTP ^{®.1} → incubação em ágar ICC ^{®.2} (22h) → colheita por lavagem com SSTP → determinação da concentração e ajuste com SSTP.	10 ⁶ a 10 ⁹
ALLAN et al., 1985a	SC82/1	Cultura de 1 ^a passagem em 10 mL de caldo BBL ³ (37°C), por 2 horas (inóculo A) e 8 horas (inóculo B) sob agitação → 10 mL de A + 10 mL de B	2 x 10 ⁹ (A) 8 x 10 ¹¹ (B)
SLOCOMBE et al., 1985	-	Cultivo do liofilizado em caldo ICC (12h, 37°C) → 1mL em caldo ICC (6h, 37°C) → centrifugação e lavagem com solução salina (duas vezes) → ajuste da concentração para 10 ⁸ UFC ^A /mL com salina → inóculo + q.s.p. de salina para 20 mL.	2 x 10 ⁹
VESTWEBER et al., 1990a,b	-	Cultivo do liofilizado em ágar-sangue (24h, 37°C, 5% de CO ₂) → 6 frascos de 50 mL de caldo ICC (6h, 37,5°C), sob agitação (40 ciclos/min) → centrifugação (3.000xg/30min/4°C) → ressuspensão dos precipitados em 1,5 mL de SSTP → 4 mL da mistura das suspensões + 21 mL de SSTP → inoculação de 1mL + 10 mL de SSTP.	7,9 x 10 ¹⁰ ± 0,6 x 10 ¹⁰
WEISS et al., 1991	12296	Cultivo do liofilizado em ágar ICC (12h) → caldo ICC (2-3h, 37°C) sob agitação → centrifugação → ressuspensão → ajuste para 10 ⁸ UFCs e cultivo em RPMI 1640 ^{®.3} (2-4h) → centrifugação e ajuste para 10 ⁷ UFCs/mL com SSTP → inóculo + q.s.p de SSTP para 20mL.	5 x 10 ⁸
McBRIDE et al., 1992	-	Cultivo do liofilizado em ágar ICC, com 1% de extrato de levedura e 10% de soro equino (37°C, 18-24h, 5% de CO ₂) → leitura 650 nm → ajuste para 1 x 10 ⁷ UFCs/mL com SSTP → infusão de 5 mL	1 x 10 ⁷
DESMECHT et al., 1996	LPB 1419	Cultivo do liofilizado em ágar-sangue (37°C, 17h) → 2 colônias em 100 mL de caldo ICC (37°C, 10h) → ajuste da concentração com caldo ICC para DO ^B = 0,48 e 560 nm → 30 mL de inóculo	1,18 x 10 ⁹ ± 0,2 x 10 ⁹
BUREAU et al., 1998	-	Cultivo do liofilizado em caldo ICC (24h, 37°C) → 1 gota em ágar-sangue (24h, 37°C) → 10 colônias/100 mL de caldo ICC, sob agitação (24h, 37°C), por 5 horas → inoculação de 10 mL (leitura da concentração em 600 nm).	6 x 10 ⁸
CHERYK et al., 1998	-	Cultivo do liofilizado em caldo ICC (12h) → centrifugação (4000xg/15min) e ressuspensão em DBSS → inoculação de 25 mL do inóculo + 50 mL de SSTP (leitura da concentração em DO = 1 e 525 nm)	2,2 x 10 ¹⁰ a 9,2 x 10 ¹⁴
McCLENAHAN et al., 2000; FAGLIARI, 2003	12296	Cultivo do liofilizado em ágar ICC (12h, 37°C, 5% de CO ₂) → caldo ICC (2-3h, 37°C, sob agitação) → centrifugação → ressuspensão e cultivo em RPMI 1640 + 200 mM de L-glutamina (2-4h) → ajuste de UFCs com SSTP → inoculação de 5 mL.	1 x 10 ⁹

¹ SSTP, Solução Salina Tamponada com Fosfato, Sigma^{®.2}, ICC, Infusão Cérebro-coração, Sigma^{®.3}, RPMI 1640, Sigma^{®.3}, UFCs, Unidades Formadoras de Colônias; ^B DO, Densidade Óptica.

Segundo FEITOSA (2004), as faixas de variação de referência da temperatura corporal (T°C) e da frequência cardíaca (FC) de bezerros jovens são iguais a, respectivamente, 38,5 a 39,5 °C e 70 a 100 bpm, enquanto que GONÇALVES (2004) citou 24 a 36 mpm como referência para a frequência respiratória (FR). Para DIRKSEN et al. (1993) estas faixas seriam de 38,5 a 39,5 °C, 30 a 45 mpm e 90 a 110 bpm.

THOMAS et al. (1977), elaboraram um método de cálculo de escores de gravidade para as doenças respiratórias de bovinos utilizando parâmetros clínicos e hematológicos. Quando o escore foi menor que 30, a doença foi classificada como subclínica; se entre 30 a 50, a doença era leve; quando entre 51 a 100, a doença era moderada; e acima de 100, a doença respiratória era considerada grave.

VESTWEBER et al. (1990a), classificaram a gravidade da MPB experimental, de acordo com os sinais clínicos apresentados pelos bezerros, em seis níveis de intensidade: zero, animal normal; um, animal deprimido, com apetite normal, sem febre e com as frequências cardíaca e respiratória elevadas; dois, animal apresentando os mesmos sinais do escore um, porém, com inapetência; três, o animal está deprimido, inapetente, com febre, tossindo, com as frequências cardíaca e respiratória elevadas e é capaz de se levantar sozinho; quatro, o animal está como aquele do escore três, mas é incapaz de se levantar sozinho; cinco, animal com inapetência, depressão grave, dificuldade respiratória e não é capaz de se levantar sozinho, porém, não apresenta febre; seis, morte.

BALMER et al. (1997), elaboraram um sistema de índice de pontuação para os sinais clínicos observados em bovinos com doença respiratória. Cada sinal clínico recebeu um peso numérico, os quais foram somados e, então, divididos pela pontuação total do escore, obtendo-se um escore clínico por animal, por exame. Segundo, os autores, o sinal clínico objetivo temperatura corporal interna deveria receber o dobro da pontuação de critérios clínicos subjetivos, como comportamento e apetite, os quais, por sua vez, receberiam o dobro do peso de critérios clínicos subjetivos menos importantes, como tipo de respiração, tosse e secreção nasal. O critério clínico objetivo frequência respiratória deveria receber um peso intermediário entre a temperatura retal e o comportamento ou apetite, pois este seria, supostamente, mais sensível às influências da manipulação que a temperatura retal.

AMES et al. (1985), elaboraram um sistema de escore para graduar a intensidade da MPB experimental em bezerros com base nos ruídos pulmonares e no comportamento dos animais, sendo: um, ruídos respiratórios normais; dois, ruídos respiratórios aumentados; três, crepitações úmidas; e quatro, crepitações úmidas fortes; para comportamento, o escore um foi atribuído ao bezerro normal e o escore quatro àquele moribundo.

Na Tabela 2, são relacionados valores de TC, FR e FC obtidos em bezerros holandeses com MPB experimental, avaliada às 10, 12 e 24 horas após a inoculação, mostrando-se a existência ou não de diferenças significativas em relação aos valores basais ou entre os momentos pós-inoculação.

Tabela 2. Valores médios absolutos da Temperatura Corporal (T °C), Frequência Respiratória (FR) e Frequência Cardíaca (FC) de bezerros saudáveis antes, variação basal, e em diferentes momentos do curso da Manheimiose Pneumônica Bovina experimental, ordenados conforme o ano de publicação.

AUTOR (ES)	CEPA	UFCs	ANIMAIS	TEMPO ¹	T (°C)	FR (mpm ¹)	FC (bpm ²)
DESMECHT et al., 1996	LPB 1419	1,18 x 10 ⁹ ± 0,2 x 10 ⁹	Holandeses (12 machos, com 7-14 dias), avaliados às 10 horas após a inoculação	0 h	39,1 ± 0,4	26,50 ± 7,2	-
				L ^a (n = 6)	38,9 ± 0,7	67,67 ± 10,2	-
				0 h	39,2 ± 0,7	33,33 ± 7,4	-
				M ^b (n = 3)	37,6 ± 2,3	68,00 ± 13,0	-
				0 h	39,3 ± 0,5	29,7 ± 11,0	-
				G ^c (n = 3)	37,1 ± 0,1	15,57 ± 3,1	-
BUREAUX et al., 1998	-	6,2 x 10 ⁸	Holandeses (4 machos, com 28 a 35 dias de vida)	0 h	39,10 ± 0,15	29,90 ± 9,99	-
				12 h	39,80 ± 0,13	53,31 ± 5,90	-
			Holandeses (4 machos, com 28 a 35 dias de vida)	0 h	39,10 ± 0,09	46,10 ± 7,29	-
				12 h	39,90 ± 0,20	61,96 ± 8,27	-
FAGLIARI, 2003	12296	5 x 10 ⁹	Holandeses (sete machos, 14 a 30 dias)	0 h	37,9 ± 0,51	47,6 ± 6,8	69,1 ± 8,7
				12 h	39,4 ± 0,61 *	50,4 ± 5,6	96,7 ± 12,8
				0 h	38,1 ± 0,49	44,8 ± 6,0	75,6 ± 10,7
				24 h	39,8 ± 0,57	54,5 ± 71 †	124,1 ± 20,9 ‡

¹Tempo de aferição dos parâmetros vitais em relação ao momento de inoculação da *M. haemolytica* A1, sendo os tempos de zero hora considerados como momento controle; *, Resultados em negrito indicam diferenças significativas (P < 0,05) em relação aos respectivos momentos-controle. †, Resultados em itálico indicam diferenças entre os momentos pós-inoculação (P < 0,05); ^aL, doença leve; ^bM, doença moderada; ^cG, doença grave.

A MPB natural é caracterizada clinicamente por depressão, febre e outros sinais de sepse, como hiperemia das mucosas e ejeção dos vasos da esclera, e uma distribuição crânio-ventral de ruídos pulmonares anormais (SMITH, 2001).

A indução da resposta de fase aguda sistêmica é uma das ações mais importantes do FNT- α na inflamação induzida pela *M. haemolytica* A1. Esta inclui febre, perda do apetite, neutrofilia e, particularmente, os efeitos

hemodinâmicos do choque séptico, como hipotensão, redução da resistência vascular periférica e aumento da frequência cardíaca (KEISS et al., 1964).

Na MPB natural, os efeitos gerais da endotoxina, incluindo a morte, podem ser esperados devido ao grande número de organismos de *M. haemolytica* A1 que são encontrados nos pulmões pneumônicos. Os sinais clínicos desta doença, excluindo a hipoxia e a dispnéia, que resultam da perda de funcionalidade de uma grande porcentagem do parênquima pulmonar, podem ser explicados pela endotoxemia (LILLIE, 1974).

A endotoxina da *E. coli* pode agir sistemicamente, produzindo febre, sudorese e fraqueza muscular. O efeito pirogênico das endotoxinas se deve a ação direta sobre a circulação do hipotálamo, resultando em circulação sistêmica lenta e redução da radiação de calor. Em altas doses, a endotoxina pode produzir coma e morte rápidas, devido ao colapso circulatório agudo e à hipertensão pulmonar (REECE & WAHLSTROM, 1974; REECES et al., 1973; RHOADES et al., 1967). A lesão terminal da MPB é uma broncopneumonia fibrinosa aguda, com curso de apenas dois a quatro dias, e o óbito ocorre devido a hipoxemia e a toxemia (RADOSTITS et al., 2000).

A intensidade das manifestações clínicas da endotoxemia experimental induzida pelo lipopolissacarídeo da *E. coli* foram dependentes das doses de endotoxina utilizadas e se caracterizaram: hipertermia transitória seguida por hipotermia, taquipnéia, taquicardia com arritmia e morte num período de três a 15 horas após a infusão da toxina (TENNANT et al., 1973; CULLOR, 1992; BENESI et al., 1993).

Às 10 horas após a inoculação de *M. haemolytica* A1, observou-se angústia respiratória grave em bezerros gnotobióticos e um pouco menos grave em bezerros convencionais, provavelmente devido à baixa resistência imunológica e possível desenvolvimento de septicemia e toxemia, especialmente nos bezerros gnotobióticos (VESTWEBER et al, 1990b). Às 72 horas após a indução da MPB, os bezerros já estavam mais alertas, a tosse foi infreqüente, mas ruídos pulmonares anormais foram auscultados e observou-se uma secreção nasal purulenta bilateral discreta (VESTWEBER et al., 1990a).

Todos bezerros apresentaram aumento da freqüência e do esforço respiratório duas horas após indução da MPB experimental. Vários animais se mantiveram em decúbito entre quatro a seis horas, com angústia respiratória grave e sons pulmonares anormais, incluindo ruídos respiratórios ásperos e crepitação úmida. Tosse úmida foi ocasionalmente observada (FRIEND et al., 1977).

Segundo PANCIERA & CORSTVET (1984), a maioria dos bezerros com MPB experimental apresenta depressão grave e apetite reduzido entre cinco a oito horas após a injeção de desafio. Um número pequeno de bezerros, do total de 23, apresentou secreção nasal mucóide, transparente ou turva, em quantidades excessivas, tossiu ocasionalmente e, à respiração, exibiu sinais indicativos de dor, como roncos expiratórios. Às 48 horas após a indução da MPB, os sinais clínicos se estabilizaram ou diminuíram.

FAGLIARI (2003), avaliou clinicamente a MPB às quatro, seis, 12 e 24 horas após a inoculação, mencionando presença de apatia, congestão das

membranas mucosas, respiração predominantemente abdominal, alterações dos ruídos respiratórios, com predomínio de crepitação, e arritmia. A diminuição da PaO₂ e o aumento da PaCO₂ sugerem inadequada ventilação pulmonar.

As lesões pulmonares intersticiais, como edema ou infiltrado celular, prejudicam as trocas gasosas e dificultam a expansão dos pulmões, podendo romper o equilíbrio ventilação-perfusão (WEEKLEY et al., 1998a). Às 12 horas após a exposição à *M. haemolytica* A1, os bezerros apresentaram lesões pulmonares muito intensas, havendo diminuição da excreção de CO₂ e, conseqüentemente, aumento da PaCO₂ (SLOCOMBE et al., 1984a).

As secreções nasais serosas e mucosas são respostas inespecíficas da mucosa nasal à irritação e uma secreção nasal purulenta indica graus variáveis de inflamação supurativa em qualquer localização do trato respiratório. Na MPB, este tipo de secreção é comum, mas não necessariamente se origina da lesão pulmonar, podendo ser atribuído à infecção bacteriana secundária das cavidades nasais (RADOSTITS et al., 2002).

A tosse tem como objetivo remover o excesso de muco, resíduo inflamatório ou material estranho situado distalmente à laringe e, em geral, indica doença pulmonar (RADOSTITIS et al., 2000; RADOSTITS et al., 2002). A tosse seca e superficial geralmente indica inflamação nas VAAs, como faringite, laringite ou, até mesmo, traqueítes. A tosse produtiva está relacionada ao aumento de exsudato dentro das vias aéreas pulmonares, como nas broncopneumonias, pois a movimentação de líquidos nas vias aéreas, com a respiração, é um estímulo para a tosse GONÇALVES (2004).

A dor decorrente da pleurite é observada apenas nos estágios iniciais da MPB aguda, devido ao atrito das pleuras inflamadas, diminuindo à medida que o exsudato inflamatório e a fibrina preenchem o espaço pleural. Clinicamente, a dor é evidenciada por respirações rápidas e superficiais. Na MPB natural, o animal pode abduzir os cotovelos quando em estação e a auscultação pulmonar de animais com pleurite pode revelar roce pleural e ruídos pulmonares abafados, em virtude da presença de efusão pleural, mas a ausência de atrito de roce pleural não exclui a possibilidade de pleurite (WEEKLEY et al., 1998b). Em geral, a movimentação dos folhetos pleurais inflamados em bovinos não produz roce pleural, pois a presença de exsudato na cavidade torácica reduz o roçar ou, caso ocorram aderências, este será impedido (DIRKSEN et al., 1993).

Quando estão sentindo dor por causa da pleurite, a respiração se torna rápida e superficial e o volume corrente é reduzido, com conseqüente diminuição da ventilação das aéreas de troca gasosa. Isso poderia causar distúrbios metabólicos como a acidose respiratória e, então, os bovinos com MPB passariam a apresentar movimentos respiratórios mais profundos, principalmente os abdominais, com restrição da movimentação da parede torácica (WEEKLEY et al., 1998b).

Bezerros com MPB experimental apresentaram piroxia e hiperpnéia às 48 horas após a indução da doença (ALLAN et al., 1985a). A hiperpnéia é um aumento anormal da freqüência e profundidade dos movimentos respiratórios, mas não a ponto de tornar a respiração laboriosa (RADOSTITS et al., 2000), e está relacionada, principalmente, aos processos que dificultam a expansão

pulmonar GONÇALVES (2004). A dispnéia, definida como uma respiração difícil ou laboriosa, se caracteriza por excursões excessivas e óbvias das paredes torácicas e abdominais, observadas durante as inspirações e/ou expirações (RADOSTITS et al., 2002).

A dispnéia inspiratória está relacionada à diminuição do lúmen das VAAs, doenças que restringem a insuflação pulmonar ou lesões expansivas que reduzem o volume torácico e limitam a expansão pulmonar, como efusão pleural, de modo que a entrada de ar é dificultada (RADOSTITS et al., 2002; GONÇALVES, 2004). A dispnéia expiratória ocorre em processos que diminuem a elasticidade de retorno pulmonar ou provocam obstruções das pequenas vias aéreas, dificultando a saída do ar (GONÇALVES, 2004). Nos casos graves de MPB, ou naqueles com alguns dias de duração, a dispnéia é intensa, comumente acompanhada de um ronco expiratório (RADOSTITS et al., 2000).

No edema pulmonar, a dispnéia é mista, pois a presença de líquido no interstício dificulta a expansão pulmonar e, conseqüentemente, a entrada de ar (dispnéia inspiratória), enquanto que a entrada de líquido no interior dos bronquíolos dificulta a saída de ar dos alvéolos (dispnéia expiratória). Entretanto, a dispnéia inspiratória predomina, devido à maior dificuldade de trocas gasosas e à grande hipoxia resultante (GONÇALVES, 2004).

Nas broncopneumonias, a dispnéia é do tipo mista, pois existe dificuldade de expansão pulmonar decorrente da congestão provocada pela inflamação, causando dispnéia inspiratória, e entrada de exsudato nos

brônquios e bronquíolos, o que determina dificuldade na expiração, levando à dispnéia expiratória (GONÇALVES, 2004).

Um caso típico de MPB natural revela febre de 40 a 41°C, corrimento nasal bilateral mucopurulento, tosse, graus variados de hiperpnéia e dispnéia, bem como evidências de broncopneumonia (RADOSTITS et al., 2000)

Atualmente, considera-se a existência de três ruídos respiratórios normais, os quais são auscultados desde a laringe aos campos pulmonares torácicos. O primeiro é o ruído laringotraqueal (RLT), um ruído bastante forte e áspero que é provocado pela vibração das paredes da laringe e traquéia, sendo auscultado na região da traquéia cervical, tanto na inspiração quanto na expiração. O segundo, chamado ruído traqueobrônquico (RTB), é um ruído rude, mais baixo e mais grave que o RLT ouvido no terço anterior do tórax, principalmente na expiração, em decorrência da passagem de ar pelos grandes brônquios e porção final da traquéia, com vibração de suas paredes. O último, ruído bronco-bronquiolar (RBB), é um ruído suave ouvido nos dois terços finais do tórax durante a inspiração, sendo provocado pela vibração das paredes dos pequenos brônquios (DIRKSEN et al., 1993; GONÇALVES, 2004).

À auscultação, o aumento da audibilidade dos ruídos respiratórios normais sobre os campos pulmonares está associado a: (a) à maior produção destes ruídos em função do aumento da frequência ou da profundidade das respirações, como ocorre na febre, acidose e doença pulmonar; (b) à facilitação da transmissão dos ruídos normais à parede torácica em decorrência do aumento da densidade do tecido pulmonar por acúmulo de líquido no interstício, como ocorrem na congestão e edema pulmonares da fase aguda

das pneumonias, no colapso ou preenchimento dos alvéolos por exsudato, respectivamente, atelectasia e consolidação pulmonar, desde que a luz dos brônquios permaneça aberta (RADOSTITS et al., 2000; RADOSTITS et al., 2002; GONÇALVES, 2004). Os ruídos respiratórios normais também podem estar aumentados na hipertrofia vicariante ou compensadora das áreas normais, quando há consolidação pulmonar em áreas vizinhas àquelas que estão sendo auscultadas (GONÇALVES, 2004).

A diminuição dos ruídos respiratórios normais à auscultação pulmonar se deve à diminuição da velocidade de penetração do ar nas vias respiratórias, seja por obstruções ou por diminuição da atividade respiratória, e ao aumento da reflexão dos ruídos, como ocorre na efusão pleural. Nas afecções dolorosas do tórax, que levam à respiração superficial, e nas aderências pulmonares extensas os ruídos também estão diminuídos (RADOSTITS et al., 2000; RADOSTITS et al., 2002; GONÇALVES, 2004).

A ausência de ruídos respiratórios normais à auscultação dos pulmões, conhecida como silêncio respiratório, ocorre devido à obstrução completa do trânsito de ar nas vias respiratórias, quando o lúmen brônquico está preenchido por exsudato, ou devido à reflexão total dos ruídos, como nas efusões pleurais volumosas (RADOSTITS et al., 2000; RADOSTITS et al., 2002).

A crepitação pulmonar grossa significa, clinicamente, quantidades expressivas de líquido inflamatório ou não dentro dos brônquios, que, com a passagem do ar, se deslocam, formando ondas suficientes para obstruir os brônquios. São auscultadas nos casos de broncopneumonia e edema pulmonar (GONÇALVES, 2004), e, muitas vezes, são mais características na parte

ventral do pulmão, pois a obstrução brônquica provocada pela presença de líquido é agravada pela gravidade (DIRKSEN et al., 1993).

Os sibilos pulmonares são manifestações sonoras semelhantes a assobios, que, se auscultados no final da inspiração, indicam estreitamento das vias aéreas causadas pela deposição e aderência de secreção viscosa, como ocorre na bronquite ou bronquiolite, ou densificações restritivas do tecido pulmonar (DIRKSEN et al., 1993; GONÇALVES, 2004).

As crepitações e sibilos traqueais são provocados pelo acúmulo de muco na luz da traquéia (RADOSTITS et al., 2002).

A inspiração interrompida são pequenas interrupções na inspiração. Quando ocorrem com a parede torácica movimentando-se de uma única vez, é indicação de obstrução seqüencial de bronquíolos, com líquido em quantidade e viscosidade suficientes para provocar a crepitação grossa. Se for auscultada com o tórax se movimentado em dois tempos, é sugestivo de dor à inspiração, devido a pleuris ou excitação psíquica dos animais (GONÇALVES, 2004).

Nas fases iniciais dos casos típicos de MPB natural, ruídos respiratórios altos são audíveis nas porções anterior e ventral dos pulmões, principalmente do pulmão direito, geralmente equivalendo às porções ventrais dos lobos apicais e do médio. À medida que a doença evolui, acometendo regiões pulmonares mais extensas, esses ruídos se tornam mais altos e são auscultados em áreas mais amplas e a natureza exsudativa da lesão provoca crepitações audíveis. Os atritos de fricção pleural podem ser audíveis, embora sua ausência não exclua a presença de pleurite aderente extensa (RADOSTITS et al., 2000).

À percussão torácica, a variação do som pulmonar de claro para sub-maciço à maciço é indicativo de áreas de compressão pulmonar por abscessos torácicos, atelectasia ou preenchimento dos espaços intersticiais por líquido inflamatório ou não, como no edema pulmonar e nas pneumonias (GONÇALVES, 2004).

FAGLIARI et al. (1998), encontraram as seguintes faixas de variação de referência (média \pm desvio padrão) para o hemograma de bezerros holandeses, sadios, machos, com 30 dias de idade: $7,42 \pm 1,12 \times 10^6/\mu\text{l}$ de hemácias; $11,60 \pm 2,06$ g/dl de hemoglobina; $38,35 \pm 3,43$ % de volume globular; $10,29 \pm 1,98 \times 10^3/\mu\text{l}$ de leucócitos; $3,62 \pm 0,71 \times 10^3/\mu\text{l}$ de neutrófilos totais; $5,88 \pm 1,26 \times 10^3/\mu\text{l}$ de linfócitos; $0,46 \pm 0,21 (x 10^3/\mu\text{l})$ eosinófilos; e $0,34 \pm 0,16 (x 10^3/\mu\text{l})$ monócitos.

JAIN (1986), citaram as seguintes faixas de referência, em valores absolutos, para o hemograma de bovinos: 5,0 a $10,0 \times 10^6/\mu\text{l}$ de hemácias; 8,0 a 15,0 g/dl de hemoglobina; 24 a 36% de volume globular; 4.000 a 12.000/ μl de leucócitos; 0 a 120 neutrófilos bastonetes/ μl ; 600 a 4.000 neutrófilos segmentados/ μl ; 2.500 a 7.500 linfócitos/ μl ; 25 a 850 monócitos/ μl ; 0 a 2.400 eosinófilos/ μl ; 0 a 200 basófilos/ μl .

Nas doenças infecciosas, as alterações do hemograma dos bovinos devem ser avaliadas à luz de fatores como idade, raça, estado nutricional e práticas de manejo às quais os animais são submetidos, assim como de características dos prováveis agentes infecciosos envolvidos (FELDMAN et al., 2000).

Nas primeiras três horas após a inoculação intratraqueal de *M. haemolytica* A1 em bezerros, ocorreu um seqüestro de neutrófilos sanguíneos no pulmão, causando neutropenia e, conseqüentemente, leucopenia (SLOCOMBE et al., 1984a; SLOCOMBE et al., 1985). Um dia após a inoculação, observou-se leucocitose com significativa neutrofilia, indicando um maciço influxo de neutrófilos na corrente sanguínea após a neutropenia inicial (LINDEN et al., 1995).

Segundo THOMSON et al. (1975), a eosinopenia foi a única alteração consistente no leucograma de animais com MPB natural nos sete primeiros dias da doença e, provavelmente, se deveu a maiores elevações nos níveis de esteróides circulantes nos animais doentes por causa de níveis de estresse mais intensos.

Na literatura consultada, não há estudos descrevendo e comparando as alterações do hemograma de bezerros da raça holandesa, com cerca de 30 dias de idade, em todos os momentos do curso da MPB experimental avaliados neste estudo, 12, 24, 48 e 72 horas. A Tabela 3 compila os resultados de trabalhos que avaliaram e compararam alguns dos momentos pós-inoculação avaliados neste experimento.

Tabela 3. Valores médios absolutos dos componentes do hemograma de bezerros sadios antes, variação basal, e em diferentes momentos após a indução experimental da Manheimiose Pneumônica Bovina com inóculos com diferentes concentrações de *M. haemolytica* A1, ordenados conforme o ano de publicação.

AUTOR (ES)	UFCs	ANIMAIS	TEMPO ¹	He ^A (x 10 ⁹ /μl)	Hb ^B (g/dl)	VG ^C (%)	Le ^D (x 10 ³ /μl)	NeB ^E (x 10 ³ /μl)	NeS ^F (x 10 ³ /μl)	Li ^G (x 10 ³ /μl)	Eo ^H (x 10 ³ /μl)	Mo ^I (x 10 ³ /μl)
VESTWEBER et al., 1990a	7,9 x 10 ¹⁰ ± 0,6 x 10 ¹⁰	Holandeses (11, machos, com 24 horas de vida)	0 h	-	-	-	8,77 ±	0	3,68 ±	4,49 ±	-	0,57 ±
				0,32	11,45 ±	1,65 ±	6,65 ±	1,01	-	0,33		
BOUREAU et al., 1998	6,2 x 10 ⁸	Holandeses, (4, machos, com 28 a 35 dias de vida)	0 h	7,36 ±	-	-	9,99 ±	-	4,08 ±	-	-	-
				0,32	7,45	1,43	7,34	1,14	-	-	-	-
				7,60 ±	24,92 ±	19,23 ±	7,10	-	-	-	-	-
				0,55	8,03	7,10	-	-	-	-	-	-
FAGLIARI et al., 2003	1 x 10 ⁹	Holandeses (7, machos, com 15 a 30 dias de vida)	0 h	7,28 ±	11,04	32,5	10,71 ±	0,055 ±	3,81 ±	5,79 ±	0,51 ±	0,55 ±
				0,97	± 0,75	± 2,9	1,18	0,03	0,70	0,95	0,18	0,18
				7,69 ±	11,42	36,2	10,65 ±	0,052 ±	5,33 ±	4,32 ±	0,49 ±	0,48 ±
				0,91	± 1,15	± 3,8	1,42	0,03	0,78	0,83	0,17	0,18
0 h	7,42 ±	10,89	31,8	10,41 ±	± 0,92	± 3,2	1,23	0,050 ±	4,05 ±	5,30 ±	0,49 ±	0,54 ±
24 h	7,80 ±	11,30	37,7	11,03 ±	± 0,92	± 4,1	1,34	0,057 ±	5,40 ±	4,57 ±	0,50 ±	0,51 ±

¹Tempo em que o sangue foi colhido para realização do hemograma, em relação ao momento de inoculação da *M. haemolytica* A1; ^A He, Hemácias; ^B Hb, Hemoglobina; ^C VG, Volume Globular; ^D Le, Leucócitos; ^E NeB, Neutrófilos Bastonetes; ^F NeS, Neutrófilos Segmentados; ^G Li, Linfócitos; ^H Eo, Eosinófilos; ^I Mo, Monócitos; ¹, Contagem de neutrófilos totais e não de neutrófilos segmentados; Os resultados em negrito indicam diferenças significativas (P < 0,05) em relação aos respectivos momentos controle. O resultado em itálico indica diferenças bezerros gnotobióticos e convencionais (P < 0,05).

As variações do hemograma em bezerros com endotoxemia evidenciam leucopenia, por neutropenia e linfopenia absolutas, seguidas, em animais sobreviventes, por leucocitose por neutrofilia com desvio à esquerda (TENNANT et al., 1973; BENESI et al., 1993).

A contagem total de leucócitos tendeu a alcançar os valores mais elevados entre nove e 18 horas após a indução da MPB experimental em 24 bezerros de dois a quatro meses de idade e de diferentes raças (FRIEND et al., 1977). A contagem de neutrófilos de bezerros mestiços Hereford-Brahman inoculados com *M. haemolytica* A1 alcançou os valores mais elevados às 24 horas após a inoculação, retornando aos valores normais entre 48 e 72 horas após a indução da MPB (McBRIDE et al., 1992).

3. OBJETIVOS

Um modelo experimental de Manheimiose Pneumônica Bovina (MPB) foi utilizado neste trabalho com objetivo de:

1. Avaliar os sinais clínicos decorrentes da MPB às 12, 24, 48 e 72 horas do curso da doença;
2. Avaliar as alterações do hemograma provocadas pela MPB às 12, 24, 48 e 72 horas do curso da doença;
3. Avaliar a flora bacteriana das cavidades nasal e nasofaríngea dos bezerros antes e às 12, 24, 48 e 72 horas após a indução da MPB.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 MATERIAL

4.1.1 ANIMAIS

Utilizaram-se 28 bezerros da raça Holandesa, machos, com três a sete dias de idade, oriundos de fazendas de produção de leite da região de Botucatu/SP.

Os bezerros foram alojados num bezerreiro situado no HV-FMVZ/UNESP, que dispunha de dois conjuntos de três baias, um de frente para o outro. A metade inferior das paredes externas do bezerreiro era de alvenaria e, na metade superior, utilizaram-se vedações com tela de malha fina e aberturas na parede para permitir adequada renovação e circulação do ar dentro do bezerreiro.

Cada bezerro do lote experimental foi alojado individualmente, na mesma baia, durante todo experimento. Os animais receberam, diariamente, 10% de seu peso vivo em leite, fornecidos em duas mamadas, às 8 e às 18 horas. Também receberam água fresca, concentrado comercial e feno *ad libitum*, oferecidos todos os dias. Até o dia anterior à

inoculação, desde que não estivesse chovendo, os animais eram soltos, logo após o aleitamento da manhã, num piquete de grama-estrela contíguo ao bezerreiro. Antes do aleitamento da tarde, os bezerros eram recolhidos novamente às suas baias (Figura 1).



Figura 1. Visão panorâmica do bezerreiro e do piquete (1); Detalhes do conjunto de três baias, da tela e das aberturas na metade superior das paredes externas do bezerreiro (2); Divisórias de madeira para evitar o contato direto entre os bezerros (3).

As medidas de biossegurança, os cuidados com as instalações e animais e os procedimentos experimentais foram realizados segundo as recomendações do Canadian Council on Animal Care (CCAC, 1980), previamente aprovadas pela Câmara de Ética em Experimentação Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ) - UNESP - Botucatu.

4.1.2 LOTES E GRUPOS EXPERIMENTAIS

Foram compostos sete lotes experimentais, L1 a L7, cada um com quatro bezerros. Os quatro bezerros selecionados no mesmo período (mês/ano) para compor o lote experimental em questão foram distribuídos, aleatoriamente, entre os grupos experimentais, GI a GIV. O grupo GI destinou-se à avaliação da MPB às 12 horas após a indução, o GII às 24 horas, o GIII às 48 horas e o GIV às 72 horas.

A formação de lotes experimentais com um bezerro de cada grupo visou minimizar a interferência de fatores ambientais, como temperatura e umidade relativa do ar, sobre o desenvolvimento e apresentação clínica da MPB induzida pela cepa D153 de *M. haemolytica* A1. Uma vez que cada lote continha um bezerro de cada grupo experimental, GI a GIV, todos os grupos foram submetidos às mesmas condições climáticas ao longo do período experimental, que se estendeu de julho/2002 a abril/2003

4.1.3 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

4.1.3.1 FASE DE ADAPTAÇÃO

Durante um período preestabelecido de 27 dias, os bezerros do lote experimental foram submetidos a exames físicos diários, segundo DIRKSEN et al., (1993) e GONÇALVES et al. (2001). As doenças mais freqüentes nesta faixa etária, como onfalites, diarreia e tristeza parasitária, foram diagnosticadas e tratadas em tempo hábil, de modo que os animais se apresentassem hígidos no último exame físico realizado antes da fase controle.

4.1.3.2 FASE CONTROLE

No 28^o dia de permanência do lote no HV-FMVZ, os animais foram submetidos a exames físicos, colheita de sangue venoso para realização do hemograma e radiografias torácicas nas projeções látero-lateral direita e esquerda e dorso-ventral.

Os resultados do exame físico e hemograma desta fase foram tomados como valores basais e utilizados na comparação com os resultados dos exames realizados às 12, 24, 48 e 72 horas após a indução da MPB, respectivamente, nos animais dos grupos GI a GIV (fase experimental - item 4.1.3.4).

Amostras das secreções nasais e nasofaríngeas também foram colhidas, via *swab*, com o objetivo de caracterizar a flora bacteriana normal das vias aéreas anteriores (VAAs) dos bezerros do experimento, conforme exames microbiológicos descritos no item 4.2.3.

Quando a ausência de alterações do sistema respiratório foi confirmada pelo exame físico e radiografias torácicas, a pesquisa evoluiu normalmente, sem que se fizesse necessário substituir os animais por outros livres de problemas respiratórios.

Habitualmente, o trabalho se iniciava com o bezerro do grupo GI, prosseguindo até finalizar com o animal de GIV. Todos os procedimentos foram realizados entre 07 e 08 horas do 28º dia do experimento.

4.1.3.3 INOCULAÇÃO

No 35º dia da chegada dos bezerros ao HV-FMVZ, o lote experimental em questão foi inoculado com a cepa D153 de *M. haemolytica* A1¹ (Tabela 5). A inoculação dos bezerros seguiu a ordem dos grupos, de GI até GIV, e foi realizada sempre no mesmo horário (item 4.1.3.2). Terminada a inoculação do lote, deu-se início à fase experimental.

¹ Cepa D153 de *Mannheimia haemolytica* A1, gentilmente cedida pelo Prof. Dr. Samuel K. Maheswaran do Departamento de Patobiologia da Universidade de Minnesota, EUA.

4.1.3.4 FASE EXPERIMENTAL

Os quatro bezerros do lote foram submetidos ao exame físico e à colheita de sangue para realização do hemograma. No bezerro do GI, estes exames foram realizados entre 19 horas a 19 horas e 30 minutos do 35^o dia de sua chegada no HV-FMVZ e nos de GII a GIV, respectivamente, no 36^o, 37^o e 38^o dias após a alocação no HV-FMVZ, seguindo-se sempre a mesma ordem e horário (item 4.1.3.2). Isso possibilitou o estabelecimento de uma relação temporal relativamente fixa entre o momento da inoculação e a realização do exame físico e do hemograma de, aproximadamente, 12, 24, 48 e 72 horas, respectivamente, para os bezerros de GI a GIV.

Novas amostras das secreções nasais e nasofaríngeas dos bezerros de cada lote experimental foram colhidas para caracterizar a flora bacteriana das VAAs dos animais de cada grupo, GI a GIV, respectivamente, às 12, 24, 48 e 72 horas após a indução da MPB. Os exames microbiológicos utilizados estão descritos no item 4.2.3.

4.2 MÉTODOS

Como métodos de diagnóstico *antemortem* da MPB induzida pela cepa D153 de *M. haemolytica* A1, utilizaram-se o exame físico, o hemograma e os cultivos das secreções nasais e nasofaríngeas colhidas por *swab*. As técnicas empregadas são descritas a seguir.

4.2.1 EXAME FÍSICO

Os sinais clínicos apresentados pelos bezerros do experimento, sobretudo aqueles indicativos de alterações do trato respiratório provocadas pela MPB, foram pesquisados às 12, 24, 48 e 72 horas após a inoculação da cepa D153 de *M. haemolytica* A1, respectivamente, nos animais dos grupos GI a GIV. Utilizou-se protocolo de exame físico baseado em DIRKSEN et al. (1993) e critério clínico adotado por GONÇALVES et al. (2001). Os resultados obtidos foram registrados em fichas próprias (Anexos 1).

Neste experimento, os hemitóraces direito e esquerdo foram divididos em quatro quadrantes por uma linha imaginária vertical traçada junto à borda caudal da 5ª costela e por outra, horizontal, traçada na altura da articulação escápulo-umeral (Anexos 1). Os quadrantes dos lados direito e esquerdo foram identificados da seguinte forma: craniodorsal (QD1 e QE1), caudodorsal (QD2 e QE2), cranioventral (QD3 e QE3) e caudoventral (QD4 e QE4). Esta divisão foi realizada com o objetivo de estabelecer relações entre as alterações percebidas ao exame físico e as áreas anatômicas dos hemitóraces direito e esquerdo acometidas pela MPB (Anexos 1).

Utilizaram-se, neste experimento, escores de intensidade iguais para todos os sinais clínicos observados nos bezerros dos grupos GI a GIV, os quais variaram de zero a três, sendo: (a) e0, escore zero, a ausência do sinal clínico; (b) e1, escore um, a presença do sinal clínico com intensidade leve; (c) e2, escore dois, a presença do sinal clínico com intensidade

moderada; e (d) e3, escore três, a presença do sinal clínico com intensidade grave. Para a FC e a FR, os escores e0, ou ausência de alteração, equivaleram às faixas de variação normal para bezerros jovens apresentadas, respectivamente, por FEITOSA (2004) e GONÇALVES (2004). No caso da TC, empregou-se a classificação de febre proposta por DIRKSEN et al. (1993). Como não foram encontradas na literatura chaves de classificação dos aumentos da FC e FR em leve, moderado e grave, propuseram-se, neste trabalho, faixas de variação para os escores e1 a e3 que equivaleram, respectivamente, à soma de uma, duas ou três vezes o valor da diferença entre os limites máximo e mínimo da faixa de variação normal (escore e0) ao limite máximo da faixa de variação normal (Tabela 4).

Tabela 4. Faixas de variação dos escores de intensidade utilizados para classificação da Temperatura corporal (TC) e das Frequências Cardíaca (FC) e Respiratória (FR) em normal (e0) ou de suas elevações, após a indução da Mannheimiose Pneumônica Bovina pela cepa D153 da *M. haemolytica* A1 nos bezerros dos grupos GI a GIV, nos níveis de intensidade leve (e1), moderada (e2) e grave (e3)

SINAL VITAL	ESCORE *							
	e0		e1		e2		e3	
	MÍNIMO	MÁXIMO	MÍNIMO	MÁXIMO	MÍNIMO	MÁXIMO	MÍNIMO	MÁXIMO
TC (°C)	38,5	39,5	39,6	40,0	40,1	41,0	41,1	42,0
FC (bpm)	70	100	101	130	131	160	161	190
FR (mpm)	24	36	37	48	49	60	61	72

* Escore: e0, escore zero, sinal vital dentro da faixa de normalidade; e1, escore um, sinal vital levemente aumentado; e2, escore dois, sinal vital moderadamente aumentado; e3, escore três, sinal vital gravemente aumentado.

4.2.2 HEMOGRAMA

Após a realização do exame físico, tomando-se os cuidados necessários para não estressar os animais, uma amostra de 5 mL de sangue total foi colhida, por venopunção da jugular a vácuo, em tubo de

ensaio contendo EDTA-potássico. Realizou-se a contagem do número total de hemácias e de leucócitos e a determinação da concentração de hemoglobina em contador de células eletrônico ²; a contagem diferencial dos leucócitos (100 células) em esfregaços corados pela técnica rápida de Romanowsky ³; e a determinação do volume globular pelo método do microhematócrito (JAIN, 1986). Estes exames foram executados no Laboratório Clínico do Hospital Veterinário da Faculdade de Medicina Veterinária da UNESP - Botucatu.

4.2.3 EXAME MICROBIOLÓGICO DAS VAAs

Amostras das secreções nasais e nasofaríngeas dos bezerros de cada lote experimental foram colhidas após anti-sepsia das narinas com álcool-iodado a 2%, por meio de *swabs* protegidos por sonda-guia (VIANA, 2003). O material colhido foi acondicionado em tubos de ensaio contendo meio de transporte de Stuart e mantido sob refrigeração até o momento do processamento microbiológico (Figura 2). Os exames microbiológicos foram realizados no Laboratório de Diagnóstico Microbiológico de Moléstias Infecciosas da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – UNESP - Campus de Botucatu – SP.

² CC- 510 – CELM[®]

³ PANÓTICO – HEMATOLOG[®]



Figura 2. Material de coleta das secreções nasal e nasofaríngea (1). Procedimentos de coleta da secreção nasofaríngea: (2) anti-sepsia da narina; (3) sonda-guia; (4) introdução da sonda-guia até a nasofaringe; (5) passagem do swab por dentro da sonda-guia; (6) retirada do swab dentro da sonda guia, para proteção; (7) acondicionamento do swab em tubo contendo meio de transporte de Stuart.

As amostras das secreções nasais e nasofaríngeas foram submetidas aos seguintes exames bacteriológicos:

1) **Cultivo Direto:** Realizaram-se sementeiras em: (a) placas de ágar-sangue contendo 5% de sangue bovino; (b) placas de ágar-sangue contendo 5% de sangue bovino e 6 µg de vancomicina⁴ por mililitro de ágar, as quais foram utilizadas como meio seletivo para os gêneros *Mannheimia* e *Pasteurella*, por restringir o crescimento de outros microrganismos, sobretudo Gram-positivos; (c) placas de ágar de McConkey, que, além de propiciar isolamentos bacterianos primários, permitiu a identificação, classificação e diferenciação entre *M. haemolytica* e *P. multocida*, pois esta última espécie não cresce nesse meio de cultivo.

⁴ VANCOMICINA CP – LILLY®

Estas placas foram incubadas em estufa, sob aerobiose, a 37°C, por 48 horas, sendo a multiplicação bacteriana observada a cada 24 horas (CARTER & COLE JÚNIOR, 1990), como mostra a Figura 3.



Figura 3. Cepa de *Mannheimia haemolytica* A em ágar-sangue bovino (5%), apresentando halos de β -hemólise no entorno das colônias (1), colônias diminutas (± 1 mm) de *M. haemolytica* A em ágar de McConkey (2) e colônias de *Pasteurella multocida* em ágar-sangue bovino (5%), sem β -hemólise (3).

2) **Provas de Triagem:** As colônias isoladas de placas de ágar-sangue com vancomicina e suspeitas de pertencerem aos gêneros *Mannheimia* e *Pasteurella* foram submetidas a três provas de triagem: citocromo-oxidase, catalase e coloração de esfregaços pela técnica de Gram. As cepas de ambas as espécies são positivas para citocromo-oxidase e catalase e se apresentam como pequenos cocobacilos, Gram-negativos (CARTER & COLE JÚNIOR, 1990).

3) **Provas Bioquímicas:** As cepas de *M. haemolytica* e *P. multocida* recuperadas das secreções nasal e nasofaringeana foram submetidas às seguintes provas bioquímicas: (a) fermentação dos açúcares glicose, lactose, maltose, sacarose, manitol, e, no caso das cepas de *M. haemolytica*, de trealose e arabinose; (b) produção de urease e indol; (c)

redução da descarboxilase da ornitina; (d) presença de mobilidade (CARTER & COLE JÚNIOR, 1990), como mostra a Figura 4.



Figura 4. Perfil bioquímico de uma cepa de *Mannheimia haemolytica* A: (1) Urease negativa; (2) MIO - mobilidade, indol e ornitina dexcarboxilase – negativas; (3) maltose, (4) glicose, (5) lactose, (6) sacarose, (7) manitol e (8) arabinose positivas e (9) trealose negativa; (10) testemunha.

Nestas provas bioquímicas, as cepas de *P. multocida* diferenciam-se daquelas de *M. haemolytica* por apresentarem provas de produção de indol e de redução da descarboxilase da ornitina positivas e de fermentação de maltose e glicose negativas (CARTER & COLE JÚNIOR, 1990).

As cepas de *Mannheimia haemolytica* e *Pasteurella multocida* isoladas das secreções nasais e nasofaríngeas dos bezerros dos grupos GI a GIV de cada lote experimental foram congeladas a -20°C , após o enriquecimento em caldo de infusão de cérebro-coração (ICC), a 37°C por 24 horas e adição de 20% de glicerina estéril a 87% (CARTER & COLE JÚNIOR, 1990).

As bactérias da família *Enterobacteriaceae* isoladas das secreções nasais e nasofaríngeas dos bezerros dos lotes experimentais foram identificadas e classificadas no Laboratório de Diagnóstico Microbiológico de Moléstias Infecciosas da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – UNESP/Botucatu de acordo com técnicas microbiológicas de rotina (CARTER & COLE JÚNIOR, 1990).

4.2.4 INOCULAÇÃO

4.2.4.1 PRODUÇÃO DO INÓCULO DE *Mannheimia haemolytica* A1 - CEPA D153

Inicialmente, o conteúdo liofilizado de um frasco-ampola da cepa D153 de *M. haemolytica* A1 foi reidratado com 1 mL de água destilada estéril, homogeneizado por meio de *swab*, inoculado em 3 mL de caldo de ICC estéril e incubado sob aerobiose, a 37°C, por 24 horas.

Com o crescimento obtido no caldo de ICC, semearam-se três placas de ágar-sangue com 5% de sangue bovino e três placas de ágar-sangue com 5% de sangue bovino e 6 µg de vancomicina por mililitro de ágar (FIGUEIREDO, 1997). A pureza da cepa D153 de *M. haemolytica* A1 foi comprovada pelas características morfo-tintoriais das colônias isoladas presentes nas placas de ágar-sangue, pela sua multiplicação no ágar de McConkey e pelos resultados das provas de triagem e bioquímicas (CARTER & COLE JÚNIOR, 1990), conforme descrição no item 4.2.3.

Todas as colônias isoladas de *M. haemolytica* A1 presentes nas três placas de ágar-sangue com vancomicina foram recuperadas e inoculadas em 70 mL de caldo de ICC, estéril, o qual foi incubado em aerobiose, a 37°C, sob agitação constante de 150 ciclos/minuto⁵, durante quatro horas. Este enriquecimento em caldo de ICC foi dividido em 20 alíquotas de 3 mL. As alíquotas foram acondicionadas em tubo de ensaio com tampa de rosca contendo glicerina P.A. a 87%, estéril, na proporção de 20% do volume, e, posteriormente, congeladas a -70°C (MAHESWARAN, 2001)[†], até o momento da produção do inóculo a ser utilizado em cada um dos sete lotes experimentais, L1 a L7.

Os inóculos utilizados em cada um dos sete lotes experimentais, L1 a L7, foram produzidos durante seis dias consecutivos, empregando-se protocolo adotado por MAHESWARAN (2001)[†], com modificações propostas por CUNHA (2002)[‡], conforme descrição e fluxograma (Figura 5) a seguir.

- **Primeiro Dia:** Uma alíquota de 3 mL da cepa D153 de *M. haemolytica* A1, que havia sido acondicionada à -70°C, foi descongelada à temperatura ambiente, às 24 horas. A seguir, dois tubos de ensaio estéreis, “A e B”, contendo 5 mL de caldo de ICC foram inoculados com metade do volume desta alíquota ($\pm 1,5$ mL) e incubados sob condições de aerobiose, a 37°C, por 24 horas.

⁵ ORBITAL SHAKER – FORMA SCIENTIFIC®

[†] MAHESWARAN, S.K.. Help in research with *Mannheimia haemolytica* A1. Comunicação pessoal, 2001.

[‡] CUNHA, M.L.R.S. Auxílio no cultivo de *Mannheimia haemolytica* A1. Comunicação pessoal, 2001

- **Segundo Dia:** Às 24 horas, duas placas de ágar-sangue com 5% de sangue bovino e duas de ágar-sangue com 5% de sangue bovino e 6 µg de vancomicina, por mililitro de ágar, foram semeadas com cada um dos cultivos da cepa D153 em caldo de ICC, “A” e “B”, as quais foram incubadas em aerobiose, a 37°C, por 24 horas.
- **Terceiro Dia:** A pureza dos cultivos da cepa D153 nas placas de ágar-sangue e ágar-sangue vancomicina de ambos os inóculos, “A” e “B”, foi comprovada pelas características morfo-tintoriais, crescimento em ágar de McConkey, provas de triagem e provas bioquímicas de colônias isoladas da *M. haemolytica* A1, como descrito no item 4.2.3 (CARTER & COLE JÚNIOR, 1990). Todas as colônias isoladas obtidas de uma placa de ágar-sangue com vancomicina de cada um dos inóculos, “A” e “B”, foram semeadas, às 24 horas, em outros dois tubos, “A” e “B”, contendo 5 mL de caldo de ICC estéril, os quais foram incubados sob condições de aerobiose, a 37°C, por 24 horas.
- **Quarto Dia:** Às 24 horas, semearam-se seis placas de ágar-sangue e seis placas de ágar-sangue e vancomicina com o caldo de ICC dos inóculos “A” e “B” da cepa D153 oriundos da etapa anterior, as quais foram incubadas sob aerobiose, a 37°C, por 24 horas.
- **Quinto Dia:** A pureza da cepa D153 de *M. haemolytica* A1 foi comprovada às 24 horas, trabalhando-se com colônias isoladas obtidas das placas de ágar-sangue com vancomicina dos inóculos “A” e “B” da etapa anterior da mesma forma como se procedeu no terceiro dia.

- **Sexto Dia:** Entre 01 hora e 01 hora e 30 minutos, dois frascos contendo 100 mL de caldo de ICC estéril e pré-aquecido a 37°C, sendo um para o inóculo “A” e outro para o “B”, foram inoculados com o máximo de colônias isoladas obtidas das três placas de ágar-sangue com vancomicina em que o crescimento da cepa D153 de *M. haemolytica* A1 foi puro e exuberante. Neste momento, os frascos de caldo de ICC dos inóculos “A” e “B” foram incubados em aerobiose, a 37°C, sob agitação constante de 150 ciclos/minuto, durante sete horas.

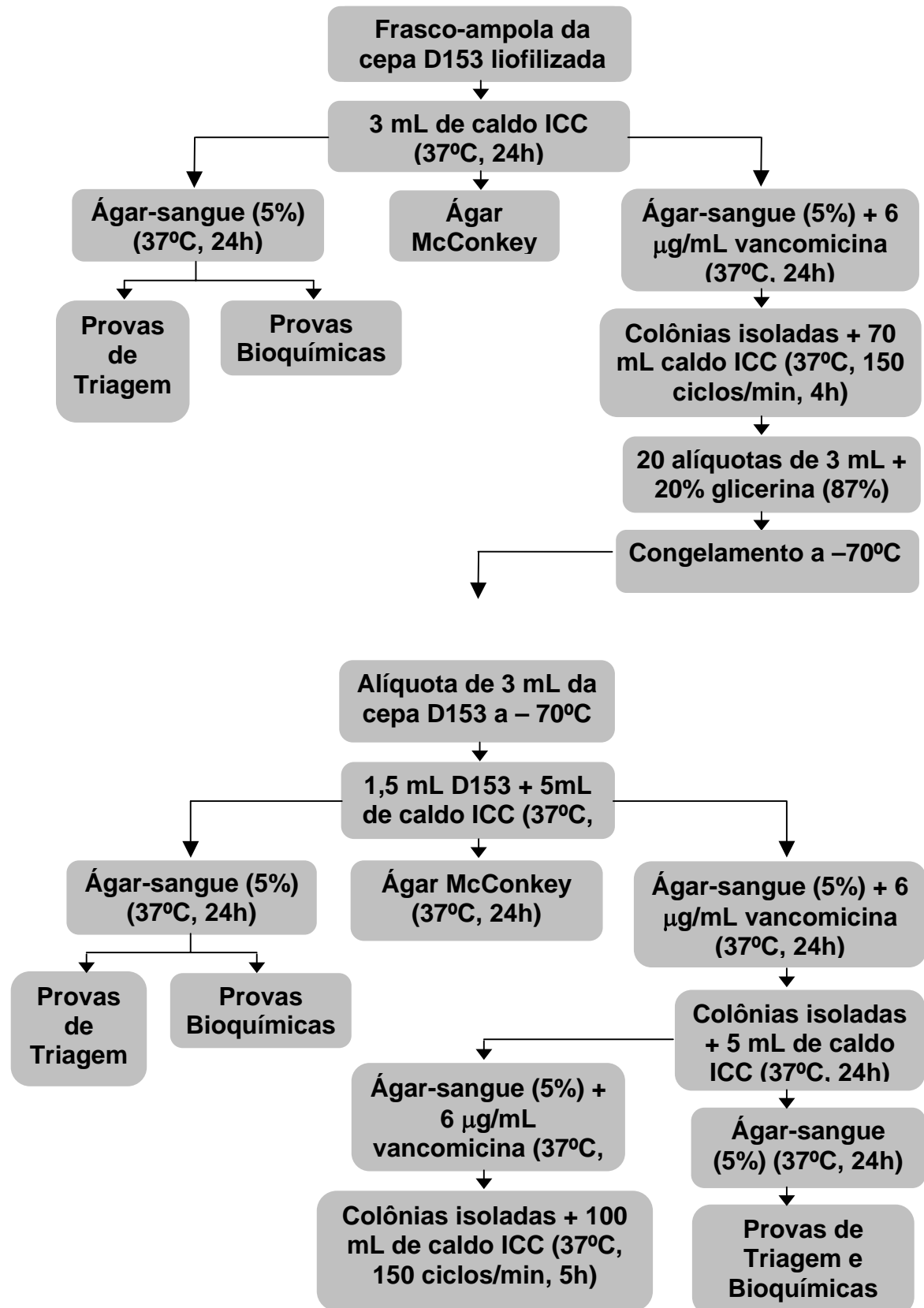


Figura 5. Fluxograma de produção do inóculo de *M. haemolytica* A1, cepa D153.

Na primeira meia hora de incubação sob agitação constante a 150 ciclos/minuto, e, a cada hora após, até atingir a sétima hora, a densidade óptica (DO) dos inóculos “A” e “B” foi determinada por espectrofotometria ⁶, utilizando-se comprimento de onda de 540 nm e densidade óptica igual a um (SHEWEN, 2001).

Simultaneamente, colheram-se, nestes mesmos tempos de incubação sob agitação constante a 150 ciclos/minuto, alíquotas de 100 µl do caldo de ICC de cada um dos inóculos, “A” e “B”. Estas alíquotas foram diluídas sucessivamente, em 900 µl de salina estéril a 0,9%, até a concentração 1×10^{-9} . Semearam-se 100 µl das diluições 1×10^{-4} a 1×10^{-8} de cada inóculo, “A” e “B”, em duas placas de ágar-sangue, as quais foram incubadas em aerobiose, a 37°C, por 24 horas (CARTER & COLE JÚNIOR, 1990).

A técnica de contagem de unidades formadoras de colônias (UFC) em placas de ágar-sangue descrita por SWANSON et al. (1992) foi utilizada com o objetivo de se determinar, retrospectivamente, a concentração de organismos viáveis da cepa D153 de *M. haemolytica* A1 dos inóculos “A” e “B”, produzidos para cada lote experimental.

Os valores da DO e do número de UFCs obtidos para o inóculo “A”, aos 30 minutos de incubação e a cada hora até a sétima hora, são apresentados no Tabela 5.

Após cinco horas de incubação dos inóculos “A” e, portanto, na 5ª hora da fase de multiplicação logarítmica da cepa D153 de *M. haemolytica* A1, colheram-se, individualmente, com seringas de polietileno de 20 mL e agulhas

40 x 16, estéreis, as doses dos inóculos que foram infundidas nos bezerros dos grupos GI a GIV de cada lote experimental, L1 a L7 (MAHESWARAN, 2001).

Em cada lote experimental, as doses dos inóculos "A" foram calculadas tomando-se como base os valores das DOs obtidos para a 5^a hora de incubação, de modo que a concentração total de organismos viáveis da cepa D153 de *M. haemolytica* A1 na dose total do inóculo fosse mantida entre 10⁸ a 10¹⁰ UFC (SHEWEN, 2001), como mostra a Tabela 6.

Isso se fez necessário porque o número de organismos viáveis da cepa D153 de *M. haemolytica* A1 na dose total do inóculo somente pôde ser determinado retrospectivamente, 24 horas após a inoculação, quando foram realizadas as contagens do número de UFCs de *M. haemolytica* A1 nas placas de ágar-sangue inoculadas com 100 µl do inóculo na 5^a hora de incubação (Tabela 6).

Na 5^a hora de incubação a 37°C, sob aerobiose e agitação constante de 150 ciclos/minuto, os inóculos, "A" e "B", foram semeados em três meio de cultivo, ágar-sangue, ágar-sangue com vancomicina e ágar de McConkey, e um esfregaço de cada inóculo foi corado pela técnica de Gram. Estes procedimentos foram utilizados para confirmar a pureza dos inóculos e caracterizar a cepa D153 de *M. haemolytica* A1, conforme técnicas microbiológicas descritas no item 4.2.3.

Tabela 5. Determinação retrospectiva do número de unidades formadoras de colônias (UFC) da cepa D153 de *M. haemolytica* A1, após 24 horas de incubação em placas de ágar-sangue em aerobiose, a 37°C, e valores da densidade óptica (DO) dos inóculos infundidos nos bezerros do lotes experimentais, L1 a L7, obtidos por espectrofotometria em comprimento de onda de 540 nm e DO igual a um, para os tempos de 30 minutos e primeira à sétima hora de incubação.

NÚMERO LOTE (MÊS/ANO)	TEMPOS DE INCUBAÇÃO DO INÓCULO DA CEPA D153 DE <i>M. haemolytica</i> A1 ¹															
	30 mim		1 hora		2 horas		3 horas		4 horas		5 horas		6 horas		7 horas	
	UFC	DO	UFC	DO	UFC	DO	UFC	DO	UFC	DO	UFC	DO	UFC	DO	UFC	DO
L1 (06/2002)	8	ND ^b	24	ND ^b	94	ND ^b	116	ND ^b	110	ND	15	ND ^b	C ^a	ND ^b	C ^a	ND ^b
L2 (07/2002)	C ^a	ND ^b	6	ND ^b	28	ND ^b	79	ND ^b	52	ND	16	1,619	C ^a	ND ^b	C ^a	ND ^b
L3 (09/2002)	6	0,480	17	0,712	56	1,140	157	1,262	188	1,360	238	1,440	280	1,590	242	1,654
L4 (10/2002)	92	1,094	108	1,235	204	1,313	228	1,382	244	1,44	271	1,493	268	1,540	191	1,548
L5 (11/2002)	62	0,958	76	1,212	180	1,394	228	1,484	282	1,572	354	1,639	412	1,723	267	1,75
L6 (03/2003)	38	0,793	50	1,019	128	1,288	174	1,345	192	1,408	246	1,450	304	1,545	210	1,559
L7 (04/2003)	3	0,741	4	1,013	10	1,334	15	1,555	53	1,668	82	1,754	30	1,931	C ^a	1,984

¹, Incubação em aerobiose, a 37° C, sob agitação constante de 150 ciclos/minuto; ^a, placas contaminadas, impedindo a contagem das UFCs; ^b, densidade óptica não mensurada devido a falhas no funcionamento do espectrofotômetro.

Tabela 6. Totais de UFCs, por mililitro e na dose total do inóculo, diluição, volume e densidade óptica (DO) dos inóculos da cepa D153 de *M. haemolytica* A1 na 5ª hora de incubação a 37°C, sob agitação constante de 150 ciclos/minuto, e volume de caldo de ICC estéril infundidos nos 28 bezerros dos lotes experimentais, L1 a L7.

LOTE (MÊS/ANO)	Nº DE ANIMAIS (GRUPO)	UFC ^A (TOTAL)	UFC ^B (/mL)	DILUIÇÃO DO INÓCULO ^C	VOL. DO INÓCULO ^D (mL)	UFC ^E	DO ¹	ICC ² (mL)
L1 (06/2002)	4 (GI a GIV)	7,50 x 10 ⁸	1,50 x 10 ⁸	10 ⁻⁶	5	15	ND *	5
L2 (07/2002)	4 (GI a GIV)	8,00 x 10 ⁸	1,60 x 10 ⁸	10 ⁻⁶	5	16	1,619	5
L3 (09/2002)	4 (GI a GIV)	1,19 x 10 ¹⁰	2,38 x 10 ⁹	10 ⁻⁶	5	238	1,440	5
L4 (10/2002)	4 (GI a GIV)	1,35 x 10 ¹⁰	2,71 x 10 ⁹	10 ⁻⁶	5	271	1,493	5
L5 (11/2002)	4 (GI a GIV)	1,42 x 10 ¹⁰	3,54 x 10 ⁹	10 ⁻⁶	4	354	1,693	6
L6 (03/2003)	4 (GI a GIV)	1,23 x 10 ¹⁰	2,46 x 10 ⁹	10 ⁻⁶	5	246	1,450	5
L7 (04/2003)	4 (GI a GIV)	3,28 x 10 ¹⁰	8,20 x 10 ⁹	10 ^{-7^a}	4	82	1,754	6

^A, Total de Unidades Formadoras de Colônia (UFCs) infundido em cada bezerro (A = B x D); ^B, Total de UFCs por mililitro de inóculo, calculado pela fórmula B = ([E x C] x 10), onde 10 é o fator de correção dos volumes dos inóculos semeados nas placas de ágar-sangue (100 µl); ^C, Diluições da curva de crescimento, na 5ª hora de incubação, em que foram realizadas as contagens das UFCs; ^D, Volume total dos inóculos infundidos em cada bezerro, determinado pela DO do inóculo; ^E, Média do número de UFCs na 5ª hora de incubação; ¹, Densidade óptica dos inóculos na 5ª hora de incubação, aferidas por espectrofotometria em comprimento de onda de 540 nm e densidade óptica igual a um; ², Volumes de caldo de ICC estéril infundidos, após a administração do inóculo, totalizando um volume de 10 mL; ^a, Diluição utilizada para contagem de UFCs do lote L7, devido à contaminação das placas da diluição 10⁻⁶; * ND, Densidade óptica não determinada devido a falhas no funcionamento do espectrofotômetro.

Os inóculos da cepa D153 de *M. haemolytica* A1 dos lotes experimentais L1 a L7 foram produzidos em duplicata, “A” e “B”, devido à necessidade de trabalhar com uma certa margem de segurança, para o caso de ocorrer algum problema de contaminação ou perda do inóculo em quaisquer das fases de produção. Como isso não ocorreu, devido aos cuidados tomados durante a manipulação, o inóculo “B” foi esterilizado por autoclavagem, a 120°C por 30 minutos, e descartado. Portanto, apenas os inóculos “A” foram utilizados para induzir a MPB nos bezerros dos lotes experimentais L1 a L7.

As doses dos inóculos “A” aplicadas nos bezerros de cada lote experimental (Tabela 6) foram mantidas sob refrigeração em caixa de isopor

com gelo (VESTWEBER et al., 1990) até o momento da infusão, que ocorreu em, no máximo, 30 minutos após a sua produção, mais precisamente entre 07 horas a 07 horas e 30min do 35^o dia de permanência dos bezerros do lote no HV-FMVZ/UNESP-Botucatu.

4.2.4.2 INFUSÃO DO INÓCULO DE *M. haemolytica* A1

Para executar o procedimento de inoculação, os bezerros dos lotes experimentais foram contidos em decúbito lateral direito, sem sedação. Após tricotomia e anti-sepsia da pele da região cervical ventral anterior com álcool iodado à 5%, foi realizado um bloqueio anestésico local com lidocaína a 1% (Figura 5).

Um cateter ⁸ de 20,3 cm de comprimento e 2,03 mm de diâmetro foi introduzido no espaço entre dois anéis traqueais do terço anterior da traquéia, até atingir a região da carina. Em seguida, as doses de 4 ou 5 mL do inóculo "A" da cepa D153 de *M. haemolytica* A1 foram infundidas nos bezerros dos lotes experimentais L1 a L7 (Tabela 6 e Figura 5).

Com o objetivo de promover o esvaziamento e a lavagem do cateter e de aumentar o volume líquido infundido, de modo a se obter maior dispersão dos organismos de *M. haemolytica* A1 nas vias aéreas do pulmão direito, mais 5 mL ou 6 mL de caldo de ICC estéril foram infundidos pelo cateter, totalizando 10 mL de infusão por bezerro inoculado (Tabela 6).

⁸ CATETER INTRAVENOSO I-CATH – TECNOBIO[®]

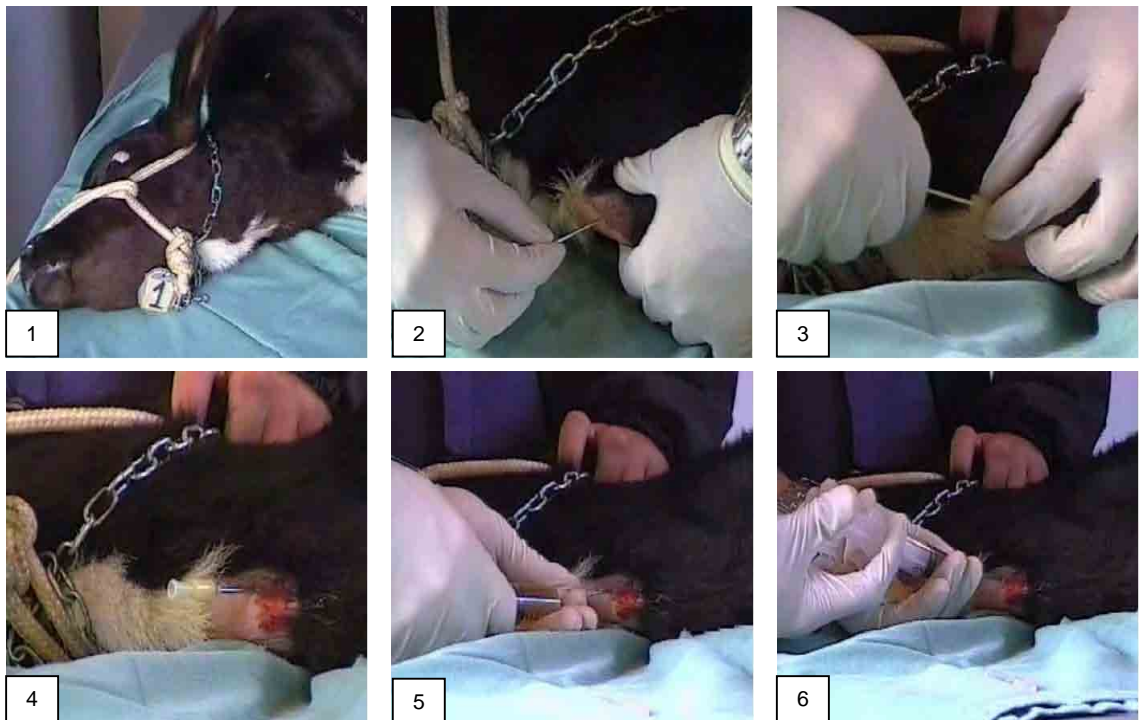


Figura 6. Sequência de procedimentos utilizados na inoculação: (1), Contenção do bezerro em decúbito lateral direito e preparo da área; (2), Introdução da agulha do cateter; (3), Passagem do cateter pela agulha; (4), Extremidade interna do cateter posicionada no terço final da traquéia; (5), Adaptação da seringa com o inóculo ao cateter e infusão do inóculo da cepa D153 de *M. haemolytica* A1; (6), Infusão de caldo de ICC para esvaziamento e lavagem do cateter.

4.2.5 DOCUMENTAÇÃO FOTOGRÁFICA

Os sinais clínicos apresentados pelos bezerros dos lotes experimentais L1 a L7 após a indução da MPB com a cepa D153 de *M. haemolytica* A1 foram filmados para obtenção de fotografias digitais.

4.2.6 EUTANÁSIA

Os bezerros dos lotes experimentais L1 a L7 foram eutanasiados, respectivamente, às 12, 24, 48 e 72 horas após a indução da MPB com a cepa D153 de *M. haemolytica* A1. Utilizou-se pentobarbital sódico (10-15 mg/kg de peso vivo) para manter os animais inconscientes (THURMON et al., 1996),

sendo a eletrocussão realizada de acordo com as recomendações do CCAC (1980).

4.2.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Em relação às variáveis quantitativas, utilizaram-se as seguintes análises paramétricas:

1. Teste t de Student pareado, segundo SNEDECOR & COCHRAW (1974), para comparar os momentos pré e pós-inoculação em relação às variáveis: Temperatura Corporal (TC), Frequência Cardíaca (FC), Frequência Respiratória (FR), Hemácias (He), Hemoglobina (Hb), Volume Globular (VG), Leucócitos (Le), Metamielócitos (Me), Neutrófilos Bastonetes (NeB), Neutrófilos Segmentados (NeS), Linfócitos (Li), Eosinófilos (Eo), Basófilos (Bs) e Monócitos (Mo).

2. A Análise de variância para a comparar os grupos GI a GIV entre si, considerando os lotes L1 a L7 como blocos, em relação às variáveis TC, FC, FR, He, Hb, VG, Le, Me, NeB, NeS, Li, Eo, Bs e Mo (SNEDECOR & COCHRAW, 1974).

3. O Teste de Tukey para comparar as variáveis FR, Le, NeS e Li, que apresentaram diferenças significativas entre os grupos na Análise de Variância, (SNEDECOR & COCHRAW, 1974).

No caso das variáveis qualitativas, empregaram-se as seguintes análises não-paramétricas:

1. Teste de Friedman, segundo SIEGEL (1975), utilizado para comparar os grupos GI a GIV entre si, considerando os lotes L1 a L7 como blocos, em relação às taxas de isolamento das bactérias *Arcanobacterium pyogenes*,

Bacillus spp., *E. coli*, *Enterobacter agglomerans*, *Enterobacter cloacae*, *M. haemolytica* A, *Micrococcus* spp., *Moraxella* spp., *Neisseria* spp., *P. multocida*, *Proteus* spp., *Staphylococcus* spp. e *Streptococcus* spp. nos swabs nasais e nasofaríngeanos, antes e após a indução da Mannheimiose Pneumônica Bovina com a cepa D153 de *M. haemolytica* A1.

2. Teste de Wilcoxon para comparar as frequências de isolamento dos agentes bacterianos citados acima, nos swabs nasais e nasofaríngeanos, antes da inoculação da cepa D153 de *M. haemolytica* A1, flora normal, e às 12, 24, 48 e 72 horas após o início da Mannheimiose Pneumônica Bovina, respectivamente, nos grupos GI a GIV.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 EXAME FÍSICO

Os valores basais das variáveis do exame físico, obtidos sete dias antes da inoculação, e a resposta dos bezerros às 12, 24, 48 e 72 horas após a indução da MPB com a cepa D153, respectivamente, nos grupos GI a GIV são apresentados nas Tabelas 7 a 9, Gráfico 1, Figura 7 e Anexos 1 a 3.

As médias da variação basal da TC, FC e FR dos animais dos grupos GI a GIV (Anexos 2) foram semelhantes aos valores de referência de bezerros jovens, sadios, citados por DIRKSEN et al. (1993), FEITOSA (2004) e GONÇALVES (2004) e também não diferiram daqueles apresentados por DESMECHT et al. (1996), BUREAU et al. (1998) e FAGLIARI (2003) para bezerros da raça Holandesa, machos, com sete a 35 dias de vida antes de serem inoculados com a *M. haemolytica* A1, sugerindo que a triagem por meio de exame físico e radiografias torácicas foi satisfatória, permitindo a seleção de animais hígidos para o experimento.

Os bezerros dos grupos GI a GIV responderam à inoculação da cepa D153 de *M. haemolytica* A1 com elevações nos sinais vitais TC, FR e FC, que, em valores médios, corresponderam a, respectivamente, 1,65, 1,07, 1,16 e

1,4°C, 37,71, 33,71, 40,57 e 51,43 mpm e 25,71, 12,57, 5,72 e 13,72 bpm (Tabela 6 e Gráfico 1).

Com exceção dos aumentos da FC dos momentos 48 h (GIII) e 72 h (GIV), as elevações dos valores da TC, FR e FC às 12, 24, 48 e 72 horas após a inoculação, respectivamente, nos grupos GI, GII, GIII e GIV, foram significativos ($P < 0,05$), como se observa na Tabela 7.

Tabela 7. Comparação entre as médias da Temperatura Corporal (TC), Frequência Cardíaca (FC) e Frequência Respiratória (FR), obtidas sete dias antes da inoculação da cepa D153 da *M. haemolytica* A1, variação basal, e às 12, 24, 48 e 72 horas após a indução da Manheimiose Pneumônica Bovina, respectivamente, nos bezerros dos grupos GI a GIV.

SINAL CLÍNICO	MÉDIA* ¹ ± DESVIO-PADRÃO		Valor de P
	GI (PRÉ- SETE DIAS)	GI (PÓS – 12 HORAS)	
TC (°C)	38,84 ± 0,34	40,49 ± 0,54	0,00 *
FC (bpm)	80,00 ± 12,22	105,71 ± 17,26	0,00 *
FR (mpm)	28,00 ± 5,66	65,71 ± 13,03	0,00 *
	GII (PRÉ- SETE DIAS)	GII (PÓS – 24 HORAS)	Valor de P
TC (°C)	39,14 ± 0,16	40,21 ± 0,48	0,00 *
FC (bpm)	82,86 ± 13,41	95,43 ± 14,50	0,00 *
FR (mpm)	24,00 ± 4,62	57,71 ± 11,97	0,00 *
	GIII (PRÉ- SETE DIAS)	GIII (PÓS – 48 HORAS)	Valor de P
TC (°C)	38,98 ± 0,23	40,14 ± 0,53	0,00 *
FC (bpm)	88,57 ± 9,91	94,29 ± 6,97	0,14
FR (mpm)	26,86 ± 3,80	67,43 ± 14,86	0,00 *
	GIV (PRÉ- SETE DIAS)	GIV (PÓS – 72 HORAS)	Valor de P
TC (°C)	39,07 ± 0,22	40,47 ± 0,87	0,01 *
FC (bpm)	84,57 ± 19,92	98,27 ± 11,04	0,06
FR (mpm)	28,00 ± 5,66	79,43 ± 13,35	0,00 *

* Diferenças significativas entre os momentos pré e pós-inoculação pelo teste *t* de Student para amostras pareadas ($P < 0,05$). ¹, Utilizaram-se sete bezerros em cada grupo, GI a GIV.

As elevações da TC e FC observadas após a indução da MPB se deveram, provavelmente, aos efeitos endotoxêmicos do LPS da *M. haemolytica* A1, pois, segundo RADOSTITS et al. (2000), a presença de LPS na circulação sistêmica estimularia o centro termorregulador a produzir mais calor interno e o aparelho cardiovascular a elevar a FC e, em geral, ocorre

endotoxemia na MPB (LILLIE, 1974; LINDEN et al., 1995 e BUREAU et al., 1998; RADOSTITS et al., 2000).

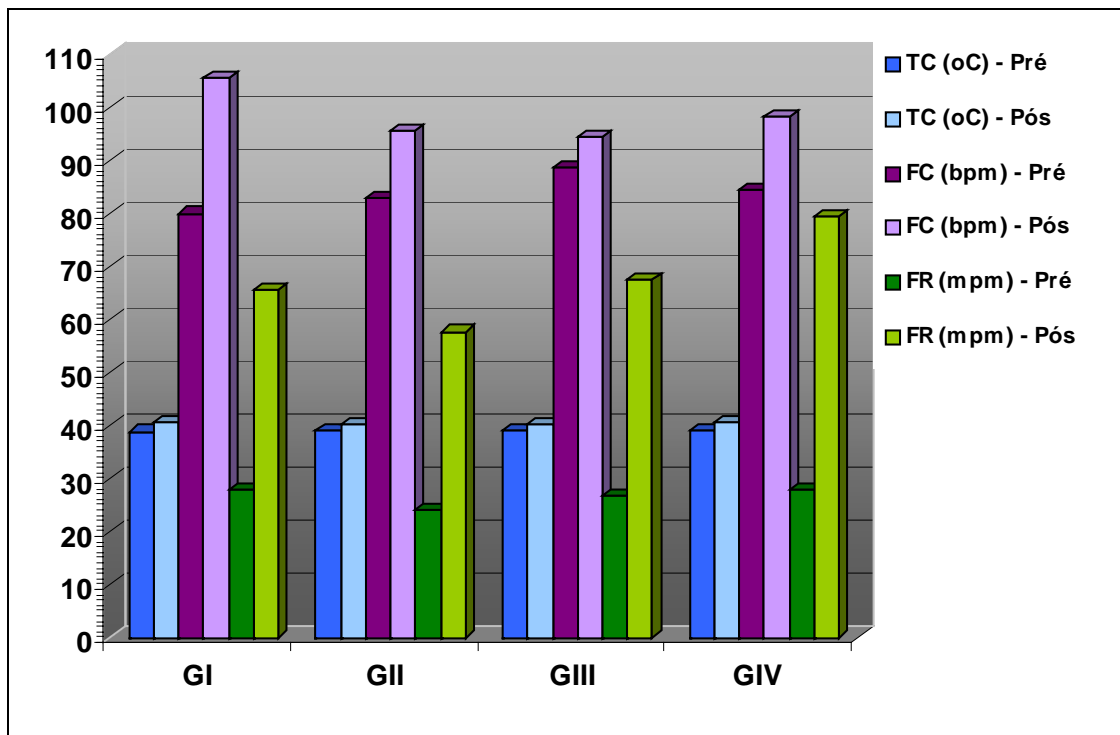


Gráfico 1. Valores médios da Temperatura Corporal (TC), Frequência Cardíaca (FC) e Frequência Respiratória (FR), aferidas antes da inoculação da cepa D153 de *M. haemolytica* A1, variação basal, e às 12, 24, 48 e 72 horas após a indução da MPB, respectivamente, nos bezerros dos grupos GI a GIV.

Às 12 horas após a indução da MPB, BUREAU et al. (1998) encontraram TCs mais elevadas ($39,80 \pm 0,13^{\circ}\text{C}$ e $39,90 \pm 0,20^{\circ}\text{C}$) que os valores basais em dois grupos de bezerros, mas estes valores da TC não foram diferentes ($P > 0,05$), como demonstrado na Tabela 2, de forma oposta ao que se observou no presente estudo, uma vez que a média da TC obtida às 12 horas ($40,49 \pm 0,54^{\circ}\text{C}$) foi diferente do seu valor médio basal ($38,84 \pm 0,34^{\circ}\text{C}$), como mostra a (Tabela 7).

Os aumentos significativos ($P < 0,05$) da TC às 12 h (GI) e 24 h (GII) após a indução da MPB também estão de acordo com os achados de FAGLIARI (2003), embora os valores médios obtidos no presente estudo,

respectivamente $40,49 \pm 0,54$ °C e $40,21 \pm 0,48$ °C, sejam superiores aos citados por este autor, $39,4 \pm 0,61$ °C às 12 h e $39,8 \pm 0,57$ °C às 24 h.

Embora BUREAU et al. (1998) e FAGLIARI (2003) tenham observado elevações da TC às 12 e 24 horas após a indução da MPB, como o ocorrido com os grupos experimentais GI (12 h) e GII (24 h), os valores encontrados neste experimento foram mais elevados que os obtidos por esses autores. Provavelmente, isso se deve aos seguintes fatores: (a) à maior virulência da cepa D153 em relação à cepa 12296 utilizada por FAGLIARI (2003), e também àquela utilizada por BUREAU et al (1998); (b) à maior virulência dos inóculos utilizados neste experimento, possivelmente por serem mais concentrados (Tabela 5) e, talvez, por possuírem maiores concentrações de LPS que o utilizado por FAGLIARI (2003), pois foram produzidos apenas em caldo BHI e não em meio de cultivo RPMI (SHEWEN & WILKIE, 1985); (c) aos efeitos da temperatura e umidade relativa do ar sobre estes sinais vitais (DIRKSEN et al., 1993), uma vez que os experimentos de BUREAU et al. (1998) e FAGLIARI (2003) foram conduzidos em países de clima temperado; e (d) a diferenças nos níveis séricos de anticorpos contra a *M. haemolytica* A1 entre os animais do presente estudo e os dos trabalhos citados, pois, segundo (THOMSON et al., 1975; SHEWEN, 2001), bezerros com títulos elevados de anticorpos não desenvolvem a MPB ou esta é menos intensa.

DESMECHT et al. (1996), observaram queda na TC às 10 horas após a indução da MPB em bezerros que desenvolveram doença leve ($38,9 \pm 0,7^{\circ}\text{C}$), moderada ($37,6 \pm 2,3^{\circ}\text{C}$) e grave ($37,1 \pm 0,1^{\circ}\text{C}$). Embora a diferença em relação aos valores basais tenha sido significativa apenas nos animais com

MPB moderada e grave (Tabela 2), a TC dos animais do trabalho citado se comportou de maneira oposta ao observado no grupo GI (12 h), pois ocorreu elevação significativa da TC em relação aos seus valores basais. Esta queda nos valores da TC poderia ser explicada, provavelmente, pelo quadro de choque endotoxêmico que se desenvolveu nas primeiras horas após a indução da MPB, como um resultado de particularidades relacionadas aos bezerros e inóculo utilizados: (a) bezerros eram mais jovens (sete a 14 dias) e foram desafiados com inóculo concentrado ($3,5 \times 10^{10}$ UFC), e, segundo SHEWEN (2001), bezerros com menos de 30 dias deveriam ser desafiados com cerca de 10^8 UFCs de *M. haemolytica* para que a doença produzida não seja demasiado grave; (b) utilizou-se grande volume de inóculo (30ml), o qual, provavelmente, se difundiu mais amplamente nos pulmões, facilitando o desenvolvimento de lesões mais extensas; (c) o inóculo foi cultivado somente em caldo BHI e infundido após 10h de cultivo; provavelmente, este continha maiores quantidades de LPS, pois, segundo SHEWEN & WILKIE (1985) com este tempo de incubação a fase estacionária estaria adiantada e teria ocorrido a liberação de quantidades significativas de LPS, o qual é, segundo RADOSTITS et al. (2000), o responsável pelas alterações típicas dos quadros de choque endotoxêmico na MPB, como a queda na temperatura corporal interna.

Os valores médios da FC obtidos às 12 horas ($105,71 \pm 17,26$ bpm) e às 24 horas ($95,43 \pm 14,50$ bpm) após a inoculação, respectivamente nos grupos GI e GII, foram significativamente maiores que aqueles aferidos antes da indução da MPB, à semelhança do que ocorreu no experimento realizado

por FAGLIARI (2003). Este autor encontrou FC média mais baixa às 12 horas ($96,7 \pm 12,8$ bpm) e bem mais elevada às 24 horas ($124,1 \pm 20,9$ bpm), as quais diferiram entre si, enquanto que, neste experimento, não se observou diferença significativa ($P > 0,05$) nos valores da FC obtidos para os grupos GI (12 h) e GII (24 h), como se observa na Tabela 8. Provavelmente, a quantidade de LPS dos inóculos deste experimento foi superior àquela do inóculo utilizado por FAGLIARI (2003), uma vez que o autor utilizou o meio de cultivo RPMI (SHEWEN & WILKIE, 1985); por causa disso, é provável que o animais deste estudo tenham respondido com maiores elevações da FC às 12 horas e, à medida que a ação do LPS sobre o aparelho cardiovascular diminuía com o avançar da MPB, a FC também diminuiu, explicando as FCs médias mais baixas observadas às 24 horas após a indução da MPB neste experimento.

As diferenças não significativas da FC nos grupos GIII (48 h) e GIV (72 h) (Tabela 7) poderiam ser atribuídas à diminuição dos efeitos sistêmicos do LPS, seja o que foi infundido com o inóculo ou aquele produzido nos pulmões dos bezerros pelos organismos de *M. haemolytica* A1 viáveis no inóculo, à medida que o curso da MPB aumentou. Segundo LINDEN et al. (1995) e BUREAU et al. (1998), as alterações cardiovasculares observadas nos casos de toxicidade sistêmica pelo LPS da *M. haemolytica* A1 são mais intensas nas primeiras horas após a indução da MPB. RHOADES et al. (1967), REECES et al. (1973) e REECE & WAHLSTROM (1974), observaram febre, sudorese e fraqueza muscular nas primeiras horas após a inoculação de bezerros com

LPS de *E. coli*, assim como circulação sistêmica progressivamente mais débil e lenta à mediada que o choque endotóxico se tornava iminente.

Neste experimento, a FR aumentou significativamente após a indução da MPB nos quatro grupos avaliados, sendo igual a $65,71 \pm 13,03$ mpm às 12 h (GI), a $57,71 \pm 11,97$ mpm às 24 h (GII), a $67,43 \pm 14,86$ mpm às 48 h (GIII) e a $79,43 \pm 13,35$ mpm às 72 h (GIV) (Tabela 7).

BUREAU et al. (1998) obtiveram FRs de $53,31 \pm 5,90$ mpm e $61,96 \pm 8,27$ mpm em dois grupos de bezerros às 12 horas após a indução da MPB, os quais foram mais baixos que os encontrados no grupo GI-12 h ($65,71 \pm 13,03$ mpm) deste estudo. Embora os valores obtidos por estes autores também sejam mais elevados que as respectivas FRs basais (Tabela 2), a cepa de *M. haemolytica* A1 que utilizaram não induziu aumentos significativos ($P < 0,05$) na FR às 12 horas após a indução da MPB, ao contrário do que se observou em resposta à cepa D153 utilizada neste experimento.

Às 10 horas após a indução da MPB, DESMECHT et al. (1996) encontraram FRs de $67,67 \pm 10,2$ mpm, $68,00 \pm 13,0$ mpm e $15,57 \pm 3,10$ mpm, respectivamente, em bezerros que desenvolveram quadros leves, moderados e graves da doença, as quais foram diferentes ($P < 0,05$) das respectivas FRs basais (Tabela 2). As FRs dos animais portadores de MPB leve e moderada foram um pouco superiores àquela observada às 12 horas no grupo GI ($65,71 \pm 13,03$ mpm), enquanto a FR dos animais com MPB grave foi muito inferior. Possivelmente, os animais com MPB grave do trabalho citado teriam desenvolvido um quadro de choque toxêmico grave, supostamente com

falência cardiorrespiratória iminente, pois foram observadas hipotermia ($37,1 \pm 0,1^{\circ}\text{C}$) e bradicardia ($15,57 \pm 3,10$ mpm).

Em outra pesquisa, FAGLIARI (2003) verificou que a FR dos bezerros aumentou significativamente às 12 h ($50,4 \pm 5,6$ mpm) e às 24 h ($54,5 \pm 71$ mpm) após a indução da MPB (Tabela 2). Estes resultados concordam com o observado no presente experimento, mas os valores obtidos por este autor também foram mais baixos que os induzidos pela cepa D153 às 12 e 24 horas após a inoculação.

Neste estudo, uma das prováveis causas para o aumento da FR nos quatro grupos experimentais seria o desenvolvimento concomitante de síndromes febris em todos os animais. Embora não tenha havido diferença significativa nos valores da TC entre os grupos GI a GIV (Tabela 8), os incrementos da TC e da FR observados nos grupos experimentais seguiram, aparentemente, padrões semelhantes com o avançar da MPB, os quais foram mais expressivos às 12 horas (GI), atingiram níveis mais baixos às 24 h (GII) e 48 h (GIII) e, às 72 h (GIV), expressaram um novo aumento. Esse padrão de comportamento reforçaria a possibilidade de uma relação direta entre TC e FR, pois, segundo RADOSTITS et al. (2000), RADOSTITS et al. (2002) e GONÇALVES (2004), o aumento da FR é um eficiente mecanismo de perda de calor interno em bovinos com febre.

As análises dos efeitos dos fatores de variação lote e grupo sobre os sinais vitais, TC, FC e FR, indicaram que somente a FR sofreu interferência significativa ($P < 0,05$) do fator lote e diferiu ($P < 0,05$) entre os grupos experimentais (Tabela 8).

Tabela 8. Efeito do fator lote, L1 a L7, e do fator grupo sobre as médias da Temperatura Corporal (TC), Frequência Cardíaca (FC) e Frequência Respiratória (FR) determinadas nos bezerros dos grupos GI a GIV, respectivamente, às 12, 24, 48 e 72 horas após a indução da Manheimiose Pneumônica Bovina com a cepa D153 de *M. haemolytica* A1.

FV ¹	GL ²	TC	FC	FR
		QM ³	QM	QM
GRUPOS	3	0,216 ^{ns}	184,952 ^{ns}	562,857*
LOTES	6	0,618 ^{ns}	257,142 ^{ns}	365,142*
ERRO	18	0,314	140,063	115,746

¹, Fator de Variação; ², Graus de Liberdade; ³, Quadrado Médio; ^{ns}, Não Significativo (P > 0,05); *, Significativo (P < 0,05).

A ausência de diferença significativa (P > 0,05) entre os momentos 12 h (GI) e 24 h (GII), em relação à TC e FR, está de acordo com o observado por FAGLIARI (2003). Em relação à FC, este autor obteve valores significativamente maiores às 24 horas, quando comparados àqueles observados às 12 horas após a indução da MPB (Tabela 2). Uma provável causa para a observação de FCs mais elevada às 24 horas no trabalho citado poderia ser o estresse da manipulação dos animais, pois, segundo o autor, não ocorreram diferenças significativas na TC e volume globular entre os momentos 12 e 24 horas. De acordo com RADOSTITS et al. (2000), o quadro de toxicidade sistêmica provocado pelo LPS pode induzir hemoconcentração, com conseqüente aumento do volume globular e da FC, mas, segundo LINDEN et al. (1995) e BUREAU et al. (1998), os efeitos do LPS da *M. haemolytica* A1 sobre o aparelho cardiovascular são mais expressivos nas primeiras horas após a indução da MPB, o mesmo sendo observado por RHOADES et al. (1967), REECES et al. (1973) e REECE & WAHLSTROM (1974) em relação à endotoxemia provocada pelo LPS da *E. coli*.

Embora não tenha havido diferença significativa ($P < 0,05$) entre os momentos experimentais 12, 24, 48 e 72 horas, em relação à TC e à FC, a observação de incrementos de TC e FC mais elevados às 12 horas (GI), quando comparados àqueles que ocorreram às 24 horas (GII) (Tabelas 7 e 8), sugere que o LPS que causou elevações mais intensas destes sinais no grupo GI (12 h) foi liberado, em princípio, durante a produção do inóculo, devido à morte dos organismos de *M. haemolytica* A1 que completaram seu ciclo (SHEWEN & WILKIE, 1985), e, portanto, foi infundido nos bezerros juntamente com o inóculo. Entretanto, pode-se supor que a liberação de LPS ainda tenha continuado dentro dos pulmões dos bezerros do grupo GI nas primeiras horas após a inoculação, em virtude da multiplicação do Grande número de organismos de *M. haemolytica* A1 que estava viável no inóculo infundido, e, por isso, a TC e a FC destes animais aumentaram mais intensamente que aquelas dos bezerros do grupo GII, aferidas às 24 horas após a inoculação.

Por outro lado, os maiores incrementos observados na TC e FC dos bezerros do GIV (72 h), se comparados àqueles dos grupos GII (24 h) e GIII (48 h), levantariam a suspeita de que os organismos de *M. haemolytica* A1 que, por ventura, tenham sobrepujado as defesas intrapulmonares provavelmente conseguiram se multiplicar novamente, às 72 horas. Possivelmente, esta “nova onda” de multiplicação foi menos intensa que aquela que teria ocorrido no grupo GI (12 h), gerada pelo grande número de organismos de *M. haemolytica* A1 viáveis no inóculo infundido, mas, assim mesmo, liberaram-se quantidades de LPS um pouco maiores que as que

estariam circulando no sangue dos bezerros do GII e GIII, o que justificaria os aumentos mais elevados da TC e FC dos animais do GIV (72 horas).

Como os bezerros utilizados neste experimento eram da mesma raça, sexo e idade e foram submetidos às mesmas condições de manejo, ou seja, constituíram-se lotes homogêneos, o efeito significativo ($P < 0,05$) do fator de variação lote sobre as FRs dos animais dos grupos GI a GIV, após a indução da MPB, ocorreu, provavelmente, ao fato de um maior número de animais ter sido trabalhado em períodos do ano em que a temperatura e umidade relativa do ar eram mais elevadas: os lotes L1 e L2 foram inoculados em junho e julho – inverno, os L3, L4 e L5 de setembro a novembro – primavera e os lotes L6 e L7 em março e abril – outono (Tabela 6). Como a temperatura e a umidade relativa do ar interferem na termorregulação e o aumento da FR é um eficiente mecanismo de perda de calor interno (RADOSTITS et al., 2000; RADOSTITS et al., 2002; FEITOSA, 2004), é provável que um maior número de animais, dentre aqueles dos lotes L3 a L7, tenha precisado manter FRs mais elevadas, se comparados aos animais dos lotes L1 e L2, não apenas em resposta à síndrome febril e à lesão pulmonar induzida pela cepa D153 de *M. haemolytica* A1, mas também para contrabalançar as elevações da temperatura corporal provocadas pelo aumento da temperatura e umidade relativa do ar e, dessa forma, manter níveis de TC que não comprometam a higidez e/ou o combate à inflamação induzida pela *M. haemolytica* A1.

O efeito significativo ($P < 0,05$) do fator lote sobre as FRs dos bezerros deste experimento estaria, de certa forma, ratificando a importância da adoção do cuidado metodológico de distribuir os bezerros dos grupos GI a GIV nos

lotes L1 a L7, uma vez que os efeitos das condições climáticas sobre os animais hígidos e, sobretudo, após a indução da MPB foram impostos de forma igualitária a todos os grupos experimentais, na medida em que estes estavam representados em todos os lotes, ao longo do período experimental.

Quando os grupos GI a GIV foram comparados entre si, em relação às FRs aferidas após a indução da MPB, verificou-se haver diferença significativa ($P < 0,05$) apenas entre os grupos GIV (79,43 mpm) e GII (57,71 mpm). Os valores obtidos para GIV não diferiram significativamente ($P > 0,05$) daqueles encontrados no GIII (67,43) e GI (65,71) e estes dois últimos grupos também não diferiram ($P > 0,05$) entre si e do grupo GII (Tabela 9).

TABELA 9. Comparação entre as médias da Frequência Respiratória (FR), obtidas às 12, 24, 48 e 72 horas após a indução da Manheimiose Pneumônica Bovina pela cepa D153 da *M. haemolytica* A1, respectivamente, nos bezerros dos grupos GI a GIV.

GRUPO	FR (mpm) *
GI (12 h)	65,71ab
GI (24 h)	57,71a
GIII (48 h)	67,43ab
GIV (72 h)	79,43 b

* Médias seguidas de mesma letra indicam diferenças não significativas entre grupos pelo Teste de Tukey ($P > 0,05$).

O valor significativamente ($P < 0,05$) mais elevado da FR dos bezerros do GIV (72 h) poderia ser explicado, provavelmente, pela tendência de aumentos mais expressivos da TC após a indução da MPB, quando comparados àqueles observados nos animais do GII (24 h), o que, por sua vez, poderia resultar em maiores perdas de calor interno e, assim, evitar os efeitos indesejáveis de temperaturas corporais internas demasiado elevadas (RADOSTITS et al., 2000).

Outra justificativa para FRs mais elevadas no grupo GIV seria a possibilidade de desenvolvimento de lesões pulmonares mais extensas e/ou mais graves, devido ao maior tempo de curso da MPB. Provavelmente, isso teria exigido dos bezerros do GIV uma elevação mais acentuada da FR, assim como movimentos respiratórios mais profundos, de modo a tentar manter, com hiperpnéia ou, até mesmo, com modos respiratórios dispnéicos (Anexos 3), níveis de trocas gasosas pulmonares compatíveis com a vida (RADOSTITS et al., 2000).

Embora AMES et al. (1985) e VESTWEBER et al. (1990a) tenham se valido de sistemas de escores pré-estabelecidos para graduar a intensidade da MPB experimental em bezerros, optou-se, neste estudo, pela não utilização de tais sistemas, de modo que a análise da resposta clínica dos próprios animais, após o término do experimento, indicasse a gravidade dos quadros de MPB observados em cada grupo experimental, GI a GIV. Além disso, a atribuição de pesos numéricos arbitrários aos sinais clínicos observados em bovinos com doenças respiratórias, como fizeram THOMAS et al. (1977) e BALMER et al. (1997), também não foi aplicada neste experimento com o intuito de evitar que alguns sinais clínicos fossem superestimados em detrimento de outros. Trabalhou-se, portanto, com a hipótese de que os sinais clínicos mais importantes em um determinado momento de avaliação, 12, 24, 48 ou 72 horas, seriam aqueles mais intensos e observados com maior frequência.

A frequência com que cada um dos quatro escores de intensidade, e0, e1, e2 e e3, foi atribuído aos sinais clínicos observados nos bezerros dos

grupos GI a GIV, respectivamente, às 12, 24, 48 e 72 horas após a indução da MPB com a cepa D153 da *M. haemolytica* A1 é apresentada nos Anexos 3.

Nos 28 bezerros dos grupos experimentais GI a GIV, os exames físicos realizados após a indução da MPB diagnosticaram 83 sinais clínicos distintos, se consideradas as subdivisões qualitativas ou por região anatômica (Anexos 3), mas os sinais clínicos básicos foram: apresentação em decúbito; depressão; aumento de tamanho dos linfonodos mandibulares e parotídeos; secreção ocular serosa, sero-mucosa e muco-purulenta; hiperemia das mucosas oculares; ejeção dos vasos da esclera; aumento do tempo de preenchimento capilar; diminuição da força e celeridade do pulso; dispnéia, com cabeça e pescoço distendidos ou abdução da articulação umerorradial; aumento da amplitude dos movimentos torácicos e abdominais à inspiração e à expiração; muflo ressecado; secreção nasal mucosa e muco-purulenta; hiperemia das mucosas nasais; aumento de temperatura do ar expirado; tosse espontânea e induzida seca ou úmida e superficial ou profunda; facilidade de indução da tosse; à auscultação, percebeu-se aumento da intensidade dos ruídos laringo-traqueal, traqueo-brônquico e brônquio-bronquiolar, ruídos adventícios traqueais, como crepitação grossa e sibilo, e torácicos, como crepitação grossa, sibilo, propagação dos batimentos cardíacos, roce pleural, diminuição relativa dos ruídos traqueo-brônquico e brônquio-bronquiolares e inspiração interrompida nos quadrantes torácicos; sub-macicez à percussão e sensibilidade dolorosa à palpação profunda do tórax; aumentos dos sinais vitais temperatura corporal, frequência cardíaca e frequência respiratória.

Como o número de sinais clínicos registrados foi bastante expressivo (Anexos 3), optou-se por agrupar aqueles que indicassem alterações de um mesmo sistema orgânico, ou de parte de um sistema, ou que refletissem alterações do estado geral dos animais dos quatro grupos experimentais, de modo a facilitar o estudo descritivo das diferenças entre os grupos em função do tempo de evolução da MPB.

Assim, estabeleceram-se os seguintes blocos alterações clínicas, que serão discutidos avaliando os grupos GI a GIV conjuntamente:

I - Alterações do Estado Geral (S1, S2, S19, S81):

Ao exame físico, a maioria dos bezerros foi encontrada em decúbito, mas assumindo uma posição normal, o decúbito esternal (S1), não sendo observada diferença marcante entre os grupos GI a GIV.

Observou-se comportamento normal ou levemente deprimido (S2) nos animais do GIV (72 h), com exceção de um bezerro que apresentou depressão grave, depressão moderada a leve naqueles do GII (24 h) e do GIII (48 h) e, no GI (12 h), o quadro depressivo aparentemente tendeu a ser um pouco mais grave, uma vez que todos os bezerros se mostraram menos alertas, a maioria com depressão moderada.

Provavelmente, a tendência de quadros depressivos mais pronunciados no grupo GI, 12 horas após a indução da MPB, se comparado aos demais grupos, se deveu aos efeitos sistêmicos mais intensos do LPS (RHOADES et al., 1967; REECES et al., 1973; LILLIE, 1974; REECE & WAHLSTROM, 1974; LINDEN et al., 1995 e BUREAU et al., 1998), à semelhança do que se discutiu

anteriormente, em relação aos aumentos da TC e da FC dos bezerros do grupo GI (12 h). A tendência de depressão mais pronunciada nas primeiras horas após indução MPB, com melhora do estado geral à medida que a MPB evolui, está de acordo com o observado por FRIEND et al. (1977), PANCIERA & CORSTVET (1984) e VESTWEBER et al. (1990 a,b).



Figura 7. A, Bezerro do grupo GI (12 h) em decúbito esternal, apresentado depressão leve.; B, Bezerro do grupo GI (12 h) apresentado depressão moderada, com cabeça e pescoço abaixados, e leve abdução da articulação umerorradial; C, Bezerro do grupo GIV (72 h), apresentando distensão da cabeça e pescoço, abertura dos membros torácicos e respiração com a boca aberta.

Pela análise isolada da TC (S81) nos Anexos 3, poder-se-ia esperar que os bezerros do GIV (72 h) apresentassem depressão um pouco mais intensa, sobretudo se comparados aos animais do GII e GIII, mas a posição em que foram encontrados no começo do exame físico (S1), assim como os escores de depressão (S2) que receberam, estão indicando tendência contrária. Um provável aumento da produção de LPS às 72 horas após a indução da MPB, em virtude da possibilidade de uma “nova onda” de multiplicação da *M. haemolytica* A1, seria o responsável pelos maiores incrementos na TC observados nos bezerros do GIV. Entretanto, os sinais de toxicidade sistêmica, causada pelo LPS, não teriam acompanhado o aumento da produção desta endotoxina nos animais do GIV (72 h), mas, ao contrário, teriam se tornado menos intensos, justificando a melhora do quadro depressivo às 72 horas após indução da MPB, o que estaria de acordo com os

achados de LINDEN et al. (1995) e BUREAU et al. (1998), que verificaram redução dos efeitos sistêmicos do LPS à medida que o curso da MPB aumenta.

Os animais apresentaram ressecamento do muflo (S19), um sinal que indica, segundo DIRKSEN et al. (1993), diminuição da produção de líquido seroso pelas glândulas do focinho em função da elevação da TC na síndrome febril. Aparentemente, ocorreu uma tendência de o muflo tornar-se menos ressecado de 12 (GI) para 72 horas (GIV), coincidindo com as tendências de incrementos mais discretos da TC nos animais do GII (24 h) e GIII (48 h), em relação àquela observada no GI (12 h), embora a TC no GIV (72 h) tenha apresentado tendência de aumento em relação aos dois momentos anteriores.

II - Alterações Cardiovasculares (S10 a S12, S82):

Neste experimento, observaram-se sinais indicativos de sepse, como depressão, febre, hiperemia das mucosas e ejeção dos vasos da esclera, à semelhança do que SMITH (2001) descreveu em animais com MPB natural.

A tendências de redução no aumento do tempo de preenchimento capilar (S10), de diminuição da debilidade do pulso (S11) e de aumento da celeridade do pulso (S12) observadas com o aumento do tempo de evolução da MPB, do GI (12 h) para GIV (72 h), sugerem melhora do quadro vascular periférico à medida que o curso da MPB aumenta, o que estaria de acordo com o observado por LILLIE (1974), LINDEN et al. (1995) e BUREAU et al. (1998), que verificaram alterações circulatórias periféricas mais intensas nas primeiras horas do curso da MPB, devido à grande quantidade de LPS no

inóculo infundido e à liberação desta endotoxina nos pulmões por causa da multiplicação dos organismos *M. haemolytica* A1 nos estágios iniciais da doença.

A FC (S82), por sua vez, mostrou tendência de diminuição dos incrementos às 24 (GII) e 48 horas (GIII), sendo os maiores incrementos observados nos animais do GI (12 h), seguido por aqueles do GIV (72 h). Este padrão de comportamento da FC acompanhou aquele observado para a TC, sugerindo que a FC tenha aumentado em resposta à hipertermia da síndrome febril, como mencionaram DIRKSEN et al. (1993) e RADOSTITS et al. (2000), sobretudo às 12 e 72 horas após a indução da MPB. Neste último momento, no grupo GIV, a tendência de maior incremento da FC foi acompanhada por tendência de melhora da circulação periférica, ratificando o efeito da elevação da TC sobre a FC quando os efeitos do LPS sobre a circulação periférica estão diminuindo, com o avançar da MPB.

A presença de apatia e congestão das membranas mucosas em bezerros da raça Holandesa com MPB experimental foi mencionada por FAGLIARI (2003), as quais são condizentes com os achados deste trabalho.

III - Alterações Oculares (S5 a S9):

Aparentemente, a hiperemia das mucosas oculares (S8) tendeu a se tornar mais intensa do GI (12 h) para GIII (48 h), mas, às 72 horas (GIV) após a indução da MPB, cinco animais apresentaram mucosas de coloração normal, um com hiperemia leve e outro com hiperemia moderada.

Quando avaliada isoladamente, a tendência de aumento da hiperemia das mucosas oculares de 12 para 48 horas após a indução da MPB estaria contrariando a argumentação de que a circulação periférica estaria tendendo à normalidade, à medida que a toxicidade sistêmica do LPS diminui com o aumento do curso da MPB, assim como observaram LILLIE, (1974), LINDEN et al. (1995) e BUREAU et al. (1998).

Observou-se grande variabilidade na presença e intensidade das secreções oculares serosa (S5), sero-mucosa (S6) e muco-purulenta (S7) nos animais deste experimento, tanto dentro de um grupo como entre os mesmos, não sendo notadas tendências de aumento da frequência ou da intensidade destas secreções, com aumento do tempo de evolução da MPB do GI (12 h) para GIV (72 h).

Juntamente com a hiperemia, a presença de secreções sero-mucosas a muco-purulentas estaria indicando o desenvolvimento de conjuntivite nos animais do experimento, pois, segundo DIRKSEN et al. (1993), a conjuntivite é caracterizada por mucosas congestionadas e presença de secreções em quantidade aumentada. Portanto, a hiperemia das mucosas oculares e o aumento da ejeção dos vasos da esclera (S9) não foram provocados apenas pelos efeitos sistêmicos do LPS da *M. haemolytica* A1, mas também por processos inflamatórios locais, com diferentes níveis de intensidade, o que justificaria níveis mais intensos de hiperemia e ejeção dos vasos da esclera na maioria dos bezerros dos grupos GII (24 h) e GIII (48 h), se comparados àqueles do GI (12 h).

Os quadros de conjuntivite provavelmente se deveram à disseminação retrógrada da cepa D153 de *M. haemolytica* A1 inoculada nos pulmões dos bezerros para induzir a MPB. A *M. haemolytica* A1 intrapulmonar poderia ter alcançado as conjuntivas oculares pelo sistema linfático do pescoço e cabeça, uma vez que foram observados aumentos de tamanho dos linfonodos parotídeos e mandibulares (item IV), ou, ao chegar às cavidades nasais em aerossóis expelidos a cada expiração, esta bactéria passaria às conjuntivas via ducto nasolacrimal. Outras bactérias como *Moraxella* spp. e *Arcanobacterium pyogenes* poderiam ser as causas da conjuntivite observadas nos animais deste experimento, conforme mencionado por DIRKSEN et al. (1993), ou complicar a inflamação provocada pela *M. haemolytica* A1.

IV - Alterações do Trato Respiratório:

A) Sinais de Alterações nas VAAs (S20 a S23)

Observou-se tendência de aumento do número de animais com secreções nasais mucosas (S20) do grupo GI para o GIV, que foi observada em intensidade leve, com exceção de um animal do GII em que esta apareceu em quantidade moderada. A presença de secreção muco-purulenta (S21) não apresentou tendência de aumento da frequência do GI (12 h) para GIV (72 h), mas a sua intensidade tendeu a aumentar no GIV, se comparada àquelas dos demais grupos.

A presença de secreções nas cavidades nasais, sobretudo aquelas muco-purulentas, poderia estar indicando, segundo RADOSTITS et al. (2002),

processos infecciosos bacterianos locais, os quais poderiam justificar a hiperemia das mucosas nasais (S22), que foi observada em intensidade leve e moderada em alguns animais, assim como aumentos leves da temperatura do ar expirado (S23), percebidos em três animais, nos grupos GI, GII e GIV.

Neste experimento, a inflamação das mucosas nasais ocorreu, provavelmente, devido à colonização das VAAs pela cepa de *M. haemolytica* A1 utilizada para induzir a MPB, como discutido no item IV, e/ou à colonização das cavidades nasal e nasofaríngea por outros organismos comensais, uma vez que diferentes agentes bacterianos, além da *M. haemolytica* A1, foram isolados em cultivos microbiológicos destas áreas nos animais experimentais (Tabela 16).

Entretanto, secreções oriundas dos pulmões também poderiam estar sendo expelidas pelas narinas, com ajuda da tosse, pois, segundo JUBB & KENNEDY (1985), uma das principais características de broncopneumonias como a MPB é a presença de grandes quantidades de exsudato fibrinocelular nos brônquios e bronquíolos e, de acordo com GONÇALVES (2004), a movimentação destes líquidos nas vias aéreas, com a respiração, estimula a tosse.

RADOSTITS et al. (2000), citam a presença de secreção nasal bilateral mucopurulenta como um sinal típico da MPB natural, mas VESTWEBER et al., (1990a) observaram apenas discreta secreção nasal purulenta bilateral em bovinos às 72 horas após a indução da MPB, o que está mais condizente com a intensidade das secreções nasais presentes nos animais deste experimento.

B) Tosse (S24 a S32):

Após a indução da MPB, os animais apresentaram tosse espontânea, que foi mais freqüentemente úmida (S24) e profunda (S27) do que seca (S25) e superficial (S26). Aparentemente, nos animais do GI a tosse foi menos freqüente e intensa do que naqueles do GII, GIII e GIV e os animais do GIII e GIV tenderam a tossir mais, e mais intensamente, que os bezerros do GII. Em relação à tosse induzida, esta também tendeu a ser mais úmida (S28) e profunda (S31) do que seca (S29) e superficial (S30) e a ocorrer mais vezes e em maior intensidade nos animais do GIV e GIII, se comparados àqueles do GII e GI. A facilidade de indução do reflexo de tosse (S32) tendeu a ser maior nos animais do GII, GIII e GIV, em relação aos bezerros do GI (Anexos 3).

De acordo com RADOSTITIS et al. (2000) e RADOSTITS et al. (2002), a tosse seca e superficial indica inflamação das VAAs, e, neste estudo, os animais que apresentaram este tipo de tosse provavelmente experimentaram inflamação das cavidades nasal e nasofaríngea em decorrência da colonização pela cepa de *M. haemolytica* A1 inoculada no pulmão e/ou por outros agentes bacterianos comensais das VAAs. Isso foi demonstrado pelos resultados dos cultivos microbiológicos de swabs colhidos destas regiões após a inoculação (item 5.3) e, também, pelo aumento de tamanho dos linfonodos regionais (item IV), como provável resposta à inflamação das VAAs.

Segundo RADOSTITS et al. (2002), a presença de tosse úmida e profunda nas broncopneumonias, como a MPB, indica que o animal está expectorando o exsudato inflamatório intrapulmonar. Assim, a tendência da tosse ser mais úmida e profunda e mais freqüente e intensa nos grupos

experimentais com maior tempo de evolução da MPB poderia estar sinalizando a consolidação dos processos de resolução das lesões broncopneumônicas, do GI (12 h) para GIV (72 h), pois, com tosses mais freqüentes e intensas, o exsudato presente nas vias aéreas intrapulmonares seria depurado mais rapidamente, permitindo melhor ventilação das áreas de trocas gasosas anteriormente obstruídas pelo exsudato inflamatório e, conseqüentemente, melhora do quadro broncopneumônico.

C. Alterações da Atividade Respiratória (S13 a S18; S80, S83):

Os bezerros desta pesquisa apresentaram febre (S81) e, em alguns animais, perceberam-se manifestações indicativas de dor em resposta à palpação profunda do tórax (S71 a S73). Nas primeiras horas após a indução da MPB, antes do momento 12 horas, é possível que alguns animais deste trabalho também tenham sentido dores, de intensidade variável, à respiração, pois, de acordo com WEEKLEY et al. (1998b), as pleuras são dotadas do Grande inervação e, quando estão inflamadas e se roçam, os animais manifestam sinais que indicam dor ao respirar.

A necessidade de perder calor, por causa da febre e do aumento do metabolismo basal decorrentes da infecção pela *M. haemolytica* A1, juntamente com a ocorrência de dor à respiração, são as duas causas mais freqüentes de taquipnéia, definida como respirações rápidas e superficiais (DIRKSEN et al., 1993; RADOSTITIS et al., 2000; RADOSTITS et al., 2002). Entretanto, nos momentos do curso da MPB avaliados neste trabalho, 12, 24, 48 e 72 horas, nenhum animal apresentou respiração rápida e superficial.

Provavelmente, nestes períodos do curso da doença já teria ocorrido o acúmulo de efusão inflamatória nas cavidades pleurais, separando os folhetos visceral e parietal, e/ou estes folhetos estariam presos uns aos outros, devido à formação de aderências. Segundo DIRKSEN et al. (1993), a presença de efusão ou aderências diminui a dor durante os movimentos respiratórios e são observadas após as primeiras horas do curso da MPB.

Todos os bezerros apresentaram FRs aumentadas (S83) e, na maioria dos casos, a amplitude dos movimentos respiratórios aumentou (S14 a S18) a ponto de a respiração tornar-se difícil ou laboriosa, o que RADOSTITS et al. (2000) definiram como dispnéia. A observação de hiperpnéia em alguns animais deste experimento está de acordo com os achados de ALLAN et al. (1985a).

A abdução da articulação umerorradial (S14) foi observada em um animal do GI (12 h) e em outro do GIV (72 h), que também apresentou distensão da cabeça e pescoço, respiração com a boca aberta e abertura dos membros torácicos (Figura 6). A abdução da articulação umerorradial também foi descrita na MPB natural por WEEKLEY et al. (1998b) e, segundo RADOSTITS et al. (2002), é um sinal que indica dispnéia inspiratória. A tendência de diminuição da distensão da cabeça e pescoço (S13), tanto em frequência quanto em intensidade, nos animais do GI para aqueles do GIV, seria um indício de tendência de diminuição da dificuldade inspiratória com o aumento do tempo de evolução da MPB.

Os aumentos da amplitude dos movimentos torácicos, tanto à inspiração (S15) quanto à expiração (S17), foram predominantemente leves

nos bezerros dos grupos GI a GIII e leves e moderados nos animais do GIV. A amplitude dos movimentos abdominais à inspiração (S16) e à expiração (S18), por sua vez, mostrou aumentos leves a intensos, os quais, aparentemente, tenderam a ser mais freqüentes e graves do GI (12 h) para GIV (72 h), sugerindo tendência de predomínio do componente expiratório na dispnéia mista com aumento do curso da MPB nos animais desta pesquisa. Esta respiração predominantemente abdominal é condizente com os achados de FAGLIARI (2003), mas o autor não estabeleceu relação entre a freqüência e intensidade das respirações abdominais e o curso da MPB experimental.

Nos estágios precoces das broncopneumonias, a congestão e o edema dificultariam a expansão pulmonar e, portanto, a entrada do ar, causando dispnéia inspiratória. À medida que o curso das broncopneumonias avança, o líquido inflamatório passa para a luz dos brônquios e bronquíolos, dificultando a saída de ar dos alvéolos, o que levaria à dispnéia expiratória (GONÇALVES, 2004). Quando essas alterações ocorrem simultaneamente, diz-se que o animal apresenta dispnéia mista (GONÇALVES, 2004).

Outro achado que sugere o predomínio do componente expiratório da dispnéia mista com o aumento do tempo de evolução da MPB, do GI (12 h) para GIV (72 h), é a presença de estridor expiratório do tipo ronco. Nos animais do GI (12 h), este estridor não foi ouvido; no GII (24 h), foi ouvido em um animal e sua intensidade era leve; no GIII (48) foi ouvido em dois animais, com intensidade leve em um deles e em outro com intensidade moderada; no GIV (72 h), foi ouvido em três animais, uma vez com intensidade leve e duas com intensidade moderada. Segundo RADOSTITS et al. (2000), este ronco

expiratório geralmente é ouvido nos casos graves de MPB ou naqueles com alguns dias de duração, quando a dispnéia é intensa.

Os aumentos concomitantes da frequência e amplitude dos movimentos respiratórios também poderiam ser justificados, à luz dos achados de FAGLIARI (2003), pelo desenvolvimento de hipoxemia e hipercapnia nos bezerros após a indução da MPB, ou seja, os animais teriam aumentado a frequência e a profundidade dos movimentos respiratórios na tentativa de captar mais O_2 e eliminar o CO_2 e, assim, restabelecer padrões de trocas gasosas compatíveis com a vida, pois a difusão e a ventilação se tornam difíceis em áreas onde as vias aéreas e o parênquima pulmonar estão preenchidos por líquido de edema ou exsudato inflamatório.

Nos momentos avaliados nesta pesquisa, 12, 24, 48 e 72 horas, a necessidade de sobreviver pareceu ser mais premente que aquela de proteger-se da dor que possa ter ocorrido devido à pleurite e, por isso, os animais apresentaram quadros de hiperpnéia a dispnéia mista, em detrimento de respirações rápidas e superficiais, à semelhança do que RADOSTITIS et al. (2000) descreveram como manifestações respiratórias típicas de bovinos com MPB natural.

Em síntese, os animais dos grupos GI a GIV apresentaram hiperpnéias a dispnéias mistas, caracterizadas por aumentos da amplitude dos movimentos abdominais mais intensos e freqüentes que aqueles do tórax, com a ocorrência de roncos expiratórios ou de alterações posturais como distensão da cabeça e pescoço e abdução da articulação umerorracial.

D. Alterações dos Ruídos Respiratórios Normais

1.1 Aumento da Intensidade do Ruído Laringo-Traqueal - RLT (S33):

Observou-se discreta tendência de aumento da intensidade do RLT nos animais do GIII e GIV, em relação àqueles do GI e GII, e, na maioria das vezes, este aumento foi mais intenso durante a expiração. Esta tendência também estaria reforçando a tendência de agravamento da dispnéia expiratória com o aumento do tempo de evolução da MPB, do GI (12 h) para GIV (72 h), em conformidade com o que foi exposto anteriormente.

Neste experimento, o aumento da intensidade do RLT ocorreu devido ao aumento da frequência e amplitude dos movimentos respiratórios (item IV-C), os quais seriam, segundo RADOSTITS et al. (2000), RADOSTITS et al. (2002) e GONÇALVES (2004), as causas desta alteração, que está de acordo com as observações de ALLAN et al. (1985a), VESTWEBER et al. (1990a), (RADOSTITS et al., 2000) e FAGLIARI (2003).

1.2 Aumento da Intensidade dos Ruídos Traqueo-Brônquicos - RTB (S36, S37) e Ruídos Brônquio-Bronquiolares - RBB (S38, S39):

O RTB foi avaliado nos quadrantes um e três de ambos os pulmões, enquanto que o RBB foi avaliado nos quadrantes dois e quatro, pois, segundo GONÇALVES (2004), o RTB é auscultado no terço anterior do tórax e o RBB nos dois terços posteriores.

No pulmão direito, o aumento do RTB (S36) tendeu a ser moderado no GI (12 h), foi leve no GII (24 h) e tendeu a ser leve a moderado no GIII (48 h) e GIV (72 h). O aumento do RBB (S38) no pulmão direito tendeu a ser

moderado no GI, leve no GII, moderado no GIII e leve a moderado no GIV. Portanto, não foram observadas tendências de aumentos do RTB e do RBB no pulmão direito com o avançar da MPB.

No pulmão esquerdo, o aumento do RTB (S37) tendeu a ser moderado no GI, leve no GII e leve a moderado no GIII e GIV. O RBB (S39) tendeu a apresentar aumentos moderados no GI, a estar normal a levemente aumentado no GII, a estar moderadamente aumentado no GIII e estar normal a moderadamente aumentado no GIV. Não foram observadas tendências de aumentos do RTB e do RBB no pulmão esquerdo com o avançar da MPB.

Neste experimento, dois fatores podem ter determinado o aumento da audibilidade do RTB e do RBB, à auscultação torácica: (1) a produção de ruídos mais altos, devido ao aumento da frequência e amplitude dos movimentos respiratórios, ou (2) a maior propagação de ruídos normais em tecidos pulmonares com densidade aumentada, devido à inflamação ou consolidação, como se observa nos casos de MPB (RADOSTITS et al., 2000).

A não constatação de tendências de aumentos da intensidade do RTB e do RBB, sobretudo no pulmão direito, com o aumento do tempo de evolução da MPB, acompanhando as tendências de aumento da frequência e amplitude dos movimentos respiratórios discutidas anteriormente, poderia ser explicada pelos seguintes fatores. Em primeiro lugar, pode-se supor uma provável diminuição da densidade do parênquima pulmonar, devido à diminuição do edema inflamatório intersticial com a evolução da MPB, uma vez que se observaram tendências, à auscultação, de crepitações mais frequentes e intensas do GI (12 h) para GIV (72 h) na região cranioventral direita, a qual

seria, segundo RADOSTITS et al. (2000), a região aonde mais freqüentemente se encontram as consolidações na MPB. Outra possibilidade seria, no caso da auscultação dos quadrantes torácicos ventrais (QD3, QD4, QE3 e QE4), a presença de exsudato nas cavidades pleurais, tornando os RTB e RBB mais abafados (RADOSTITS et al., 2000; RADOSTITS et al., 2002; GONÇALVES, 2004).

Apesar de não serem notadas tendências de aumento da intensidade do RTB e do RBB com a evolução da MPB nos grupos experimentais, os aumentos da intensidade destes ruídos no presente estudo estão de acordo com os achados de ALLAN et. (1985a), VESTWEBER et al. (1990a), RADOSTITS et al. (2000) e FAGLIARI (2003).

E) Ruídos Adventícios:

1.1. Crepitação (S34) e Sibilos (S35) Traqueais:

A presença de crepitação na traquéia (S34) foi evidenciada em intensidade moderada em um animal do GI (12 h) e em outro do GIV (72 h), enquanto que o sibilos traqueal foi auscultado em intensidade leve em animal do GI (12 h) e em outro do GIII (48 h). Segundo RADOSTITS et al. (2002), estes ruídos adventícios se devem ao acúmulo de muco ou exsudato na luz da traquéia. Neste experimento, estes ruídos ocorreram provavelmente devido à presença de exsudato pulmonar em quantidades significativas na luz desta via aérea de condução, os quais estavam sendo transportados à faringe ou cavidades nasais pelo aparelho mucociliar, com o auxílio da tosse, pois todos

os animais tossiram espontaneamente um pouco antes da auscultação da traquéia.

1.2 Torácicos

1.2.1 Crepitações Grossas (S40 a S43; S44 a S47):

No pulmão direito, observou-se tendência de aumento da frequência e intensidade das crepitações grossas no QD1 (S40) do GI para GIV. No QD2 (S41), apenas dois animais do GI (12 h) não apresentaram crepitações grossas e esta tendeu a apresentar intensidade moderada a leve em todos os grupos. No QD3 (S42), observou-se tendência de aumento da frequência e intensidade das crepitações grossas do GI para GIV. As crepitações grossas no QD4 (S43) foram auscultadas em quase todos os animais do experimento, com intensidade variando entre leve a moderada.

No pulmão esquerdo, a presença de crepitação grossa no QE1 (S44) não apresentou tendência de aumento da frequência ou da intensidade do GI para GIV, sendo auscultada em quatro animais de cada grupo e em intensidade predominantemente leve. No QE2 (S45), a crepitação grossa tendeu a ser mais freqüente do GI para GIV e a intensidade tendeu a diminuir, de moderada para leve. As crepitações grossas no QE3 (S46) tenderam a ser menos freqüentes e intensas nos bezerros do GII, quando comparados àquelas dos grupos GIII e GIV e, principalmente, do GI. No QE4 (S47), as crepitações grossas mostraram tendência de diminuição da frequência do GI para a GII, GIV e GIII e a intensidade variou de leve a grave.

A tendência de aumento da frequência e da intensidade das crepitações grossas auscultadas no QD3 com o aumento do tempo de evolução da MPB estaria indicando, provavelmente, a passagem de maiores quantidades de exsudato inflamatório para a luz das vias aéreas das porções ventrais do pulmão cranial direito. Segundo RADOSTITS et al. (2000), esta seria a região pulmonar primariamente acometida nos casos de MPB e, com um tempo maior de evolução da doença, o exsudato inflamatório presente no interstício pulmonar desta área provavelmente estaria alcançando as luz das vias aéreas em maiores quantidades.

A tosse e a própria movimentação do ar durante a respiração podem deslocar exsudatos inflamatórios comumente observados nas regiões pulmonares inflamadas, em decorrência da MPB, para vias aéreas contíguas ou de segmentos pulmonares ainda não acometidos. Deste modo, a localização de uma área pulmonar inflamada a partir da presença de crepitações poderia se tornar difícil, uma vez que estas não necessariamente estariam indicando inflamação das áreas em que foram auscultadas.

Por outro lado, com a evolução do curso da MPB, as lesões pulmonares provocadas pela *M. haemolytica* A1 podem ter se expandido para áreas mais caudodorsais do pulmão direito, justificando a auscultação de crepitações no QD1, em que se observou tendência de aumento da frequência e da intensidade com a evolução da doença, bem como nos quadrantes QD2 e QD4.

Em muitos casos, as lesões da MPB tendem a acometer os pulmões direito e esquerdo (RADOSTITS et al., 2000), o que justificaria a auscultação

de crepitação grossa nos quadrantes do pulmão esquerdo, assim como de ruídos normais de intensidade aumentada e de outros ruídos adventícios.

1.2.2 Sibilos (S48 a S50; S51 a S54):

A presença de sibilos no pulmão direito foi pouco freqüente nos animais deste experimento, ocorrendo em apenas oito animais e sempre em intensidade leve. Foram auscultados no QD1(S48) em um animal dos grupos GI, GII e GIV, no QD2 (S49) em um animal do GII e dois do GIII e no QD3 (S50) em um animal do GI e um do GIV. No pulmão esquerdo, auscultaram-se sibilos de intensidade leve em quatro bezerros do GIII, sendo um em cada quadrante QE1 (51), QE2 (52), QE3 (53) e QE4 (54). Em geral, os sibilos foram auscultados no final da inspiração e, segundo DIRKSEN et al. (1993) e GONÇALVES (2004), estariam indicando estreitamentos das vias aéreas pela deposição e aderência de secreções viscosas.

1.2.3 Inspiração Interrompida (S75 a S79):

As inspirações interrompidas foram auscultadas no QD1 (S75) em dois animais do GII e GIII, sendo que, em ambos os grupos, a intensidade foi leve em um animal e moderada em outro. No QD3 (S76), esta foi auscultada em intensidade leve e moderada em dois animais do GII e em intensidade moderada em um animal do GIII. No QD4 (S77), a inspiração interrompida foi percebida apenas em um animal do GIII, ocorrendo em intensidade moderada.

No pulmão esquerdo, perceberam-se inspirações interrompidas nos quadrantes QE1 (S78) e QE3 (S79) e, em ambos os casos, foram acometidos dois animais do GII e GIV, todos com intensidade moderada.

Na maioria das vezes, as inspirações interrompidas foram auscultadas com a parede torácica movimentando-se de uma única vez, o que, segundo GONÇALVES (2004), estaria indicando obstrução seqüencial de brônquios e bronquíolos com líquido em quantidade e viscosidade insuficientes para provocar crepitações grossas. Poucas vezes, o tórax se movimentou em dois tempos, o que, segundo GONÇALVES (2004), sugere dor à respiração. Como não se observou diminuição concomitante da amplitude dos movimentos respiratórios, sobretudo da parede torácica, as inspirações interrompidas percebidas nestes animais provavelmente ocorreram devido à excitação psíquica (GONÇALVES, 2004).

1.2.4 Diminuição Relativa da intensidade do Ruído Traqueo-brônquico (RTB) nos quadrantes QD3 (S64) e QE3 (S66), Diminuição Relativa da intensidade do Ruído Brônquio-bronquiolar (RBB) no quadrante QD4 (S65) e Sub-macicez (S67 a S70):

Nos animais em que o RTB e o RBB estavam mais audíveis, o aumento da intensidade destes ruídos foi observado em todo o campo de auscultação do RTB, o terço anterior do tórax, e do RBB, os dois terços posteriores. Entretanto, na extremidade ventral dos quadrantes QD3, QE3 e QD4, numa área correspondente ao diâmetro do diafragma do estetoscópio, os aumentos

da intensidade do RTB e do RBB foram menos intensos, relativamente ao que se auscultou nas regiões mais dorsais.

A auscultação de RTBs relativamente menos intensos na porção ventral no QD3 (S64) tendeu a ser mais freqüente nos animais do GIV (72 h), em relação aos grupos com menor tempo de evolução da MPB, e essa diminuição da intensidade tendeu a ser leve, com dois animais apresentado diminuição moderada. Na porção ventral do QD4 (65), a diminuição do RTB ocorreu de forma leve em apenas um animal do GIII e em dois do GIV.

No hemitórax esquerdo, observou-se RTB relativamente menos intenso na porção ventral do QE3 (S66), com diminuição de intensidade leve em um animal do GI e em outro do GII, enquanto que, no GIV, isso ocorreu em dois animais, sendo leve em um e moderada em outro.

A detecção de sub-macicez na porção ventral do QD3 (S67) mostrou tendência de aumento na freqüência do GI (12 h) para GIV (72 h) e a intensidade variou de leve a moderada. A sub-macicez no QD4 (S68) foi observada em dois animais GII (24 h), sendo leve em um e moderada em outro, e em intensidade leve em dois bezerros do GIII e em um do GIV.

No hemitórax esquerdo, a sub-macicez na porção ventral do QE3 (S69) ocorreu de forma leve, sendo observada em um animal do GI, GII e GIII e em dois do GIV. No QE4 (S70), apenas um bezerro do GI e outro do GIV apresentaram sub-macicez leve.

A auscultação de RTBs e RBBs relativamente menos elevados nas extremidades dos quadrantes pulmonares ventrais de ambos os pulmões, direito e esquerdo, estaria indicando, segundo RADOSTITS et al. (2000),

RADOSTITS et al. (2002) e GONÇALVES (2004), aumento da reflexão dos ruídos respiratórios pelo acúmulo de efusão pleural. A tendência de aumento da frequência de animais com RTBs e RBBs abafados do GI (12 h) para GIV (72 h) poderia estar indicando o aumento do número de animais com efusões pleurais na cavidade torácica, à medida que o tempo de evolução da MPB aumentou.

A presença de sub-macicez nas extremidades dos quadrantes ventrais do pulmão direito em alguns bezerros, à percussão torácica, ocorreu, provavelmente, devido ao preenchimento dos espaços intersticiais por exsudato inflamatório (GONÇALVES, 2004), o que, segundo RADOSTITS et al. (2000), é muito comum nesta região do pulmão em bovinos com MPB. Outra causa possível seria a atelectasia (GONÇALVES, 2004), mas esta poderia ser descartada por que não ocorreram áreas de silêncio pulmonar, mas apenas diminuições relativas do RTB e do RBB, indicando que as vias aéreas permaneceram patentes.

A tendência de um maior número de bezerros com sub-macicez nas extremidades dos quadrantes ventrais do pulmão direito, do GI (12 h) para GIV (72 h), poderia ser explicada, provavelmente, pelo maior acúmulo de exsudato inflamatório nestas áreas, por causa do efeito mais prolongado exercido pela gravidade, à medida que o tempo de evolução da MPB aumentou. Esta tendência natural poderia sugerir agravamento da consolidação na região ventral no GIV (72 h), mas, em contrapartida, observou-se tendência de aumento da frequência e intensidade das crepitações grossas no QD3 nos animais deste grupo, em relação àqueles em que o tempo de indução da

doença era menor. Isso poderia estar indicando uma movimentação do exsudato do interstício para as luz das vias aéreas, de modo que este possa ser expelido com a tosse, mostrando que o processo de resolução da inflamação estaria mais adiantado nos animais do GIV, se comparado àqueles dos grupos com menor tempo de evolução da MPB. Outra causa provável para o aumento da freqüência de sub-macicez nas extremidades dos quadrantes ventrais do pulmão direito, do GI (12 h) para GIV (72 h), seria o acúmulo de efusão nas cavidades pleurais, pois, segundo WEEKLEY et al. (1998a), este achado se torna mais comum em bovinos com MPB à medida que a doença evolui.

1.2.5. Roce Pleural (S55):

O ruído de roce pleural (S55) foi auscultado apenas em um bezerro do grupo GII (24 h), no QD3 e com intensidade leve. Este ruído indica inflamação das pleuras parietal e visceral (WEEKLEY et al., 1998b), mas o fato de ter sido auscultado em apenas um bezerro, dentre os 28 utilizados neste experimento, não significa que apenas este bezerro tenha desenvolvido pleurite, pois, segundo DIRKSEN et al. (1993), a movimentação dos folhetos pleurais inflamados em bovinos geralmente não produz roce pleural, pois a presença de exsudato na cavidade torácica reduz o roçar ou, caso ocorram aderências, este será impedido.

1.2.6 Propagação Cardíaca (S56 a S63):

Os batimentos cardíacos foram auscultados em todos os quadrantes dos hemitóraces direito e esquerdo, com intensidade variando, de um animal

para outro, entre leve a moderada. De uma maneira geral, o número de animais com ampliação da auscultação dos batimentos cardíacos para QD2, QD4, QE2 e QE4 foi mais baixo nos grupos GI a GIII, se comparados àqueles do GIV, mas não foram observadas tendências de ampliações mais expressivas das áreas de auscultação dos batimentos cardíacos com a evolução da MPB, do GI (12 h) para GIV (72 h).

Este tipo de alteração ocorre, segundo DIRKSEN et al. (1993), devido ao aumento da densidade do parênquima pulmonar por infiltração de exsudato inflamatório, que é uma característica marcante de áreas pulmonares inflamadas ou consolidadas em decorrência da MPB (RADOSTITS et al., 2000). Portanto, as lesões induzidas pela cepa de *M. haemolytica* A1 utilizada neste experimento provavelmente tornaram o tecido pulmonar adjacente ao coração mais denso, de forma que os batimentos cardíacos foram auscultados em todos os quadrantes.

À primeira vista, a menção de auscultação de batimentos cardíacos em todos os quadrantes pulmonares poderia sugerir a presença de lesões pulmonares demasiado extensas em todos os animais. Entretanto, considerando-se os traçados das linhas divisórias dos quadrantes propostos para este experimento, é mais provável que, na maioria dos animais, as lesões tenham se concentrado em segmentos pulmonares mais centrais, ou seja, nas regiões subjacentes à interseção entre as linhas vertical e horizontal, pois, em geral, a auscultação dos batimentos cardíacos nos quatro quadrantes confluía para o centro do tórax. Nos animais do GIV, devido ao maior tempo de curso da MPB, é provável que as lesões tenham sido um pouco mais amplas,

acometendo campos pulmonares mais caudodorsais, pois, em alguns casos a auscultação dos batimentos cardíacos foi além da área central do tórax. Além disso, alterações psíquicas decorrentes da manipulação dos bezerros durante o exame físico podem ter aumentado a frequência e intensidade dos batimentos cardíacos, contribuindo para a ampliação das áreas de auscultação, mesmo na ausência de tecido pulmonar mais denso.

F. Sensibilidade Dolorosa no Tórax (S71 a S74):

No hemitórax direito, a palpação profunda do QD1 (S71) induziu reações indicativas de dor leve em dois animais do GIII e de dor moderada em um bezerro de cada um dos demais grupos, GI, GII e GIV. A palpação profunda do QD3 (S72) eliciou expressões de dor moderada em um bezerro de cada um dos quatro grupos, GI a GIV, e, no GIII, outro animal apresentou manifestações de dor leve.

No hemitórax esquerdo, a palpação profunda do QE1 (S73) induziu dor, manifestação condizente com dor leve em um animal do GI, enquanto que a palpação profunda sobre o QE3 (S74) eliciou reações dolorosas em um bezerro do GI e em outro do GIV, ambas em intensidade moderada.

Embora os animais não tenham exteriorizado sinais clínicos que indicassem dor à respiração, nos momentos do curso da MPB avaliados 12, 24, 48 e 72 horas, como respirações rápidas e superficiais, a palpação profunda dos hemitóraces conseguiu eliciar, em alguns animais, sinais que indicavam dor, como o gemido, a tosse, o olhar para o costado ou a tentativa de esquivar-se durante a palpação. Estas respostas foram observadas à

palpação profunda dos QD1, QD3, QE1 e QE3, ou seja, de regiões anteriores de ambos os pulmões, o que estaria indicando localização anterior das lesões pulmonares da MPB, incluindo a pleurite, conforme as descrições de RADOSTITS et al. (2000).

Em suma, pode-se dizer que ocorreram tendências de melhora dos quadros de MPB à medida que o curso da doença aumentou, do GI (12 h) para GIV (72 h). Estas tendências foram notadas em relação ao estado geral dos animais, às alterações do sistema cardiovascular e oculares e, dentro do bloco de alterações do sistema respiratório, a observação de secreções nasais mais freqüentes e intensas, de tosse mais úmida e produtiva, de diminuição da dispnéia inspiratória e aumento da dispnéia expiratória e de aumento da freqüência e intensidade das crepitações grossas, sobretudo no QD3, também sinalizaram melhora clínica da MPB com o tempo, conforme as discussões apresentadas no estudo descritivo dos blocos de sinais clínicos, apresentado anteriormente, em cada item.

5.2 HEMOGRAMA

Os resultados dos hemogramas realizados sete dias antes da inoculação da cepa D153 de *M. haemolytica* A1, para obtenção da variação basal, e às 12, 24, 48 e 72 horas após a indução da MPB, respectivamente nos grupos GI a GIV, são apresentados nas Tabelas 10 a 13, Gráfico 2 a 4 e Anexos 4.

Os valores médios do número de hemácias, concentração de hemoglobina e volume globular obtidos antes da indução da MPB nos bezerros dos grupos GI e GII (Tabela 10) foram um pouco inferiores às faixas de referência apresentadas por FAGLIARI et al. (1998), mas se mantiveram dentro dos limites daquelas citadas para bovinos por JAIN (1986). Nos exames físicos realizados imediatamente antes da colheita do sangue, não foram observados sinais de anemia, como palidez das mucosas, nos bezerros destes grupos. Entretanto, como alguns animais dos grupos GI e GII apresentaram quadros de babesiose no início da fase de adaptação, é possível que alguns destes animais estivessem com anemia no momento da realização do hemograma, justificando a ocorrência de valores marginais para os constituintes dos eritogramas basais.

Os valores dos componentes do leucograma dos animais dos grupos GI e GII e de todas as variáveis do hemograma dos bezerros dos grupos GIII e GIV, obtidos antes da indução da MPB, se mantiveram dentro das faixas de referência de bezerros da raça Holandesa, sadios, com idade de aproximadamente 30 dias apresentadas por FAGLIARI et al. (1998) e daquelas de bovinos sadios citadas por JAIN (1986).

Tabela 10. Comparação entre as médias \pm desvio padrão do número de hemácias, concentração de hemoglobina, volume globular e números de leucócitos, metamielócitos, bastonetes, segmentados, linfócitos, monócitos e basófilos obtidas sete dias antes da inoculação da cepa D153 da *M. haemolytica* A1, variação basal, e 12, 24, 48 e 72 horas após a indução da Mannheimiose Pneumônica Bovina, respectivamente, nos bezerros dos grupos GI a GIV.

VARIÁVEIS	GRUPO I ¹			GRUPO II ¹		
	PRÉ	PÓS (12 h)	Valor de P	PRÉ	PÓS (24 h)	Valor de P
Hemácias (x 10 ⁶ /μl)	6,48 \pm 1,53	8,38 \pm 2,92	0,236	6,81 \pm 1,47	7,37 \pm 1,19	0,323
Hemoglobina (g/dl)	8,23 \pm 1,53	10,09 \pm 4,94	0,376	8,56 \pm 1,93	8,81 \pm 1,47	0,586
VG (%)	26,29 \pm 4,23	35,14 \pm 15,48	0,203	27,14 \pm 5,98	28,43 \pm 4,12	0,343
Leucócitos (x 10 ³ /μl)	10,15 \pm 2,77	29,27 \pm 10,94	0,003 *	10,28 \pm 2,33	22,70 \pm 9,27	0,005 *
Metamielócitos (x 10 ³ /μl)	0,00 \pm 0,00	0,14 \pm 0,25	0,173	0,00 \pm 0,00	0,00 \pm 0,00	1,000
Bastonetes (x 10 ³ /μl)	0,00 \pm 0,00	1,30 \pm 1,27	0,034 *	0,01 \pm 0,04	0,32 \pm 0,40	0,103
Segmentados (x 10 ³ /μl)	3,94 \pm 1,60	18,94 \pm 10,32	0,007 *	3,74 \pm 1,27	14,53 \pm 7,52	0,005 *
Linfócitos (x 10 ³ /μl)	5,52 \pm 2,23	8,05 \pm 5,45	0,298	6,14 \pm 1,91	6,91 \pm 2,21	0,451
Monócitos (x 10 ³ /μl)	0,59 \pm 0,51	0,83 \pm 1,47	0,698	0,36 \pm 0,25	0,94 \pm 1,00	0,159
Eosinófilos (x 10 ³ /μl)	0,07 \pm 0,16	0,00 \pm 0,00	0,269	0,01 \pm 0,03	0,00 \pm 0,00	0,356
Basófilos (x 10 ³ /μl)	0,02 \pm 0,05	0,00 \pm 0,00	0,356	0,00 \pm 0,00	0,00 \pm 0,00	1,000
VARIÁVEIS	GRUPO III ¹			GRUPO IV ¹		
	PRÉ	PÓS (48 h)	Valor de P	PRÉ	PÓS (72 h)	Valor de P
Hemácias (x 10 ⁶ /μl)	8,37 \pm 0,63	8,02 \pm 0,98	0,261	7,80 \pm 0,88	8,29 \pm 0,98	0,281
Hemoglobina (g/dl)	10,42 \pm 1,66	9,84 \pm 1,87	0,139	10,14 \pm 1,02	10,27 \pm 0,61	0,768
VG (%)	33,71 \pm 4,92	32,43 \pm 6,43	0,306	32,43 \pm 3,31	32,57 \pm 1,40	0,895
Leucócitos (x 10 ³ /μl)	8,89 \pm 2,59	16,75 \pm 8,18	0,056	11,90 \pm 1,54	14,51 \pm 8,82	0,393
Metamielócitos (x 10 ³ /μl)	0,00 \pm 0,00	0,00 \pm 0,00	1,000	0,00 \pm 0,00	0,00 \pm 0,00	1,000
Bastonetes (x 10 ³ /μl)	0,00 \pm 0,00	0,05 \pm 0,12	0,356	0,09 \pm 0,23	0,05 \pm 0,12	0,760
Segmentados (x 10 ³ /μl)	3,86 \pm 2,18	8,81 \pm 6,25	0,102	4,33 \pm 0,92	7,54 \pm 6,37	0,177
Linfócitos (x 10 ³ /μl)	4,52 \pm 1,21	7,00 \pm 1,82	0,036 *	6,86 \pm 1,71	6,28 \pm 2,61	0,497
Monócitos (x 10 ³ /μl)	0,53 \pm 0,38	0,82 \pm 0,41	0,038 *	0,60 \pm 0,49	0,59 \pm 0,61	0,907
Eosinófilos (x 10 ³ /μl)	0,00 \pm 0,00	0,07 \pm 0,13	0,196	0,00 \pm 0,00	0,05 \pm 0,12	0,356
Basófilos (x 10 ³ /μl)	0,00 \pm 0,00	0,00 \pm 0,00	1,000	0,02 \pm 0,05	0,00 \pm 0,00	0,356

* Diferenças significativas entre os momentos pré e pós-inoculação pelo teste t de Student para amostras pareadas (P< 0,05). ¹ Utilizaram-se sete bezerros em cada grupo, GI a GIV.

TABELA 11. Efeito do fator lote, L1 a L7, e do fator grupo sobre os valores médios do número de hemácias (He), concentração de hemoglobina (Hb), volume globular (VG) e números de leucócitos (Le), metamielócitos (Me), neutrófilos bastonetes (NeB), neutrófilos segmentados (NeS), linfócitos (Li), eosinófilos (Eo), basófilos (Bf) e monócitos determinados antes da inoculação da cepa D153 de *M. haemolytica* A1, variação basal, e às 12, 24, 48 e 72 horas após a indução da Mannheimiose Pneumônica Bovina, respectivamente, nos bezerros dos grupos GI a GIV.

PRÉ-INOCULAÇÃO															
FV ¹	GL ²	He	Hb	VG	Le	Me	Bt	Se	Li	Eo	Bs	Mo	QM	QM	QM
		(x 10 ⁹ /μl)	(g/dl)	(%)	(x 10 ³ /μl)	(x 10 ³ /μl)	(x 10 ³ /μl)	(x 10 ³ /μl)	(x 10 ³ /μl)	(x 10 ³ /μl)	(x 10 ³ /μl)	(x 10 ³ /μl)			
GRUPOS	3	5,319 *	8,496 ^{ns}	97,083 *	10,651 ^{ns}	0,000	0,013 ^{ns}	0,455 ^{ns}	6,870 ^{ns}	0,009 ^{ns}	0,001 ^{ns}	0,086 ^{ns}			
LOTES	6	1,853 ^{ns}	0,571 ^{ns}	3,905 ^{ns}	5,408 ^{ns}	0,000	0,018 ^{ns}	1,564 ^{ns}	4,287 ^{ns}	0,006 ^{ns}	0,003 *	0,385 *			
ERRO	18	1,272	3,094	28,333	5,592	0,000	0,013	2,744	2,903	0,007	0,001	0,107			
PÓS-INOCULAÇÃO															
FV ¹	GL ²	He	Hb	VG	Le	Me	Bt	Se	Li	Eo	Ba	Mo	QM	QM	QM
		(x 10 ⁹ /μl)	(g/dl)	(%)	(x 10 ³ /μl)	(x 10 ³ /μl)	(x 10 ³ /μl)	(x 10 ³ /μl)	(x 10 ³ /μl)	(x 10 ³ /μl)	(x 10 ³ /μl)	(x 10 ³ /μl)			
GRUPOS	3	1,447 ^{ns}	3,002 ^{ns}	53,809 ^{ns}	306,493*	0,036 ^{ns}	2,487 *	195,537 *	3,769 ^{ns}	0,009 ^{ns}	0,000	0,155 ^{ns}			
LOTES	6	3,192 ^{ns}	5,597 ^{ns}	49,738 ^{ns}	160,149 ^{ns}	0,015 ^{ns}	0,362 ^{ns}	132,702 *	4,199 ^{ns}	0,006 ^{ns}	0,000	1,008 ^{ns}			
ERRO	18	2,880	8,284	83,309	63,395	0,015	0,477	36,679	13,497	0,008	0,000	0,892			

^{ns}, Não Significativo (P > 0,05); *, Significativo (P < 0,05); ¹, Fator de Variação; ², Grau de Liberdade; ³, Quadrado Médio.

De acordo com os resultados das análises de variância (Tabela 11), efeitos significativos ($P < 0,05$) do fator de variação lote sobre as variáveis dos hemogramas realizados antes da indução da MPB, variação basal, foram observados apenas em relação números médios de basófilos e monócitos. Provavelmente, isso ocorreu devido a uma maior variabilidade dos números destes dois tipos celulares entre os bezerros dos grupos GI a GIV dentro de um determinado lote, se comparada àquelas observadas nos outros lotes, pois as condições climáticas dos diferentes períodos do ano em que os lotes foram trabalhados não deveriam, aparentemente, influenciar estas variáveis, ao contrário do que se observou em relação da frequência respiratória, como foi discutido no item 5.1. Ainda assim, deve-se ratificar que o cuidado metodológico de se colocar um bezerro de cada um dos quatro grupos experimentais, GI a GIV, em todos os lotes, L1 a L7, foi pertinente.

As análises de variância (Tabela 11) realizadas para avaliar a influência do fator grupo sobre as variáveis dos hemogramas basais indicaram que apenas o número de hemácias e o volume globular sofreram efeitos significativos ($P < 0,05$) deste fator.

Os resultados dos testes de Tukey (Tabela 12) mostraram que o número de hemácias do grupo GI (12 h) foi significativamente ($P > 0,05$) mais baixo que o do grupo GIII (48 h), mas os valores destes dois grupos não diferiram dos resultados obtidos para GII (24 h) e GIV (72 h), que também foram iguais entre si.

TABELA 12. Comparação entre os grupos GI a GIV em relação às medias absolutas da contagem de hemácias (He) e do volume globular (VG), determinados antes da indução da Mannheimiose Pneumônica Bovina com a cepa D153 da *M. haemolytica* A1.

GRUPO	He ($\times 10^6/\mu\text{l}$)	VG (%)
GI (12 h)	6,48 a	26,29 a
GII (24 h)	8,56 ab	27,94 a
GIII (48 h)	8,37 b	33,71 a
GIV (72 h)	7,80 ab	32,43 a

* Médias seguidas de mesma letra indicam diferenças não significativas pelo Teste de Tukey ($P > 0,05$)

Em relação ao volume globular, o teste de Tukey (Tabela 12) não identificou diferenças entre os grupos GI a GIV, provavelmente por que as diferenças detectadas pela análise de variância (Tabela 11) foram muito sutis e, assim, os grupos foram considerados iguais em relação a esta variável. O efeito do fator grupo sobre o número de hemácias se deve, provavelmente, à ocorrência de quadros clínicos de babesiose nos animais do GI (12 h) e GII (24 h) durante o período de adaptação, como se discutiu anteriormente.

Após a indução da MPB, obtiveram-se as seguintes médias \pm desvios padrões para o número de hemácias: $8,38 \pm 2,92 \times 10^6/\mu\text{l}$ no GI (12 h), $7,37 \pm 1,19 \times 10^6/\mu\text{l}$ no GII (24 h), $8,02 \pm 0,98 \times 10^6/\mu\text{l}$ no GIII (48 h) e $8,29 \pm 0,98 \times 10^6/\mu\text{l}$ no GIVI (72 h), como demonstrado na Tabela 10. Ocorreram aumentos do número de hemácias no GI, GII e GIV após a indução da MPB, ao passo que no GIII a contagem diminuiu, mas, em todos os grupos, as alterações em relação aos valores basais não foram significativas (Tabela 10 e Gráfico 2) .

A contagem de hemácias do grupo GI (12 h) foi um pouco superior àquelas obtida por BOUREAU et al. (1998), $7,60 \pm 0,55 \times 10^6/\mu\text{l}$, e por FAGLIARI (2003), $7,69 \pm 0,91 \times 10^6/\mu\text{l}$ (Tabela 3). Em ambos os trabalhos, o número de hemácias aumentou após a indução da MPB, mas os autores não

encontraram diferença estatística em relação aos valores basais, o que está de acordo com observado nesta pesquisa (Tabela 10).

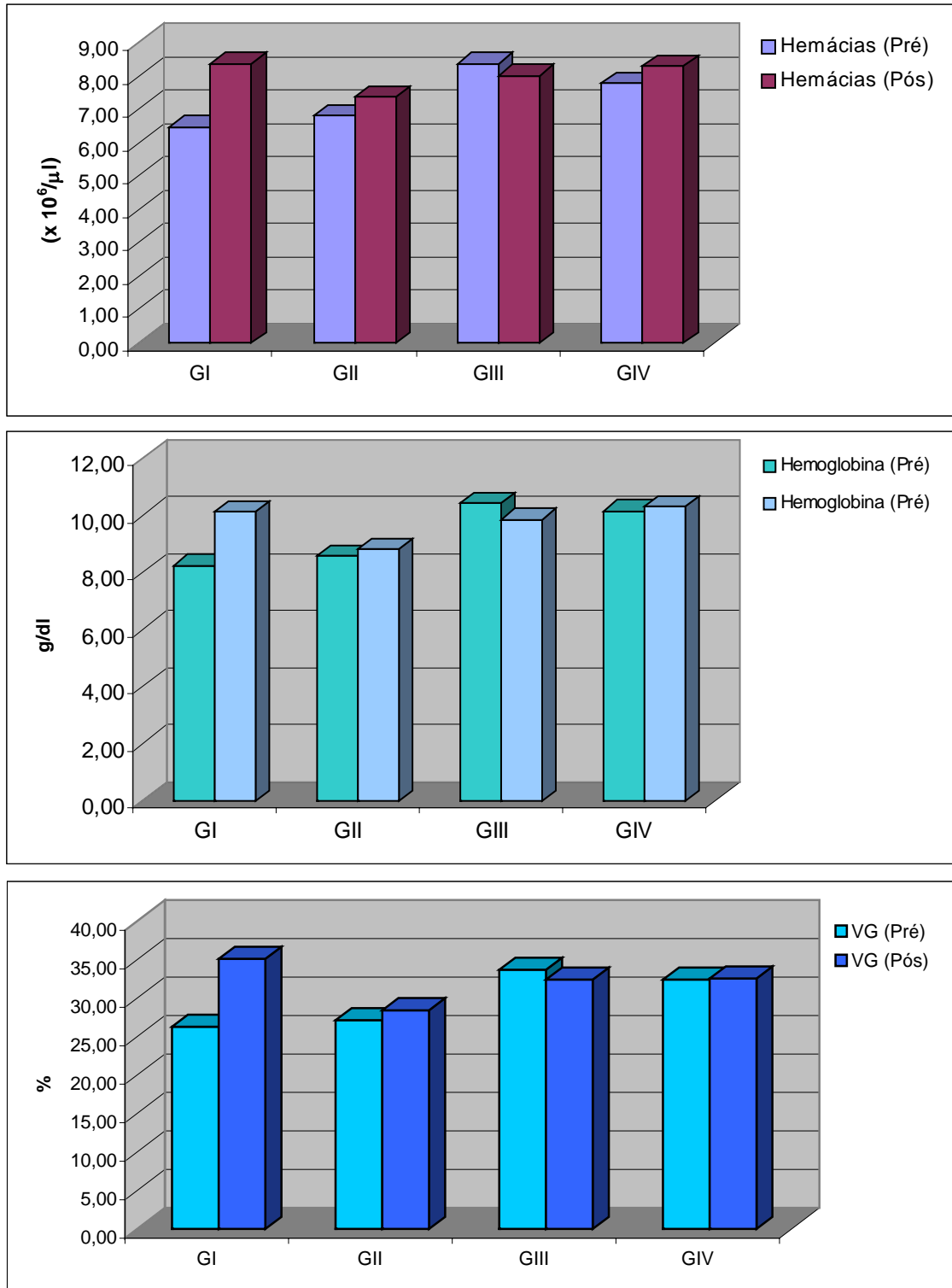


GRÁFICO 2. Valores médios absolutos do número de hemácias (superior), concentração de hemoglobina (central) e volume globular (inferior), obtidos antes da inoculação da cepa D153 de *M. haemolytica* A1, variação basal, e às 12, 24, 48 e 72 horas após a indução da Manheimiose Pneumônica Bovina, respectivamente, nos bezerros dos grupos GI a GIV.

Às 24 horas após a indução da MPB, o número de hemácias obtido por FAGLIARI (2003), $7,80 \pm 0,98 \times 10^6/\mu\text{l}$ (Tabela 3), foi semelhante ao do grupo GII, $7,37 \pm 1,19 \times 10^6/\mu\text{l}$. O autor observou aumento do número de hemácias deste momento em relação ao valor basal, mas, assim como ocorreu neste estudo, a diferença não foi significativa (Tabela 10). FAGLIARI (2003), não observou diferença significativa entre as contagens de hemácias obtidas às 12 e 24 horas após indução da MPB (Tabela 3), o que está de acordo com os resultados deste experimento (Tabela 11).

Às 48 horas após a indução da MPB, o número de hemácias do grupo GIII ($8,02 \pm 0,98 \times 10^6/\mu\text{l}$) foi menor que o valor basal, ao passo que, às 72 horas, o número de hemácias do grupo GIV ($8,29 \pm 0,98 \times 10^6/\mu\text{l}$) foi superior. Em ambos os grupos, os resultados não diferiram ($P > 0,05$) dos valores basais. Não foram encontrados dados na literatura referentes ao número de hemácias às 48 e 72 horas após a indução da MPB em bezerros.

Após a indução da MPB, obtiveram-se as seguintes médias \pm desvios padrões para a concentração de hemoglobina: $10,09 \pm 4,94$ g/dl no GI (12 h), $8,81 \pm 1,47$ g/dl no GII (24 h), $9,84 \pm 1,87$ g/dl no GIII (48 h) e $10,27 \pm 0,61$ g/dl no GIV (72 h), como se observa na Tabela 10. A concentração de hemoglobina aumentou nos grupos GI, GII e GIV e diminuiu no GIII, mas estas alterações não foram significativas ($P > 0,05$) quando comparadas aos respectivos valores basais (Tabela 10 e Gráfico 2).

A concentração de hemoglobina dos grupos GI (12 h) e GII (24 h) foram menores que os valores obtidos por FAGLIARI (2003), respectivamente, $11,42 \pm 1,15$ g/dl e $11,30 \pm 1,12$ g/dl (Tabela 3). O autor observou discreto aumento da

concentração de hemoglobina às 12 e 24 horas após a indução da MPB, mas, à semelhança do observado neste estudo, a diferença em relação aos valores basais não foi significativa (Tabela 10). FAGLIARI (2003), não observou diferença significativa entre as concentrações de hemoglobina obtidas às 12 e 24 horas após indução da MPB (Tabela 3), assim como o observado nesta pesquisa (Tabela 11).

Às 48 horas após a indução da MPB, a concentração de hemoglobina do grupo GIII ($9,84 \pm 1,87\text{g/dl}$) diminuiu, ao passo que, às 72 horas, o valor obtido no GIV ($10,27 \pm 0,61\text{g/dl}$) foi mais elevado, mas estas diferenças não foram significativas ($P > 0,05$) em relação aos valores basais (Tabela 10). Não foram encontrados dados na literatura referentes à concentração de hemoglobina às 48 e 72 horas após a indução da MPB em bezerros.

Os valores médios \pm desvios padrões obtidos para o volume globular após a indução da MPB foram iguais a $35,14 \pm 15,48\%$ no GI (12 h), $28,43 \pm 4,12\%$ no GII (24 h), $32,43 \pm 6,43\%$ no GIII (48 h) e $32,57 \pm 1,40\%$ no GIV (72 h), como se observa na Tabela 10. O volume globular aumentou nos grupos GI, GII e GIV e diminuiu no GIII, mas estas alterações não foram significativas ($P > 0,05$) quando comparadas aos respectivos valores basais (Tabela 10 e Gráfico 2).

Os valores do volume globular dos grupos GI (12 h) e GII (24 h) foram menores que os obtidos por FAGLIARI (2003), respectivamente, $36,2 \pm 3,8\%$ e $37,7 \pm 4,1\%$ (Tabela 3). Este autor observou aumentos significativos ($P < 0,05$) no volume globular de 12 e 24 horas após a indução da MPB, em relação às variações basais, o que diferiu do observado neste estudo (Tabela 10), e

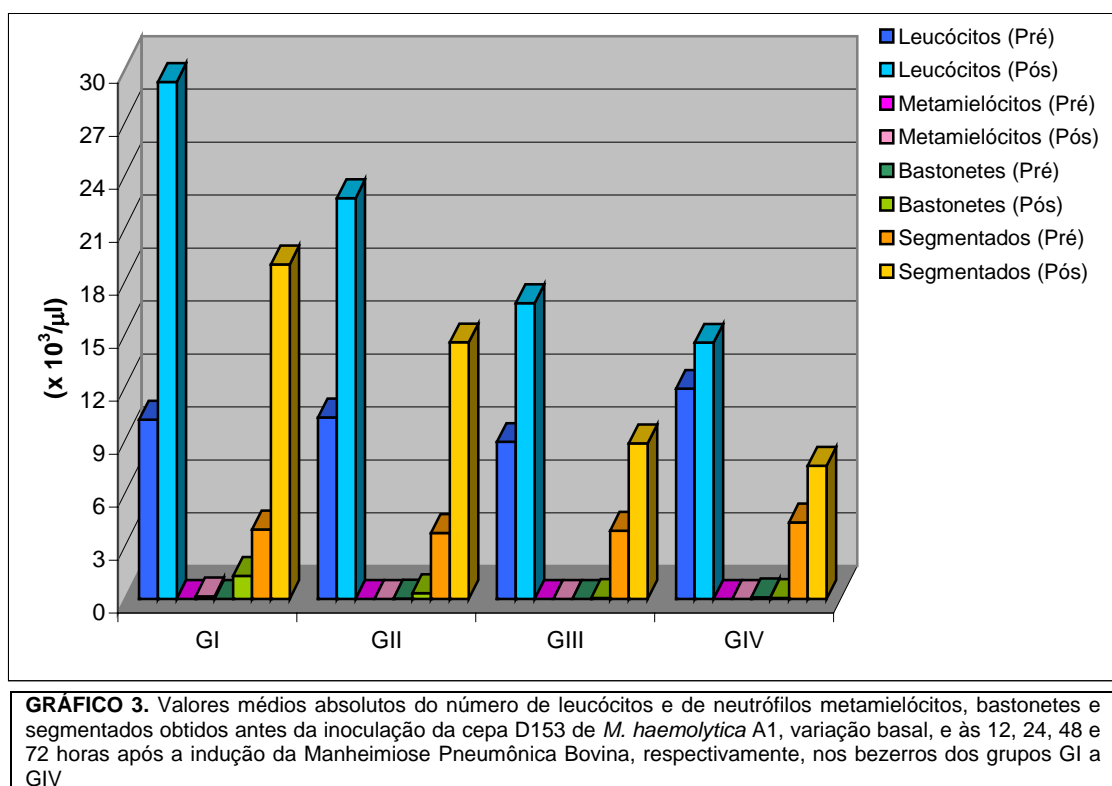
atribuiu estas alterações ao efeito da hemoconcentração provocada pelo jejum hídrico imposto aos bezerros do experimento. FAGLIARI (2003), não observou diferença significativa entre os resultados do volume globular obtido às 12 e 24 horas após indução da MPB (Tabela 3), assim como o observado nesta pesquisa (Tabela 11).

Às 48 horas após a indução da MPB, o volume globular do grupo GIII ($32,43 \pm 6,43$ %) diminuiu, enquanto que, às 72 horas, o valor obtido no GIV ($32,57 \pm 1,40$ %) foi mais elevado que a variação basal, mas estas alterações não foram significativas ($P > 0,05$), como mostra a Tabela 10. Não foram encontrados na literatura dados sobre o volume globular para os momentos 48 e 72 horas após a indução da MPB em bezerros.

Quando os grupos GI a GIV foram comparados, em relação aos resultados do número de hemácias, concentração de hemoglobina e volume globular obtidos após a indução da MPB (Tabela 11), não foram observadas diferenças significativas entre os grupos. Após a indução da MPB, os resultados das variáveis do eritrograma obtidos para os grupos GI a GIV (Tabela 10) se mantiveram dentro das faixas de variação de referência apresentadas por FAGLIARI et al. (1998) e JAIN (1986). Aparentemente, não ocorreram modificações no eritrograma dos bezerros inoculados com a cepa D153 de *M. haemolytica* A1 que pudessem caracterizar a MPB nos momentos pós-inoculação avaliados, 12, 24, 48 e 72 horas.

Após a indução da MPB com a cepa D153 de *M. haemolytica* A1, obtiveram-se as seguintes médias \pm desvio padrões para o número de leucócitos circulantes: $29,27 \pm 10,94 \times 10^3/\mu\text{l}$ no GI (12 h), $22,70 \pm 9,27 \times 10^3/\mu\text{l}$

no GII (24 h), $16,75 \pm 8,18 \times 10^3/\mu\text{l}$ no GIII (48 h) e $14,51 \pm 8,82 \times 10^3/\mu\text{l}$ no GIV (72 h). Todos os grupos experimentais, GI a GIV, responderam à inoculação da cepa D153 de *M. haemolytica* A1 com leucocitose (Tabela 10 e Gráfico 3), mas, apenas no GI (12 h) e GII (24 h), as contagens de leucócitos após a indução da MPB foram significativamente ($P < 0,05$) mais elevadas que os respectivos valores basais (Tabela 10).



A contagem média de leucócitos do grupo GI (12 h) foi superior à obtida por BOUREAU et al. (1998), $24,92 \pm 8,03 \times 10^3/\mu\text{l}$. Assim como neste estudo (Tabela 10), a contagem de leucócitos obtida pelo autor citado também foi superior ($P < 0,05$) ao valor basal (Tabela 3). Uma provável causa para o número de leucócitos mais baixo no trabalho citado seria o fato do inóculo ser

menos concentrado, $6,2 \times 10^8$ UFCs (Tabela 3), pois, de acordo com AMES et al. (1985), as lesões da MPB e a resposta leucocitária dos animais são diretamente dependentes da concentração da *M. haemolytica* A1 no inóculo.

Os resultados obtidos para os grupos GI (12 h) e GII (24 h) também diferiram dos achados de FAGLIARI (2003), que obtiveram contagens de leucócitos bem mais baixas, respectivamente, $10,65 \pm 1,42 \times 10^3/\mu\text{l}$ e $11,03 \pm 1,34 \times 10^3/\mu\text{l}$ (Tabela 3). Este autor não observou diferenças significativas ($P > 0,05$) entre cada momento e o respectivo valor basal e entre os dois momentos pós-inoculação, 12 e 24 horas (Tabela 3), assim como ocorreu no presente trabalho (Tabela 10). As contagens de leucócitos bem mais elevadas que aquelas obtidas por FAGLIARI (2003), às 12 e 24 horas após a indução da MPB, poderiam ser explicadas pela possibilidade de a cepa D153 utilizada neste estudo ser mais virulenta que a cepa 12296 utilizada por FAGLIARI (2003), a qual, provavelmente, teria induzido resposta leucocitária mais discreta nos animais utilizados no referido trabalho.

Às 48 horas após a indução da MPB, a contagem de leucócitos do grupo GIII foi igual a $16,75 \pm 8,18 \times 10^3/\mu\text{l}$. Apesar da leucocitose, este resultado não diferiu significativamente ($P < 0,05$) da variação basal (Tabela 10). Não foram encontradas na literatura citações sobre a contagem de leucócitos às 48 horas após a indução da MPB em bezerros.

A contagem de leucócitos obtida no grupo GIV (72 h), $14,51 \pm 8,82 \times 10^3/\mu\text{l}$, foi muito semelhante à encontrada por VESTWEBER et al (1990a), $14,45 \pm 7,45 \times 10^3/\mu\text{l}$, mas estes autores observaram diferença estatística em relação ao valor basal (Tabela 3), o que não ocorreu no presente estudo

(Tabela 10). Possivelmente, a ausência de diferença estatística entre o valor basal e aquele obtido às 72 horas, no grupo GIV, ocorreu devido à diminuição da resposta leucocitária dos animais deste experimento com o aumento do tempo de evolução da MPB, como demonstrado na Tabela 10 e Gráfico 3, o que está de acordo com as observações de McBRIDE et al. (1992). O número de leucócitos obtidos no grupo GIV (72 h) foi significativamente inferior ($P < 0,05$) àquele obtido para o grupo GI (12 h) (Tabela 1).

As médias \pm desvios padrões dos valores absolutos do número de neutrófilos segmentados obtidos após a indução da MPB foram iguais a $18,94 \pm 10,32 \times 10^3/\mu\text{l}$ no GI (12 h), $14,53 \pm 7,52 \times 10^3/\mu\text{l}$ no GII (24 h), $8,81 \pm 6,25 \times 10^3/\mu\text{l}$ no GIII (48 h) e $7,54 \pm 6,37 \times 10^3/\mu\text{l}$ no GIV (72 h). Todos os grupos experimentais, GI a GIV, responderam à inoculação da cepa D153 de *M. haemolytica* A1 com neutrofilia, aumentando sobretudo o número de neutrófilos segmentados, o qual seria o principal responsável pela leucocitose. Entretanto, as contagens de neutrófilos segmentados foram significativamente maiores ($P < 0,05$) que os respectivos valores basais apenas nos grupos GI (12 h) e GII (24 h) (Tabela 10 e Gráfico 3).

O número de neutrófilos segmentados do grupo GI (12 h), $18,94 \pm 10,32 \times 10^3/\mu\text{l}$, se aproximou do número de neutrófilos totais obtido por BOUREAU et al. (1998), $19,23 \pm 7,10 \times 10^3/\mu\text{l}$, o qual também diferiu ($P > 0,05$) de sua variação basal (Tabela 10). Considerando o número total de neutrófilos do grupo GI (Tabela 10 e Gráfico 3), a resposta neutrofílica dos animais desta pesquisa às 12 horas após a indução da MPB também foi mais intensa que aquela do trabalho citado, assim como ocorreu com o aumento do número total

de leucócitos. Provavelmente, isso ocorreu por que os inóculos utilizados neste trabalho foram mais concentrados (Tabela 6).

Os valores médios da contagem de neutrófilos segmentados obtidos por FAGLIARI (2003) às 12 horas ($5,33 \pm 0,78 \times 10^3/\mu\text{l}$) e 24 horas ($5,40 \pm 0,82 \times 10^3/\mu\text{l}$) após a indução da MPB (Tabela 3) foram muito inferiores aos obtidos nesta pesquisa. O autor observou diferenças significativas entre estes momentos pós-inoculação e os respectivos valores basais, mas não entre os dois momentos, 12 e 24 horas, à semelhança do que ocorreu neste experimento. O número de neutrófilos segmentados obtido por FAGLIARI (2003) às 12 horas após a indução da MPB também foi muito inferior ao número total de neutrófilos obtidos por BOUREAU et al. (1998) neste momento. Mais uma vez, atribuiu-se esta diferença à possibilidade da cepa utilizada por FAGLIARI (2003) ser menos virulência que a cepa D153 utilizada nesta pesquisa e que aquela utilizada por BOUREAU et al. (1998), uma vez que estes autores ainda trabalharam com um inóculo menos concentrado (Tabela 3).

Às 48 horas após a indução da MPB, a contagem de neutrófilos segmentados do grupo GIII foi igual a $8,81 \pm 6,25 \times 10^3/\mu\text{l}$. Apesar da neutrofilia, o número de neutrófilos segmentados não diferiu ($P > 0,05$) da variação basal (Tabela 10). Não foram encontradas na literatura citações sobre valores de neutrófilos segmentados às 48 horas após a indução da MPB em bezerros.

O número de neutrófilos segmentados ($7,54 \pm 6,37 \times 10^3/\mu\text{l}$) obtido no grupo GIV (72 h) em resposta à cepa D153 se aproximou daquele obtido por VESTWEBER et al. (1990a), $6,65 \pm 7,34 \times 10^3/\mu\text{l}$, que também não observaram

diferença significativa em relação aos valores basais (Tabela 3). É provável que esta ausência de diferença significativa em relação ao valor basal do momento 72 horas se deva à diminuição da neutrofilia com o aumento do tempo de evolução da MPB, como demonstrado na Tabela 10 e Gráfico 3, o que estaria em concordância com as observações de McBRIDE et al. (1992). O número de neutrófilos segmentados do grupo GIV (72 h) foi inferior ($P < 0,05$) ao obtido para o grupo GI (12 h) (Tabela 13).

As contagens de neutrófilos bastonetes obtidas neste experimento, após a indução da MPB, foram iguais a $1,30 \pm 1,27 \times 10^3/\mu\text{l}$ no GI (12 h), $0,32 \pm 0,40 \times 10^3/\mu\text{l}$ no GII (24 h), $0,05 \pm 0,12 \times 10^3/\mu\text{l}$ no GIII (48 h) e $0,05 \pm 0,12 \times 10^3/\mu\text{l}$ no GIV (72 h), como demonstrado na Tabela 10. Além do aumento do número de neutrófilos segmentados, todos os grupos, GI a GIV, responderam à inoculação da cepa D153 da *M. haemolytica* A1 com elevações do número de neutrófilos jovens, bastonetes, em relação aos valores basais (Tabela 10). Porém, observou-se aumento significativo ($P < 0,05$) do número de bastonetes, em relação aos valores de referência citados por JAIN (1986), apenas no grupo GI (12 h), indicando que este grupo apresentou desvio à esquerda. O grupo GI (12 h) também apresentou aumento do número de metamielócitos na circulação, mas este não foi diferente ($P > 0,05$) do valor basal. Nos grupos GII a GIV, os metamielócitos continuaram não sendo observados na corrente sanguínea após a indução da MPB (Tabela 10 e Gráfico 3).

O número de neutrófilos bastonetes do grupo GI (12 h), $1,30 \pm 1,27 \times 10^3/\mu\text{l}$, foi muito superior ao obtido por FAGLIARI (2003), $0,052 \pm 0,03 \times 10^3/\mu\text{l}$, e foi mais elevado ($P < 0,05$) que seu valor basal (Tabela 10), o que não

ocorreu no trabalho citado (Tabela 3). No grupo GII (24 h), obteve-se contagem de bastonetes igual a $0,32 \pm 0,40 \times 10^3/\mu\text{l}$, que também foi superior ao valor obtido por FAGLIARI (2003), $0,057 \pm 0,030 \times 10^3/\mu\text{l}$, mas, em ambos os casos, os valores não diferiram ($P > 0,05$) dos valores basais (Tabelas 3 e 10). O número de bastonetes do grupo GI (12 h) foi significativamente mais elevado que o do GII (24 h) (Tabela 13), indicando diminuição da intensidade do desvio à esquerda com o aumento do tempo de evolução da MPB.

Às 48 horas após a indução da MPB, a contagem de neutrófilos bastonetes do grupo GIII foi igual a $0,05 \pm 0,12 \times 10^3/\mu\text{l}$. Apesar do aumento do número deste neutrófilo, o valor obtido não diferiu ($P > 0,05$) da variação basal (Tabela 10). O número de bastonetes do grupo GIII (48 h) foi inferior ($P < 0,05$) ao obtido às 12 horas após a indução da MPB, no grupo GI (12 h), como se observa na Tabela 13, indicando diminuição do desvio à esquerda com o aumento do tempo de evolução da MPB. Não foram encontradas na literatura citações sobre valores de neutrófilos segmentados às 48 horas após a indução da MPB em bezerros.

Às 72 horas após a indução da MPB, no grupo GIV, a contagem de neutrófilos bastonetes, $0,05 \pm 0,12 \times 10^3/\mu\text{l}$, foi muito inferior àquela obtida por VESTWEBER et al. (1990a), $1,65 \pm 1,43 \times 10^3/\mu\text{l}$, a qual foi superior ($P > 0,05$) à contagem basal (Tabela 3), diferindo do observado neste experimento (Tabela 10). Embora as contagens leucócitos e neutrófilos segmentados do grupo GIV (72 h) deste experimento tenham sido muito próximas àquelas do trabalho citado, a intensidade do desvio à esquerda nos animais utilizados por

VESTWEBER et al. (1990a) foi maior que a observada nos animais do grupo GIV (72 h) deste estudo.

As contagens de linfócitos dos grupos experimentais, após a indução da MPB, foram iguais a $8,05 \pm 5,45 \times 10^3/\mu\text{l}$ no GI (12 h), $6,91 \pm 2,21 \times 10^3/\mu\text{l}$ no GII (24 h), $7,00 \pm 1,82 \times 10^3/\mu\text{l}$ no GIII (48 h), $6,28 \pm 2,61 \times 10^3/\mu\text{l}$ no GIV (72 h). Excetuando-se o GIV (72 h), os números médios de linfócitos aumentaram em todos os grupos experimentais, após a indução da MPB, mas, apenas no GIII (48 h) a contagem foi superior ($P < 0,05$) à variação basal (Tabela 10 e Gráfico 4).

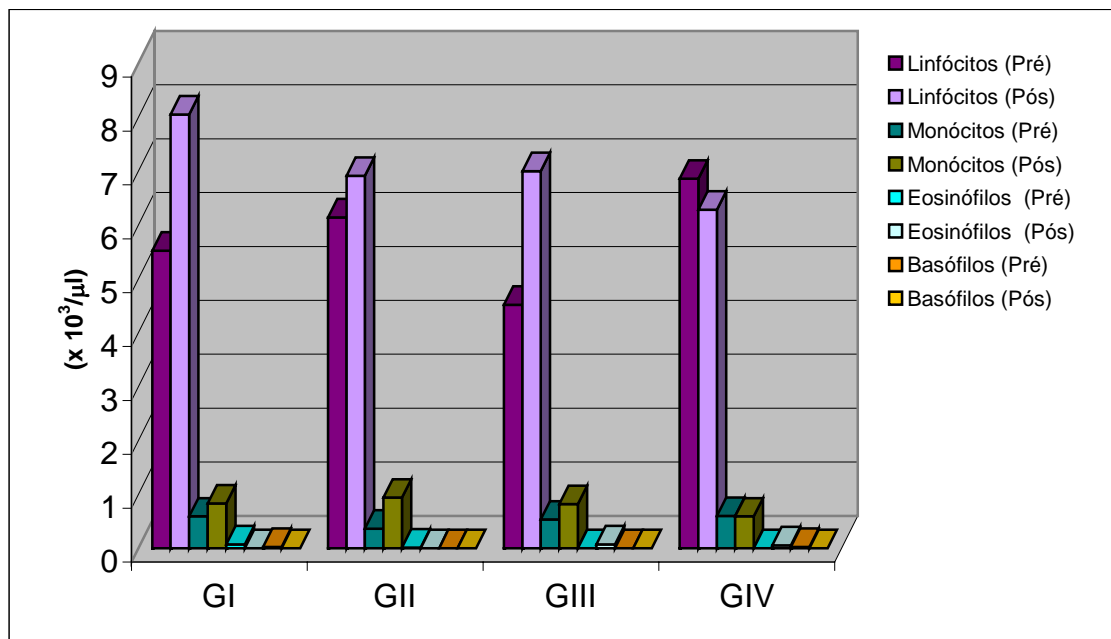


GRÁFICO 4 Valores médios absolutos do número de linfócitos, monócitos, eosinófilos e basófilos obtidos antes da inoculação da cepa D153 de *M. haemolytica* A1, variação basal, e às 12, 24, 48 e 72 horas após a indução da Manheimiose Pneumônica Bovina, respectivamente, nos bezerros dos grupos GI a GIV.

Os valores médios dos números de linfócitos obtidos para os grupos GI ($8,05 \pm 5,45 \times 10^3/\mu\text{l}$) e GII ($6,91 \pm 2,21 \times 10^3/\mu\text{l}$) foram superiores aos obtidos por FAGLIARI (2003) às 12 e 24 horas após a indução da MPB, respectivamente, $4,32 \pm 0,83 \times 10^3/\mu\text{l}$ e $4,57 \pm 0,99 \times 10^3/\mu\text{l}$. O autor constatou

aumento significativo ($P < 0,05$) do número de linfócitos às 12 horas após a indução da MPB, em relação ao valor basal (Tabela 3), o que não ocorreu neste experimento (Tabela 10), mas as contagens obtidas às 24 horas não diferiram da variação basal, à semelhança do que foi observado neste estudo. Em ambos experimentos, as contagens de linfócitos obtidas às 12 horas após a indução da MPB não diferiram ($P > 0,05$) daquelas observadas às 24 horas. Provavelmente, as contagens de linfócitos mais elevadas nos grupos GI (12 h) e GII (24 h) desta pesquisa acompanharam as elevações dos demais leucócitos que, no Geral, foram bem mais intensas que as observadas por FAGLIARI (2003).

Às 48 horas após a indução da MPB, a contagem de linfócitos do grupo GIII elevou-se para $7,00 \pm 1,82 \times 10^3/\mu\text{l}$, sendo este valor diferente ($P < 0,05$) da variação basal (Tabela 10). Não foram encontradas na literatura citações de valores de linfócitos às 48 horas após a indução da MPB em bezerros.

Às 72 horas após a indução da MPB, o número de linfócitos obtido no grupo GIV, $6,28 \pm 2,61 \times 10^3/\mu\text{l}$, foi um pouco superior àquele observado por VESTWEBER et al. (1990a), $4,89 \pm 1,38 \times 10^3/\mu\text{l}$, o qual não diferiu ($P > 0,05$) dos seus valores basais (Tabela 3), assim como o observado neste estudo (Tabela 10). Os linfócitos participam das defesas pulmonares contra a *M. haemolytica* A1 em níveis mais intensos quando a MPB entra na fase crônica (JUBB et al., 1985). Neste experimento, a ausência de diferenças significativas nas contagens de linfócitos entre os grupos GI (12 h) a GIV (72 h), como mostra a Tabela 11, ocorreu, provavelmente, por que, até 72 horas após a indução, a MPB não se tornou crônica.

As contagens de monócitos obtidas neste experimento após indução da MPB foram iguais a $0,83 \pm 1,47 \times 10^3/\mu\text{l}$ no GI (12 h), $0,94 \pm 1,00 \times 10^3/\mu\text{l}$ no GII (24 h), $0,82 \pm 0,41 \times 10^3/\mu\text{l}$ no GIII (48 h), $0,59 \pm 0,61 \times 10^3/\mu\text{l}$ no GIV (72 h). Após a indução da MPB, o número de monócitos se elevou nos grupos GI a GIII e diminuiu no GIV, porém, apenas no GIII (48 h), o aumento do número de monócitos foi significativamente maior que a variação basal (Tabela 10 e Gráfico 4).

Os números de monócitos obtidos no GI ($0,83 \pm 1,47 \times 10^3/\mu\text{l}$) e GII ($0,94 \pm 1,00 \times 10^3/\mu\text{l}$) foram mais elevados que os encontrados por FAGLIARI (2003) às 12 e 24 horas após a indução da MPB, respectivamente, $0,48 \pm 0,18 \times 10^3/\mu\text{l}$ e $0,51 \pm 0,18 \times 10^3/\mu\text{l}$. O autor não encontrou diferenças significativas em relação aos valores basais destes momentos (Tabela 3), o que está de acordo com o achados desta pesquisa (Tabela 10). Provavelmente, as contagens de monócitos mais elevadas nesta pesquisa acompanharam as elevações dos demais leucócitos que, em geral, foram bem mais intensas que as observadas por FAGLIARI (2003). Os monócitos também participam das defesas pulmonares contra a *M. haemolytica* A, porém, este tipo celular é observado em números mais expressivos apenas quando MPB se torna crônica (JUBB et al., 1985).

Às 48 horas após a indução da MPB, a contagem de monócitos do grupo GIII elevou-se para $0,82 \pm 0,41 \times 10^3/\mu\text{l}$, sendo este valor diferente ($P < 0,05$) da variação basal (Tabela 10). Não foram encontradas na literatura citações de valores de monócitos às 48 horas após a indução da MPB em bezerros.

Às 72 horas após a indução da MPB, a contagem de monócitos obtida por VESTWEBER et al. (1990a), $1,12 \pm 0,61 \times 10^3/\mu\text{l}$, foi superior àquela obtida nesta pesquisa, $0,59 \pm 0,61 \times 10^3/\mu\text{l}$, e também foi mais elevada ($P < 0,05$) que a sua variação basal (Tabela 3), o que não coincide com o observado neste estudo (Tabela 10). Este achado sugere que, no trabalho citado, a MPB tenha apresentado tendência de cronicidade às 72 horas após a indução, mas esta suposição não pôde ser confirmada devido à ausência de dados referentes a fases mais precoces. Neste experimento, não se observaram diferenças significativas nas contagens de monócitos entre os grupos GI (12 h) e GIV (72 h) (Tabela 11), provavelmente por que, às 72 horas após a indução, a MPB ainda não havia se tornado crônica.

As contagens de eosinófilos obtidas após a indução da MPB foram iguais a zero no GI (12 h) e GII (24 h), $0,07 \pm 0,13 \times 10^3/\mu\text{l}$ no GIII (48 h) e $0,05 \pm 0,12 \times 10^3/\mu\text{l}$ no GIV (72 h). O número de eosinófilos diminuiu no GI (12 h) e GII (24 h) e aumentou no GIII (48 h) e GIV (72 h), mas estas alterações não foram significativas ($P > 0,05$), quando comparadas aos respectivos valores basais (Tabela 10 e Gráfico 4) e aos valores de referência apresentados por JAIN (1986).

As contagens de eosinófilos obtidas por FAGLIARI (2003) às 12 e 24 horas após a indução da MPB, respectivamente, $0,49 \pm 0,17 \times 10^3/\mu\text{l}$ e $0,50 \pm 0,18 \times 10^3/\mu\text{l}$, foram maiores que as obtidas no presente trabalho, pois este leucócito não foi encontrado na circulação sanguínea nestes momentos pós-inoculação (Tabela 10). Este autor não encontrou diferenças significativas em

relação aos valores basais (Tabela 3), assim como o observado neste estudo (Tabela 10).

Nos grupos GI (12 h) e GIV (72 h), observaram-se diminuições não significativas ($P > 0,05$) das contagens de basófilos após a indução da MPB, quando este leucócito não foi mais encontrado na circulação sanguínea. Nos grupos GII (24 h) e GIII (48 h), os basófilos continuaram ausentes na circulação após a indução da MPB (Tabela 10 e Gráfico 4). Nenhum dos trabalhos encontrados na literatura apresentou discussão sobre as alterações no número de basófilos decorrentes da indução da MPB em bezerros.

As análises de variância realizadas com o objetivo de verificar o efeito do fator lote sobre os componentes do hemograma nos grupos GI a GIV, após a indução da MPB (Tabela 11), revelaram influencia significativa ($P < 0,05$) deste fator apenas sobre o número de neutrófilos segmentados. Provavelmente, isso ocorreu devido a uma maior variabilidade do número deste leucócito nos animais do GI a GIV de um lote, quando comparada à variabilidade nos demais lotes, pois, aparentemente, não há motivos que justifiquem a influência das condições climáticas dos diferentes períodos do ano sobre o comportamento dos neutrófilos no sangue dos bezerros após a indução da MPB. Ainda assim, o cuidado de se colocar um bezerro de cada um dos quatro grupos, GI a GIV, em todos os lotes, L1 a L7, continuou sendo válido.

Em relação aos efeitos do fator de variação grupo, as análises de variância mostraram influencia significativa sobre as contagens de leucócitos, neutrófilos bastonetes e neutrófilos segmentados (Tabela 11).

Os testes de Tukey (Tabela 13) mostraram que, após a indução da MPB, a contagem de leucócitos no grupo GI (12 h) foi superior ($P < 0,05$) àquelas dos grupos GIII (48 h) e GIV (72 h) e não diferiu daquela do grupo GII (24 h). As contagens dos grupos GII, GIII e GIV não diferiram ($P > 0,05$).

TABELA 13. Comparação entre os grupos GI a GIV, respectivamente 12, 24, 48 e 72 horas após a indução da Manheimiose Pneumônica Bovina com a cepa D153 da *M. haemolytica* A1, em relação às médias absolutas de leucócitos (Le), bastonetes (Bt) e neutrófilos segmentados (Se).

GRUPO	Le ($\times 10^3/\mu\text{l}$)	Bt ($\times 10^3/\mu\text{l}$)	Se ($\times 10^3/\mu\text{l}$)
GI (12 h)	29,27 a	1,30 a	18,49 a
GII (24 h)	22,70 ab	0,32 b	14,53 ab
GIII (48 h)	16,75 b	0,05 b	8,81 b
GIV (72 h)	14,51 b	0,05 b	7,54 b

* Médias seguidas de mesma letra indicam diferenças não significativas pelo Teste de Tukey ($P > 0,05$)

Após a indução da MPB, o número de neutrófilos bastonetes (Bt) obtido no grupo GI (12 h) foi superior ($P < 0,05$) àqueles dos grupos GII (24 h), GIII (48 h) e GIV (72 h), mas estes três últimos grupos não diferiram ($P > 0,05$), como mostra a Tabela 13.

O número de neutrófilos segmentados do grupo GI (12 h) foi superior ($P < 0,05$) àqueles dos grupos GIII (48 h) e GIV (72 h), mas não diferiu significativamente ($P > 0,05$) da contagem do GII (24 h). Os grupos GII, GIII e GIV não diferiram ($P > 0,05$), como se observa na Tabela 13.

Nas doenças respiratórias naturais de bezerros, sobretudo nos casos crônicos, o tempo de evolução e a gravidade da doença são extremamente variáveis (COLLIE, 1992). Mesmo nas infecções experimentais, quando as condições são padronizadas e controladas, é comum notar certa variabilidade na gravidade das doenças respiratórias (THOMAS et al. 1977; LEKEUX et al., 1985).

RADOSTITS et al. (2000), afirmaram que o valor diagnóstico dos hemogramas de bezerros com MPB natural é pouco expressivo, pois é possível observar leucocitose por neutrofilia, neutropenia ou leucograma com valores normais. Entretanto, deve-se ter em mente os fatores que podem tornar a resposta leucocitária dos bezerros com MPB natural variável. Além do tempo de evolução e gravidade da doença (COLLIE, 1992), a idade, a raça, o estado nutricional e as práticas de manejo às quais os bovinos são submetidos, assim como as características dos prováveis agentes infecciosos envolvidos, devem ser consideradas na avaliação de hemogramas de bovinos com doenças infecciosas (FELDMAN et al. 2000).

Neste estudo, os animais experimentais foram padronizados e, quanto ao agente da MPB, a *M. haemolytica* A1, trata-se de uma bactéria Gram-negativa capaz de provocar endotoxemia nos bezerros inoculados (LILLIE, 1974).

Obviamente, a resposta leucocitária contra a cepa D153 de *M. haemolytica* A1 utilizada para induzir a MPB nos bezerros deste experimento também apresentou variações individuais. Contudo, a análise dos hemogramas realizados às 12, 24, 48 e 72 horas após a indução da MPB, respectivamente nos bezerros dos grupos GI a GIV, revelou alterações leucocitárias que caracterizaram, de modo satisfatório, a MPB como uma doença causada por uma bactéria Gram-negativa, em todos os momentos avaliados. Por isso, assumiu-se o valor diagnóstico do hemograma para casos de MPB que se assemelhem aos induzidos nesta pesquisa, considerando-se as alterações das

contagens de leucócitos e neutrófilos apresentadas de forma resumida a seguir.

Após a indução da MPB, todos os grupos experimentais responderam com leucocitose. Esta foi significativa ($P < 0,05$) às 12 e 24 horas, concordando com LINDEN et al. (1995), que observaram leucocitose um dia após a indução da MPB. Entretanto, as contagens de leucócitos foram superiores aos valores de referência apresentados por JAIN (1986) nos quatro momentos avaliados neste estudo, 12, 24, 48 e 72 horas.

Em todos os grupos, a leucocitose ocorreu devido à neutrofilia e, embora o aumento do número de neutrófilos segmentados tenha sido mais intenso e significativo ($P < 0,05$) às 12 e 24 horas após a indução da MPB, concordando com os achados de McBRIDE et al. (1992) e LINDEN et al. (1995), os valores obtidos às 48 e 72 horas do curso da doença também foram superiores aos valores de referência apresentados por JAIN (1986). Nestes dois últimos momentos, os números de neutrófilos segmentados e, conseqüentemente de leucócitos, tenderam à normalidade, assim como observaram McBRIDE et al. (1992), sendo a contagem destas células significativamente mais baixa que aquela observada às 12 horas após a indução da MPB.

Observou-se aumento significativo ($P < 0,05$) do número de neutrófilos bastonetes, indicando neutrofilia com desvio à esquerda, às 12 horas após a indução da MPB. Ocorreu uma tendência de diminuição do número de bastonetes com o aumento do tempo de evolução da MPB, sendo a contagem obtida às 12 horas significativamente ($P < 0,05$) mais elevada que aquelas determinadas às 24, 48 e 72 horas após a indução da MPB.

5.3 EXAMES MICROBIOLÓGICOS DAS VAAs

Os resultados dos cultivos microbiológicos das secreções dos *swabs* nasal (SN) e nasofaríngeo (SNF) colhidas sete dias antes da inoculação da cepa D153 de *M. haemolytica* A1, para caracterizar a flora bacteriana dos bezerros normais, e daquelas obtidas às 12, 24, 48 e 72 após a indução da MPB, respectivamente, nos grupos GI a GIV, são apresentados nas Tabelas 14 a 16, Gráfico 5 e Anexos 5.

Quando os grupos experimentais GI a GIV foram comparados, considerando os lotes L1 a L7 como bloco (Tabela 14), as taxas de isolamento dos diferentes agentes bacterianos nos SNs e SNFs obtidos antes e após a indução da MPB (Anexos 5) não diferiram ($P > 0,05$).

Tabela 14. Comparação entre os grupos GI a GIV, considerando os lotes L1 a L7 como bloco, em relação às taxas de isolamento dos diferentes agentes bacterianos nos *swabs* nasal (SN) e nasofaríngeo (SNF) obtidos antes e após a indução da Manheimiose Pneumônica Bovina com a cepa D153 de *M. haemolytica* A1.

AGENTE BACTERIANO	PRÉ		PÓS	
	SN *	SNF *	SN *	SNF *
<i>Arcanobacterium pyogenes</i>	0,952	0,968	1,000	1,000
<i>Bacillus spp.</i>	0,104	1,000	0,877	0,968
<i>E. coli</i>	0,794	0,794	0,815	0,968
<i>Enterobacter agglomerans</i>	1,000	1,000	1,000	0,968
<i>Enterobacter cloacae</i>	0,968	0,968	1,000	1,000
<i>M. haemolytica</i>	1,000	0,653	0,968	1,000
<i>Micrococcus spp.</i>	0,968	0,392	0,794	0,433
<i>Moraxella spp.</i>	0,968	1,000	1,000	1,000
<i>Neisseria spp.</i>	1,000	0,794	0,968	1,000
<i>P. multocida</i>	1,000	1,000	0,794	0,634
<i>Proteus spp.</i>	0,968	0,952	1,000	1,000
<i>Staphylococcus spp.</i>	0,794	0,653	0,877	0,952
<i>Streptococcus spp.</i>	0,297	0,952	0,634	0,712

* Não significativo, $P > 0,05$ pelo Teste de Friedman.

Portanto, obtiveram-se as frequências totais, em valores absolutos e relativos, para cada agente bacteriano isolado dos SNs e SNFs colhidos antes e após a inoculação da cepa D153 de *M. haemolytica* A1 (Tabela 15).

Tabela 15. Frequências totais de isolamento de cada agente bacteriano, em valores absolutos e relativos, nos swabs nasal (SN) e nasofaríngeo (SNF) obtidos dos grupos experimentais GI a GIV antes e após a indução da Manheimiose Pneumônica Bovina com a cepa D153 de *M. haemolytica* A1.

AGENTE BACTERIANO	SN				SNF			
	PRE		PÓS		PRE		PÓS	
	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%
<i>Arcanobacterium pyogenes</i>	2	7,14	0	0,00	1	3,57	0	0,00
<i>Bacillus</i> spp.	17	60,71	12	42,86	12	42,86	7	25,00
<i>E. coli</i>	6	21,43	3	10,71	7	25,00	3	10,71
<i>Enterobacter agglomerans</i>	0	0,00	0	0,00	0	0,00	1	3,57
<i>Enterobacter cloacae</i>	1	3,57	0	0,00	1	3,57	0	0,00
<i>M. haemolytica</i> A	0	0,00	27	96,43	5	17,86	28	100,00
<i>Micrococcus</i> spp.	23	82,14	10	35,71	22	78,57	12	42,86
<i>Moraxella</i> spp.	1	3,57	0	0,00	0	0,00	0	0,00
<i>Neisseria</i> spp.	0	0,00	1	3,57	2	7,14	0	0,00
<i>P. multocida</i>	8	28,57	10	35,71	8	28,57	14	50,00
<i>Proteus</i> spp.	1	3,57	0	0,00	2	7,14	0	0,00
<i>Staphylococcus</i> spp.	10	35,71	8	28,57	9	32,14	2	7,14
<i>Streptococcus</i> spp.	12	42,86	6	21,43	10	35,71	4	14,29

Antes da indução da MPB, isolaram-se, em ordem decrescente de frequência, os seguintes agentes bacterianos nos SNs dos grupos GI a GIV: *Micrococcus* spp. (82,14%), *Bacillus* spp. (60,71%), *Streptococcus* spp. (42,86%), *Staphylococcus* spp. (35,71%), *P. multocida* (28,57%), *E. coli* (21,43%), *Arcanobacterium pyogenes* (7,14%), *Enterobacter cloacae* (3,57%), *Moraxella* spp. (3,57%), *Proteus* spp. (3,57%). Nos SNFs, as bactérias isoladas foram: *Micrococcus* spp. (78,57%), *Bacillus* spp. (42,86%), *Streptococcus* spp. (35,71%), *Staphylococcus* spp. (32,14%), *P. multocida* (28,57%), *E. coli* (25,00%), *M. haemolytica* A (17,86%), *Neisseria* spp.

(7,14%), *Proteus* spp. (7,14%), *Arcanobacterium pyogenes* (3,57%), *Enterobacter cloacae* (3,57%) (Tabela 15 e Gráfico 5).

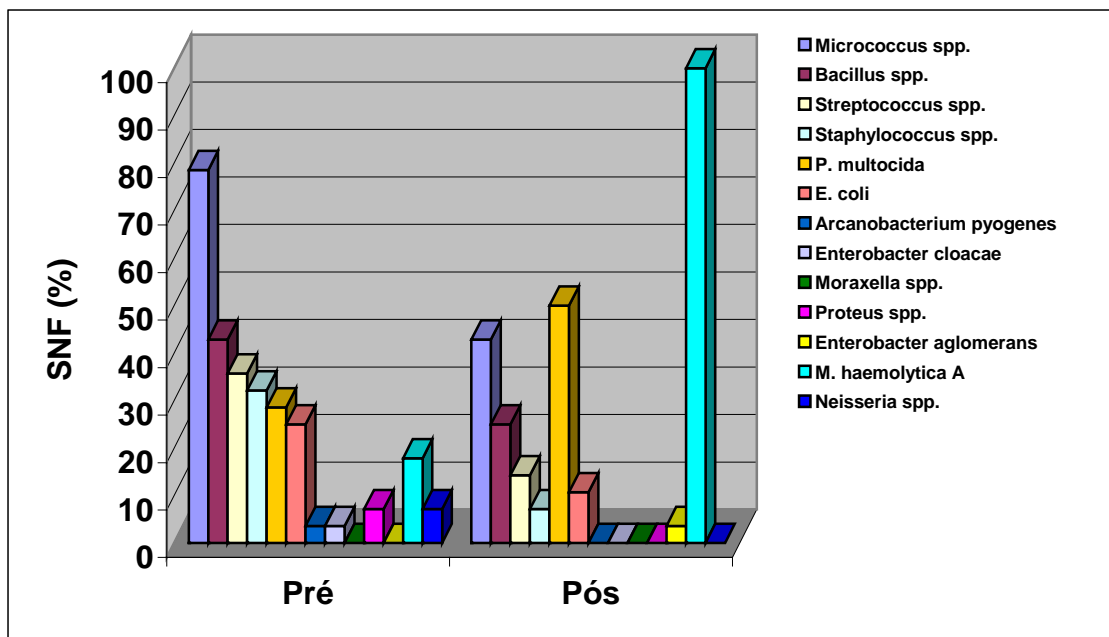
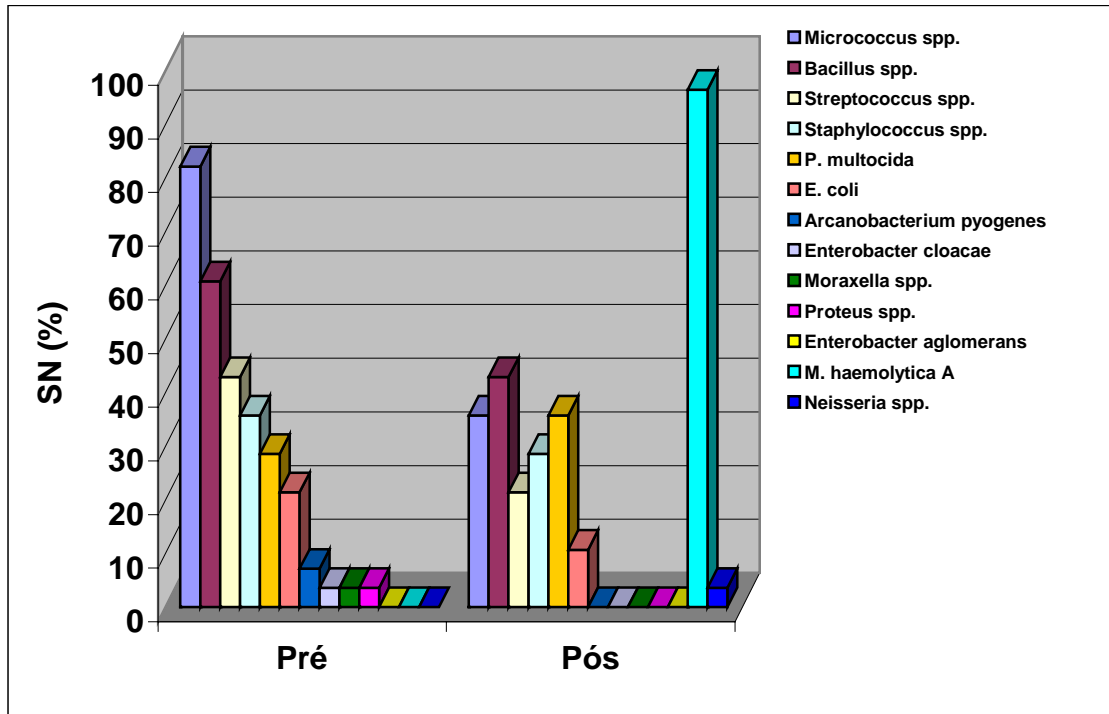


Gráfico 5. Frequências totais de isolamento bacteriano, em %, nos swabs nasais (SN), acima, e swabs nasofaríngeanos (SNF), abaixo, colhidos antes e após a indução da Mannheimiose Pneumônica Bovina com a cepa D153 de *M. haemolytica* A1 nos quatro grupos experimentais GI a GIV.

Antes da indução da MPB, verificou-se grande semelhança entre a flora bacteriana de ambos os segmentos das VAAs, as cavidades nasal e nasofaringeana, tanto em relação aos gêneros e espécies recuperados, quanto àqueles mais freqüentemente isolados. A ausência da *M. haemolytica* A nos SNs e o seu isolamento em 17,86% (cinco) dos SNFs pode ser considerada um diferencial nos perfis bacterianos dos SNs e SNFs obtidos antes da indução da MPB (Tabela 15 e Gráfico 5).

De acordo com MAGWOOD et al. (1969), PASS & THOMSON (1971), WOLDEIHIWET et al. (1990), todos os agentes bacterianos recuperados das secreções dos SNs e SNFs colhidas antes da indução da MPB (Tabela 15) são organismos comensais das VAAs de bovinos sadios. Aplicando-se a classificação proposta por WOLDEIHIWET et al. (1990), os agentes bacterianos isolados neste experimento poderiam ser divididos em: flora basal, *P. multocida*, *M. haemolytica* A, *Neisseria* spp., *Micrococcus* spp. e *Streptococcus* spp.; flora suplementar, *Moraxella* spp. e *Arcanobacterium pyogenes*; e flora transitória, *E. coli*, *Enterobacter cloacae*, *Bacillus* spp. e *Proteus* spp. A flora transitória, constituída por organismos da família *Enterobacteriaceae* e pelo gênero *Bacillus*, é considerada ubíqua (LILLIE, 1974, MURRAY et al., 1999). Esta flora indica contaminação durante o processo de colheita das secreções nasal e nasofaringeana (COLLIER & ROSSOW, 1964, COLLIER, 1968b), e é insignificante na ausência de doença respiratória característica (MURRAY et al., 1999).

Em ambos, SNs e SNFs, o *Micrococcus* spp. foi o agente bacteriano mais freqüentemente isolado, respectivamente, 82,14% e 78,57%, o que

diferiu dos achados de WOLDEIHIWET et al. (1990), que verificaram ser o *Staphylococcus* spp. a bactéria mais freqüente nas narinas de bezerros sadios.

Uma vez induzida a MPB, os perfis de colonização bacteriana das VAAs dos bezerros deste experimento sofreram modificações importantes (Tabela 15 e Gráfico 6). Nos SNs, isolaram-se, em ordem decrescente de freqüência: *M. haemolytica* (96,43%), *Bacillus* spp. (42,86%), *Micrococcus* spp. (35,71%), *P. multocida* (35,71%), *Staphylococcus* spp. (28,57%), *Streptococcus* spp. (21,43%), *E. coli* (10,71%), *Neisseria* spp. (3,57%). Os agentes bacterianos recuperados dos SNFs foram: *M. haemolytica* (100,00%), *P. multocida* (50,00%), *Micrococcus* spp. (42,86%), *Bacillus* spp. (25,00%), *Streptococcus* spp. (14,29%), *E. coli* (10,71%), *Staphylococcus* spp. (7,14%), *Enterobacter agglomerans* (3,57%) (Tabela 15 e Gráfico 5).

A diminuição do número de espécies e gêneros, assim como das freqüências de isolamento de agentes bacterianos, em ambos, SNs e SNFs, após a indução da MPB não foi significativa ($P > 0,05$), como mostra a Tabela 16), mas estas foram mais pronunciadas para os organismos que WOLDEIHIWET et al. (1990) classificaram como componentes das floras suplementar e transitória das VAAs dos bovinos (Tabela 15), sugerindo que estas floras tenham perdido espaço para a *M. haemolytica* A, que foi isolada em 27 (96,43%) SNs e nos 28 (100,00 %) SNFs.

Após a indução da MPB, os aumentos das freqüências de isolamento da *M. haemolytica* A foram significativos ($P < 0,05$) em todos os SNs e SNFs dos grupos GI a GIV, com exceção dos SNFs do grupo GIII (48 h) (Tabela 16).

Tabela 16. Comparação entre as frequências de isolamento de agentes bacterianos nos swabs nasal (SN) e nasofaríngeo (SNF) antes da inoculação da cepa D153 de *M. haemolytica* A1, flora normal, e às 12, 24, 48 e 72 horas após o início da Manheimiose Pneumônica Bovina, respectivamente, nos grupos GI a GIV.

AGENTE	GI [†] (12 h)		GII [†] (24 h)		GIII [†] (48 h)		GIV [†] (72 h)	
	SN	SNF	SN	SNF	SN	SNF	SN	SNF
<i>Arcanobacterium pyogenes</i>	*	*	*	*	*	*	*	*
<i>Bacillus</i> spp.	0,361	0,361	>0,999	0,593	0,068	0,593	0,361	*
<i>E. coli</i>	0,593	0,593	*	*	0,180	0,593	>0,999	0,593
<i>Enterobacter agglomerans</i>	*	*	*	*	*	*	*	*
<i>Enterobacter cloacae</i>	*	*	*	*	*	*	*	*
<i>M. haemolytica</i> A	0,018[†]	0,028[†]	0,028[†]	0,018[†]	0,018[†]	0,068	0,018[†]	0,028[†]
<i>Micrococcus</i> spp.	0,109	0,361	0,068	-	0,180	0,068	0,068	0,361
<i>Moraxella</i> spp.	*	*	*	*	*	*	*	*
<i>Neisseria</i> spp.	*	*	-	0,180	*	*	*	*
<i>P. multocida</i>	>0,999	0,686	>0,999	0,109	0,180	0,361	*	>0,999
<i>Proteus</i> spp.	*	*	*	*	*	*	*	*
<i>Staphylococcus</i> spp.	>0,999	*	*	*	0,180	0,180	0,593	0,225
<i>Streptococcus</i> spp.	0,068	>0,999	0,593	0,593	0,593	0,109	*	0,180

[†] Diferenças significativas ($P < 0,05$) pelo Teste de Wilcoxon para amostras pareadas. ¹, Utilizaram-se $n = 7$ bezerros para SN e SNF em todos grupos experimentais, GI a GIV. * Cálculo não realizado devido número insignificante de observações.

A *M. haemolytica* se tornou o agente bacteriano predominante em ambos, SNs e SNFs, sendo recuperada em taxas superiores àquelas obtidas para *Micrococcus* spp., *Bacillus* spp., *Streptococcus* spp. e *Staphylococcus* spp., que foram as bactérias mais freqüentemente isoladas antes da indução da MPB (Tabela 15).

Embora não tenha havido diferença significativa ($P > 0,05$) nas taxas de isolamento da *P. multocida* nos SNs ou SNFs colhidos antes e após a indução da MPB (Tabela 16), esta bactéria, considerada integrante da flora basal das VAAs de bezerros (WOLDEIHIWET et al., 1990), passou a ser isolada mais freqüentemente após a indução da MPB, principalmente nos SNFs (Tabela 15

e Gráfico 5), o que estaria de acordo com as observações de THOMSON et al. (1975) e RADOSTITS et al. (2000).

Pode-se dizer que as frequências de isolamento da *M. haemolytica* A nos SNs e SNFs colhidos antes e após a indução da MPB (Tabela 15) delinearam padrões típicos de colonização das VAAs por esta bactéria quando os bezerros estavam hígidos e quando estes desenvolveram a MPB.

Antes da indução da MPB, a *M. haemolytica* A não foi isolada nos SNs e em apenas cinco (17,86%) SNFs. Provavelmente, isso ocorreu por que, segundo PASS & THOMSON (1971), YATES (1982), PANCIERA & CORSTVET (1984) e WILKIE & SHEWEN (1988), os sorotipos de *M. haemolytica* A estão presentes apenas em pequenas quantidades nas VAAs de bovinos sadios.

As taxas de isolamento da *M. haemolytica* A nos SNs e SNFs colhidos antes da indução da MPB não foram comparadas, mas a recuperação desta bactéria em cinco SNFs e a não recuperação nos SNs poderia estar sinalizando que o tecido linfóide na nasofaringe, e não o epitélio da cavidade nasal, seja o local mais intensamente colonizado pela *M. haemolytica* A, assim como propuseram SHOO et al. (1990).

Neste experimento, a *M. haemolytica* A foi isolada em 27 (96,43%) SNs e 28 (100,00%) SNFs após a indução da MPB. Além do aumento significativo ($P < 0,05$) das frequências de isolamento em ambos, SNs e SNFs, notou-se, à inspeção visual, aumento aparentemente expressivo do número de colônias de *M. haemolytica* A nas placas de ágar-sangue em que as secreções nasais e nasofaringeanas foram cultivadas, em relação à quantidade de colônias

desta bactéria que se observava antes da indução da MPB. Estes resultados estariam reforçando os achados THOMSON et al. (1975) e RADOSTITS et al. (2000), que relataram quantidades bem mais elevadas de organismos de *M. haemolytica* A1 em bovinos com MPB aguda, quando comparados aos animais sadios.

Provavelmente, a colonização maciça das VAAs dos bezerros pela *M. haemolytica* A após a indução da MPB, como demonstraram as elevadas taxas de recuperação desta bactéria nos SNs e SNFs, ocorreu devido à disseminação retrógrada da cepa D153 de *M. haemolytica* A1 inoculada nos pulmões dos bezerros para induzir a MPB. É possível que esta cepa de *M. haemolytica* A1 tenha alcançado as VAAs via sistema linfático da região cervical e da cabeça, uma vez que se observaram aumentos de tamanho dos linfonodos parotídeos e mandibulares (consultar seção 5.1), ou por aerossóis expelidos a cada expiração. Como os isolados não foram sorotipados, é possível que outros sorotipos, além do A1, também estivessem presentes e em quantidades expressivas nas VAAs dos bezerros após a indução da MPB. Além da cepa D153, é possível que cepas autóctones também tenham se multiplicado intensamente nas VAAs dos bezerros deste experimento após a indução da MPB.

6. CONCLUSÕES

Nas condições em que este experimento foi realizado, pode-se concluir que:

1. O quadro clínico da Mannheimiose Pneumônica Bovina tende a melhorar, de 12 para 72 horas após a indução, sendo expressivos os incrementos de temperatura corporal e frequência respiratória apresentados pelos bezerros durante esta fase da doença.
2. A Mannheimiose Pneumônica Bovina não causa alterações importantes no eritrograma de bezerros, mas, especialmente às 12 horas após a inoculação, induz leucocitose por neutrofilia, sem mudanças expressivas nos demais constituintes do leucograma.
3. Após a indução da Mannheimiose Pneumônica Bovina, a *Mannheimia haemolytica* A é a bactéria mais frequentemente isolada das vias respiratórias anteriores dos bezerros, sendo os swabs nasais e nasofaríngeos satisfatórios para a sua recuperação.

7. REFERÊNCIAS *

ACKERMANN, M.R.; BROGDEN, K.A. Response of the ruminant respiratory tract to *Mannheimia (Pasteurella) haemolytica*. **Microbes Infect.**, v.2, 1079-1088, 2000.

ADUSU, T.E.; CONLON, P.T.; SHEWEN, P.E.; BLACK, W.D. *Pasteurella haemolytica* leukotoxin induces histamine release from bovine pulmonary mast cells. **Can. J. Vet. Res.**, v.58, p.1-5, 1994.¹

ALLAN, E.M.; GIBBS, H.A.; WIESEMAN, A.; SELMAN, I.E. Sequential lesions of experimental bovine pneumonic pasteurellosis. **Vet. Rec.**, v.117, p.438-442, 1985a.

ALLAN, E.M.; WISEMAN, A.; GIBBS, H.A.; SELMAN, I.E. *Pasteurella* species isolated from the bovine respiratory tract and their antimicrobial sensitivity patterns. **Vet. Rec.**, v.117, p.629-631, 1985b.

AMES, T.R.; MARKHAM, R.J.F.; OPUDA-ASIBO, J.; LEININGER, J.R.;

* ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 6023**: informação e documentação - Referências - Elaboração. Rio de Janeiro, 2002. 24p.
BIOSIS. **Serial sources for the BIOSIS preview database**. Philadelphia, 1996. 468p.

MAHESWARAN, S.K. Pulmonary response to intratracheal challenge with *Pasteurella haemolytica* and *Pasteurella multocida*. **Can. J. Comp. Med.**, v.49, p.395-400, 1985.

ANDERSON, M.L.; MOORE, P.F.; HYDE, D.M.; DUNGWORTH, D.L. Immunoglobulin containing cells in the tracheobronchial tree of cattle: relationship to age. **Res. Vet. Sci.**, v.41, p.221-227, 1986.

ANDREWS, A.H. Calf respiratory disease. In: ANDREWS, A.H.; BLOWEY, R.W.; BOYD, R.G.; EDDY, R.G (Eds). **Bovine medicine: diseases and husbandry of cattle**. Oxford: Blackwell, 1992. cap. 15, p.202-212.

ANGEN, O.; AALBAEK, B.; FALSEN, E.; OLSEN, J.E.; BISGAARD, M. Phenotypical relationship among strains classified with the ruminant *Pasteurella haemolytica*-complex using quantitative evaluation of data. **Zentralbl Bakteriol.**, v.285-p.459-470, 1997a.

ANGEN, O.; AHRENS, P.; BISGAARD, M. Phenotypic and genotypic characterization of *Mannheimia (Pasteurella) haemolytica*-like strains isolated from diseased animals in Denmark. **Vet. Microbiol.**, v.84, n.1-2, 103-114, 2002.

ANGEN, O.; CAUGANT, D.A.; OLSEN, J.E.; BIAGAARD, M. Genotypic relationship among strains classified with the *Pasteurella*-complex as indicated by ribotyping and multilocus enzyme electrophoresis. **Zentralbl Bakteriol.**, v.286, p.333-354, 1997c.

ANGEN, O.; MUTTERS, R.; CAUGANT, D.A.; OLSEN, J.E.; BIAGAARD, M. Taxonomic relationships of the *Pasteurella haemolytica*-complex as evaluated

by DNA:DNA hybridizations and 16S rRNA sequencing with proposal of *Mannheimia haemolytica* comb. nov., *Mannheimia granulomatidis* com. nov., *Mannheimia glucosida* sp. nov., *Mannheimia ruminalis* sp. nov. and *Mannheimia varigena* sp. nov. **Int. J. Syst. Bacteriol.**, v.49, p.67-86, 1999.

ANGEN, O.; OLSEN, J.E.; BISGAARD, M. Further studies on the relationships among strains classified as taxon 15, taxon 18, taxon 20, *Pasteurella granulomatidis* or *Pasteurella haemolytica* –complex in ruminants using quantitative evaluation of phenotypic data. **Zentralbl Bakteriol.**, v.286, p.317-332, 1997b.

ANUALPEC 2001 - Anuário da Pecuária Brasileira. Consultas rápidas, balanço da bovinocultura no Brasil. São Paulo: ARGOS, 2001. p.7.

ASENSIO, L. J. Técnicas de analisis de datos multidimensionales: bases teoricas y aplicaciones en agricultura. Madrid: Ministério de Agricultura Pesca y Alimentacion, 1989. 301p.

BALMER, T. V.; WILLIAMS, P.; SELMANS, I. E. Comparison of carprofen and flunixin meglumine as adjunctive therapy in bovine respiratory disease. **Vet. J.**, v.154, n.3, p.233-241, 1997.

BALUYUT, C.S.; SIMONSON, R.R.; BEMRICK, W.J.; MAHESWARAN, S.K. Interaction of *Pasteurella* with neutrophils: identification and partial characterization of a cytotoxin. **Am. J. Vet. Res.**, v.42, p.1920-1926, 1981.

BARRAGRY, T.B.; POWERS, T.E. **Veterinary drug therapy**. Philadelphia: Lea & Febiger, 1994. 1076p.

BARROS, H.M.; LAMOUNIER, R.D.; ARAÚJO, L.M.; BENINTENDI, R.P.

"Causa mortis" em bezerros *Bos indicus*, em regime de criação extensiva.

Bol. Industr. Anim., v.23, p.199, 1965/66.

BARROS, M.S.R.M.; CASTRO, R.S.; TABOSA, J.H.C.; BRITO, M.F.; AMARAL, B. Colheita do fluído brônquio-alveolar de bezerros através da traqueocentese transcutânea. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v.6, p.41-49, 1994.

BENESI, F.J.; RODRIGUES, P.H.M.; MIRANDOLA, R.M.S.; HOWARD, D.L. Variação dos valores do hemograma e do número de plaquetas em bezerros com endotoxemia experimental. In: CONGRESSO PAULISTA DE MEDICINA VETERINÁRIA, 2., 1993, São Paulo. **Anais...**São Paulo, 1993. p.27.

BINGHAM, D.P.; MOORE, R.; RICHARDS, A.B. Comparison of DNA:DNA homology and enzymatic activity between *Pasteurella haemolytica* and related species. **Am. J. Vet. Res.**, v.51, p.1161-1166, 1990.

BLUM, J.W.; BRUCKMAIER, R.M.; MOSER, M. Endocrine, metabolic and hematological changes associated with reduced growth performance during chronic pneumonia en calves: a case study. **Dtsch. Tierärztl. Wochenschr.**, v.103, p.115-116, 1996.

BREEZE, R. Structure, function, and metabolism in the lung. **Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.**, v.1 p.219-235, 1985.

BRODGEN, K.A. Ovine pulmonary surfactant induces killing of *Pasteurella haemolytica*, *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* by normal serum. **Infect. Immun.**, v.60, n.12, p.5182-5189, 1992.

BROGDEN, K.A.; ACKERMANN, M.R.; HUTTNER, K.M. Detection of anionic

antimicrobial peptides in ovine bronchoalveolar lavage fluid and respiratory epithelium. **Infect. Immun.**, v. 66, p.5948-5954, 1998b.

BROGDEN, K.A.; ACKERMANN, M.R.; HUTTNER, K.M. Small, anionic and charge-neutralizing propeptide fragments of zymogens are antimicrobial. **Antimicrob. Agents Chemother.**, v.41, n.7, p.1615-1617, 1997.

BROGDEN, K.A.; LEHMKUHL, H.D.; CUTLIP, R.C. *Pasteurella haemolytica* complicated respiratory infections in sheep and goats. **Vet. Res.**, v.29, n.3-4, p.233-254, 1998a.

BUREAU, F.; Van de WEERDT, M.L.; HANON, E.; PASTORET, P.P.; LEKEUX, P. Control of inflammation in experimental bovine pneumonic pasteurellosis. **Bovine Pract.**, n.32.1, p.5-13, 1998.

CANADIAN COUNCIL ON ANIMAL CARE. **Guide to the care and use of experimental animals.** 2 ed. Ottawa, 1980. v.1.

CAR, B.D.; SUYEMOTO, M.M.; NEILSEN, N.R.; SLAUSON, D.O. The role of leukocytes in the pathogenesis of fibrin deposition in bovine acute lung injury. **Am. J. Pathol.**, v.138, n.5, p. 1191-1198, 1991.

CARLTON, W.W.; McGAVIN, M.D. **Thomson's special veterinary pathology.** 2.ed. St. Louis: Mosby, 1995. 645p.

CARTER, G.R. *Pasteurella haemolytica*: an important pathogen of sheep and cattle. **Vet. Med.**, v. 59, p.722-724, 1964.

CARTER, G.R.; COLE JUNIOR, J.R. **Diagnostic procedures in veterinary bacteriology and mycology.** 5.ed. San Diego: Academic Press, 1990. p. 201-209.

- CHERYK, L.A.; HOOPER-McGREVY, K.E.; GENTRY, P.A. Alterations in bovine platelet function and acute phase proteins induced by *Pasteurella haemolytica* A1. **Can. J. Vet. Res.**, v.62, p.1-8, 1998.
- CLARKE, C.R.; CONFER, A.W.; MOSIER, D.A. *In vivo* effect of *Pasteurella haemolytica* infection on bovine neutrophil morphology. **AJVR**,v.59, n.5, p.588-592, 1998.
- CLINKENBEARD, K.D.; CLARKE, C.R.; HAGUE, C.M.; CLINKENBEARD, P.; SRIKUMARAN, S.; MORTON, R. *Pasteurella haemolytica* leukotoxin-induced synthesis of eicosanoids by neutrophils *in vitro*. **J. Leukocyte Biol.**, v. 56, p.644-649, 1994.
- CLINKENBEARD, K.D.; MOSIER, D.A.; CONFER, A.W. Transmembrane pore size and role of cell swelling in cytotoxicity caused by *Pasteurella haemolytica* leukotoxin. **Infect. Immun.**, v.57, n.2, p.420-425, 1989.
- CLINKENBEARD, K.D.; UPTON, M.L. Lysis of bovine platelets by *Pasteurella haemolytica* leukotoxin. **Am. J. Vet. Res.**, v.52, p.453-457, 1991.
- COLLIE, D.D.S. Pulmonary function changes and clinical findings associated with chronic respiratory disease in calves. **Br. Vet. J.**, v.148, p.33-41, 1992.
- COLLIER, J.R. *Pasteurellae* in bovine respiratory disease. **J. Am. Vet. Med. Assoc.**, v. 152, p.824-828, 1968a.
- COLLIER, J.R. Significance of bacteria in bovine respiratory disease. **JAVMA**, v.163, n.12, p.1645-1651, 1968b.
- COLLIER, R.E.; ROSSOW, C.F. Microflora of apparently healthy lung tissue of the cattle. **Am. J. Vet. Res.**, v.25, p.391-393, 1964.

CONFER, A.W.; PANCIERA, R.J.; MOSIER, D.A. Bovine pneumonic pasteurellosis: immunity to *Pasteurella haemolytica*. **J. Am. Vet. Med. Assoc.**, v.193, p.1308-1316, 1988.

CONFER, A.W.; SIMONS, K.R. Effects of *Pasteurella haemolytica* lipopolysaccharide on selected functions of bovine leukocytes. **Am. J. Vet. Res.**, v.47, p.154-157, 1986.

CUDD, L.; CLARKE, C.; CLINKENBEARD, K.; SHELTRON, M.; CLINKENBEARD, P.; MURPHY, G. Role of intracellular calcium in *Pasteurella haemolytica* leukotoxin-induced neutrophil leukotriene B4 production and plasma membrane damage. **FEMS Microbiol. Lett.**, v.172, p.123-129, 1999.

CULLOR, J.S. Shock attributable to bacteremia and endotoxemia in cattle: clinical and experimental findings. **JAVMA**, v. 200, p.1894 -1901, 1992.

CURRLE, M. **Endoskopische, tracheobronchiäle kretzytologische und arterielle Blutgasuntersuchungen bei bronchopneumonie-kranker Rinder**. 1985. 179p. Inaugural - Dissertation (Doctor Medicinae Veterinariae)-Tierärztliche Hochschule Hannover, Hanover.

CZUPRYNSKI, C.J.; NOEL, E.J.; ORTIZ CARRANZA, O.; SRIKUMARAN, S. Activation of bovine neutrophils by partially purified *Pasteurella haemolytica* leukotoxin. **Infect. Immun.**, v. 59, p.3126-3133, 1991.

DESMECHT, D.J.M.; LINDEN, A.S.; LEKEUX, P.M. The relation of ventilatory failure to pulmonary, respiratory muscle and central nervous system disturbances in calves with in experimentally produced pneumonia. **J. Comp. Pathol.**, v.115, n.3, p.203-219, 1996.

- DIRKSEN, G.; GRÜNDER, H.D.; STÖBER, M. **Exame clínico dos bovinos**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1993. 419p.
- ESSLEMONT, R.J.; KOSSAIBATI, M.A. The cost of respiratory diseases in dairy heifer calves. **Bov. Pract.**, v.33, n.2, p.174-178, 1999.
- FAGLIARI, J.J. Estudo clínico e laboratorial da pneumonia de bezerras induzida pela inoculação intrabronquial de *Mannheimia haemolytica*. **Arq. Bras. Méd. Vet. Zootec.**, v.55, n.1, p.8-14, 2003.
- FAGLIARI, J.J.; SANTANA, A.E.; LUCAS, F.A.; CAMPOS FILHO, E.; CURI, P.R. Constituintes sangüíneos de bovinos recém-nascidos das raças Nelore (*Bos indicus*) e Holandesa (*Bos taurus*) e de bubalinos (*Bubalus bubalis*) da raça Murrah. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v.50, n.3, p.253-262, 1998.
- FEITOSA, F.L.F. **Semiologia veterinária: a arte do diagnóstico**. São Paulo: Roca, 2004. 807p.
- FELDMAN, B.F.; ZINKL, J.G.; JAIN, N.C. **Schalm's veterinary hematology**. 5. ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2000. 1344p.
- FIGUEIREDO, J.B. Pasteureloses. **Rev. Bras. Reprod. Anim.**, v.21, p.40-48, 1997.
- FRANK, G.H. When *Pasteurella haemolytica* colonizes the nasal passages of cattle. **Vet. Med.**, v.83, p.1060-1064, 1988.
- FRANK, G.H.; BRIGGS, R.E. Colonization of the tonsils of calves with *Pasteurella haemolytica*. **Am. J. Vet. Res.**, v.53, n.4, 481-484, 1992.
- FRANK, G.H.; BRIGGS, R.E.; GILLETTE, K.G. Colonization of the nasal

passages of calves with *Pasteurella haemolytica* serotype 1 and regeneration of colonization after experimentally induced viral infection of the respiratory tract. **Am. J. Vet. Res.**, v.47, n.8, p.1704-1707, 1986.

FRANK, G.H.; BRIGGS, R.E.; LOAN, R.W.; PURDY, C.W. Serotype-specific inhibition of colonization of the tonsils and nasopharynx of calves after *Pasteurella haemolytica* serotype A1 after vaccination with the organism. **Am. J. Vet. Res.**, v.55, n.8, p.1107-1110, 1994.

FRANK, G.H.; SMITH, P.C. Prevalence of *Pasteurella haemolytica* in transported calves. **AJVR**, v.44, p.981-985, 1983.

FRANK, G.H.; WESSMAN, G.E. Rapid plate agglutination procedure for serotyping *Pasteurella haemolytica*. **J. Clin. Microbiol.**, v.7, p.142-145, 1978.

FRIEND, S.C.E.; WILKIE, B.N.; THOMSON, R.G.; BARNUM, D.A. Bovine pneumonic pasteurellosis: experimental induction in vaccinated and nonvaccinated calves. **Can. J. Comp. Med.**, v.41, n.1, p.77-83, 1977.

GAVA, A.; SOUSA, R.S.; NEVES, D.S.; TRAVERSO, S.D.; BARROS, C.S.L. Pasteurelose em bovinos em confinamento. In: ENCONTRO NACIONAL DE PATOLOGIA VETERINÁRIA, 9., 1999, Belo Horizonte. **Anais...** Belo Horizonte, 1999. p.18.

GIBBS, H.A.; ALLAN, E.M.; WISEMAN, A.; SELMAN, I.E. Experimental production of bovine pneumonic pasteurellosis. **Res. Vet. Sci**, v.37, p.154-166, 1984.

GILMOUR, N.J.L.; GILMOUR, J.S. ***Pasteurella and pasteurellosis***. London: Academic Press, 1989. 223p.

GONÇALVES, R.C. **Estudo clínico e citológico em bezerros clinicamente sadios e portadores de broncopneumonia moderada e grave: o lavado traqueobrônquico como complemento diagnóstico.** 1997. 146p. Tese (Doutorado) - Faculdade de Medicina Universidade Estadual Paulista, Botucatu.

GONCALVES, R.C. **Estudo da flora traqueobrônquica em bezerros clinicamente sadios e portadores de pneumonia na região de Botucatu – SP.** 1987. 44 p. Dissertação (Mestrado em Clínica) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Botucatu.

GONÇALVES, R.C. Semiologia do sistema respiratório. In: FEITOSA, F.L.F. **Semiologia veterinária: a arte do diagnóstico.** São Paulo: Roca, 2004. cap.7, p.313-331.

GONÇALVES, R.C.; BARIONI, G. Exame clínico do aparelho respiratório de bezerros **Rev. Educ. Cont. CRMV-SP.** v. 3, p. 4 - 13, 2000b.

GONÇALVES, R.C.; KUCHEMUCK, M.R.G.; CURI, P.R.; CHIACCHIO, S.B.; ALMEIDA, C.T.; BORGES, A.S. Diferenciação clínica da broncopneumonia moderada e grave em bezerros. **Ciênc. Rural**, v.31, p.263-269, 2001.

GONÇALVES, R.C.; LISBOA, J.A.N.; SOUZA, M.V.; ALMEIDA, C.T.; KUCHEMUCK, M.R.G.; CHIACCHIO, S.B. Aspectos clínicos e epidemiológicos da broncopneumonia dos bezerros em Botucatu, SP. **Rev. Bras. Ciênc. Vet.**, v.7, p.144-147, 2000a.

GONZALEZ, C.T.; MAHESWARAN, S.K. The role of induced virulence factors

produced by *Pasteurella haemolytica* in the pathogenesis of bovine pneumonic pasteurellosis: review and hypothesis. **Br. Vet. J.** , v.149, n.2, p.183-193, 1993.

GREY, C.L.; THOMSON, R.G. *Pasteurella haemolytica* in the tracheal air of calves. **Can. J. Comp. Med.**, v.35, p.121-128, 1971.

GRIFFIN, D. Economic impact associated with respiratory disease in beef cattle. **Vet. Clin. Nort Am. Food Anim. Pract.**, v.13, p.367-376, 1997.

HENRICKS, P.A.J.; BINKHORST, G.J.; DRIJVER, A.A.; NJJKAMP, F.J. *Pasteurella haemolytica* leukotoxin enhances production of leukotriene B₄ and 5-hydroxyeicosatetraenoic acid by bovine polymorphonuclear leukocytes. **Infect. Immun.**, v.60, n.8, p.3238-3243, 1992.

HUSHAND, A.J.; BRANDON, M.R.; LASCELLES, A. Absorption and endogenous production of immunoglobulins in calves. **Aust. J. Exp. Biol. Med. Sci.**, v.50, p.491-498, 1972.

JAIN, N.C. Hematologic techniques. In: **___Schalm's veterinary hematology**. 4.ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 1986. chap. 2, p. 20-86.

JAKAB, G.J. Viral-bacterial interactions in pulmonary infection. **Adv. Vet. Sci. Comp. Med.**, v.26, p.155-171, 1982.

JUBB, K.V.F.; KENNEDY, P.C.; PALMER, N. **Pathology of domestic animals**. 3 ed. London: Academic Press, 1985. 487p.

KEISS, R.E.; WILL, D.H.; COLLIER, J.R. Skin toxicity and hemodynamics properties of endotoxin derived from *Pasteurella haemolytica*. **Am. J. Vet. Res.**, v.25, p.935-942, 1964.

LAFLEUR, R.L.; ABRAHAMSEN, M.S.; MAHESWARAN, S.K. The biphasic mRNA expression pattern of bovine interleukin-8 in *Pasteurella haemolytica* lipopolysaccharide-stimulated alveolar macrophages is primarily due to tumor necrosis factor alpha. **Infect. Immun.**, v.66, p.4087-4092, 1998.

LAINSON, F.A.; MURRAY, J.; DAVIES, R.C.; DONACHIE, W. Characterization of *Pasteurella haemolytica* serotype A1 leucotoxin. **Microbiology**, v. 142, p. 2499-2507, 1996.

LEE, C.W.; SHEWEN, P.E. Evidence of bovine immunoglobulin G₁ (IgG₁) protease activity in partially purified supernate of *Pasteurella haemolytica* A1. **Can. J. Vet. Res.**, v. 60, p.127-132, 1996.

LEKEUX, P.; HAJER, R.; BOON, J.H.; VERSTEGEN, M.W.; BREUKINK, H.J. Physiological effects of experimental verminous bronchitis in Friesian calves. **Can. J. Comp. Med.**, v.49, p.205-207, 1985.

LI, J.; CLINKENBEARD, K.D. Lipopolysaccharide complexes with *Pasteurella haemolytica* leukotoxin. **Infect. Immun.**, v.67, p.2920-2927, 1999.

LILLIE, L.E. The bovine respiratory disease complex. **Can. Vet. J.**, v.15, n.9, p.233-243, 1974.

LINDEN, A.; DESMECHT, D.; AMORY, H.; DAUBE, G.; LECOMTE, S.R.; LEKEUX, P. Pulmonary ventilation, mechanics, gas exchange and hemodynamics in calves following intratraqueal inoculation of *Pasteurella haemolytica*. **J. Vet. Med. Assoc., A**, v.42, p.531-534, 1995.

MAGWOOD, S.E.; BARNUM, D.A.; THOMSON, R.G. Nasal bacterial flora of calves in healthy and in pneumonia-prone herds. **Can. J. Comp. Med.**, v.33,

n.4. p. 237-243, 1969.

MAHESWARAN, S.K.; KANAN, M.S.; WEISS, D.J.; REDDY, K.R.; TOWNSEND, E.L.; YOO, H.Y.; LEE, B.W.; WHITELEY, L.O. Enhancement of neutrophil-mediated injury to bovine pulmonary endothelial cells by *Pasteurella haemolytica* leucotoxin. **Infect. Immun.**, v.61, n.6, p.2618-2625, 1993.

MAHESWARAN, S.K.; WEISS, D.J.; KANNAN, M.S.; TOWNSEND, E.L.; REDDY, K.R.; WHITELEY, L.O.; SRIKUMARAN, S. Effects of *Pasteurella haemolytica* A1 leukotoxin on bovine neutrophils: degranulation and generation of oxygen free radicals. **Vet. Immunol. Immunopathol.**, v. 33, p.51-68, 1992.

MALAZDREWICH, C.; THUMBIKAT, P.; MAHESWARAN, S.K. Protective effect of dexamethasone in experimental bovine pneumonic manheimiosis. **Microb Pathog.**, v. 36, n.4, p.227-236, 2004.

MANZ-KEINLE, H.; PLATTNER, H.; SCHELEPPER-SCHAFER, J. Lung surfactant protein A (SP-A) enhances serum-independent phagocytosis of bacteria by alveolar macrophages. **Eur. J. Cell. Biol.**, v.57, p.95-100, 1992.

MAZZUCHELLI, F.; RODRIGUEZ, M. Patología respiratoria del ternero en cría intensiva: pautas básicas para su tratamiento y prevención. **Med. Vet.**, v.12, n.9, p.506-512, 1995.

McBRIDE, J.W.; CORSTVET, R.E.; PAULSEN, D.B.; McCLURE, J.R.; ENRIGHT, F.M. Systemic and pulmonary antibody responses of calves to *Pasteurella haemolytica* after intrapulmonary inoculation. **Am. J. Vet. Res.**,

v.53, n.10, p.1889-1894, 1992.

McCLENAHAN, D.J.; FAGLIARI, J.J.; EVANSON, O.A.; WEISS, D.J. Role of platelet-activating factor in alveolar septal injury associated with experimentally induced pneumonic pasteurellosis in calves. **AJVR**, v.61, n.3, p.248-254, 2000.

MORCK, D.W.; WATTS, T.C.; ACRES, S.D.; COSTERTON, W. Electron microscopic examination of cells of *Pasteurella haemolytica*-A1 in experimentally infected cattle. **Can. J. Vet. Res.**, v.52, n.3, p.343-348, 1988.

MORSEY, M.A.; Van-KESSEL, A.G.; MORI, Y.; POPOWYCH, Y.; GODSON, D.; CAMPOS, M.; BABUIK, L.A. Cytokine profiles following interaction between alveolar macrophages and *Pasteurella haemolytica* **Microb. Pathog.**, v.26, p.325-331, 1999.

MURRAY, P.R.; BARON, E.J.; PFALLER, M.; TENOVER, F.C.; YOLKEN, R.H. **Manual of clinical microbiology**, 7.ed. Washington: American Society for Microbiology, 1999. 567p.

PANCIERA, R.J.; CORSTVET, R.E. Bovine pneumonic pasteurellosis: model for *Pasteurella haemolytica*-and *Pasteurella multocida*- induced pneumonia in cattle. **Am. J. Vet. Res.**, v.45, n.12, p.2532-2537, 1984.

PASS, D.A.; THOMSON, R.G. Wide distribution of *Pasteurella haemolytica* type 1 over the nasal mucosa of cattle. **Can. J. Comp. Med.**, v.35, n.3, p.181-186, 1971.

PESAGRO, R.J. Problemas sanitários da pecuária de leite na região fisiográfica de Cantagalo. **Cad. Saúde Pública Ser. Doc.**, n.3, p. 67-74, 1987.

POTGIETER, L.N.D.; McCRAKEN, M.D.; HOPKINS, F.M. Experimental production of bovine respiratory tract disease with bovine viral diarrhea virus. **Am. J. Vet. Res.**, v.45, p.1582-1585, 1984.

RABELING, B.; REHAGE, J.; DÖPFER, D.; SCHOLZ, H. Ultrasonographic findings in calves with respiratory disease. **Vet. Rec.**, v.143, p.468-471, 1998.

RADOSTITIS, O.M.; GAY, C.C.; BLOOD, D.C.; HINCHCLIFF, K.W. **Veterinary medicine: a textbook of the diseases of cattle, sheep, pigs, goats and horses**. 9. ed. London: W. B. Saunders, 2000. 1873p.

RADOSTITS, O.M.; MAYHEW, I.G.; HOUSTON, D.M. **Exame clínico e diagnóstico em veterinária**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002. 591p.

RASHID, J.; WEISS, D.J.; BACH, R.; MURTAUGH, M. Role of tissue factor in intra-alveolar fibrin deposition and coagulopathy associated with pneumonic pasteurellosis in cattle. **Am. J. Vet. Res.**, v.58, n.1, p.28-33, 1997.

REBHUN, W.C.; GUARD, C.; RICHARDS, C.M. The clinical examination. In: _____. **Diseases of dairy cattle**. Baltimore: Williams & Wilkins, 1995. p-1-10.

REECE, W.O.; WAHLSTROM, J.D. *Escherichia coli* endotoxemia in conscious calves. **Am. J. Vet. Res.**, v.34, p.765-769, 1974.

REECES, J.T.; DAOUD, F.S.; ESTRIDGE, M. Endotoxin: a cause of spontaneous pulmonary hypertension in cattle. **Am. J. Vet. Res.** v.34, p.1573-1576, 1973.

REHMTULLA, A.J.; THOMSON, R.G. A review of the lesions in shipping fever of cattle. **Can. Vet. J.**, v.22, p1-8, 1981.

RHOADES, K.R.; HEDDLESTONE, K.L.; REBERS, P.A. Experimental hemorrhagic septicaemia, gross e microscopic lesions resultant from acute infection and from endotoxin administration. **Can. J. Comp. Med.**, v.31, p.226-233, 1967.

ROSENQUIST, B.D. Isolation of respiratory syncytial virus from the calves with acute respiratory disease. **J. Infect. Dis.**, v.130, p.177-182, 1974.

ROWE, H.A.; KNOX, D.P.; POXTON, I.R.; DONACHIE, W. Divergent activity and function of superoxide dismutases in *Pasteurella haemolytica* serotypes A1 and A2 and *Pasteurella trehalosi* serotype T10. **FEMS Microbiol. Lett.**, v.150, p.197-202, 1997.

SABAN, R.S.; BROADSTONE, R.V.; HAAK-FRENDSCHO, M.; SKOYEN, S.; FIALKOWISKI, J.; MAHESWARAN, S.K.; BJORLING, D.E.; CZUPRYNSKY, C.H. Effects of *Pasteurella haemolytica* leukotoxin and lipopolysaccharide on histamine, prostanoid, and leukotriene release by bovine lung parenchyma *in vitro*. **Am. J. Vet. Res.**, v.58, n.11, p.1227-1231, 1997.

SHEWEN, P.E.; WILKIE, B.N. Cytotoxin of *Pasteurella haemolytica* acting on bovine leucocytes. **Infect. Immun.**, v.35, p.91-94, 1982.

SHEWEN, P.E.; WILKIE, B.N. Evidence for the *Pasteurella haemolytica* Cytotoxin as a product of actively growing bacteria. **Am. J. Vet. Res.**, v.46, p.1212-1214, 1985.

SHOO, M.K. Experimental bovine pneumonic pasteurellosis: a review. **Vet. Rec.**, v.124, n.6, p.141-144, 1989.

SHOO, M.K.; WISEMAN, A.; GIBBS, H.A.; AL-HENDI, A.B.; SELMAN, I.E.

Distribution of *Pasteurella haemolytica* in the respiratory tracts of carrier calves and those subsequently infected experimentally with *Dyctiocalus viviparus*. **Res. Vet. Sci.**, v.48, p.383-385, 1990.

SIEGEL, S. **Nonparametric statistics for the behavioral sciences**. New York: McGraw Hill Book Company, 1975. 321p.

SLOCOMBE, R.F.; DERKSEN, F.J.; ROBINSON, N.E. Interactions of cold stress and *Pasteurella haemolytica* in the pathogenesis of pneumonic pasteurellosis in calves: changes in pulmonary function. **Am. J. Vet. Res.**, v.45, n.9, p.1764-1770, 1984a.

SLOCOMBE, R.F.; DERKSEN, F.J.; ROBINSON, N.E. Interactions of cold stress and *Pasteurella haemolytica* in the pathogenesis of pneumonic pasteurellosis in calves: methods de induction and hematologic and pathologic changes. **Am. J. Vet. Res.**, v.45, n.9, p.1757-1763, 1984b.

SLOCOMBE, R.F.; MALARK, J.; INGERSOLL, R.; DERKSEN, F.J.; ROBINSON, N.E. Importance of neutrophils in the pathogenesis of acute pneumonic pasteurellosis in calves. **Am. J. Vet. Res.**, v.46, n.11, p.2253-2258, 1985.

SMITH, B. **Large animal internal medicine**. Philadelphia : Mosby. 3 ed. 2001, 2112p.

SNEATH, P.H.A.; STEVENS, A. *Actinobacillus rossii* sp. nov., *Actinobacillus semini* sp. nov., nom. rev., *Pasteurella betti* sp. nov., *Pasteurella lymphangitidis* sp. nov., *Pasteurella mairi* sp., nov., and *Pasteurella trehalosi* sp. nov. **Int. J. Syst. Bacteriol.**, v.40, p.148-153, 1990.

SNEDECOR, G.W.; COCHRAN, W.G. **Statistical methods**. 6.ed. Ames: The Iowa State University Press., 1974. 593p.

STEVENS, P.K.; CZUPRYNSKI, C.J. *Pasteurella haemolytica* leukotoxin induces bovine leukocytes to undergo morphologic changes consistent with apoptosis in vitro. **Infect. Immun.**, v.64, n.7, p.2687-2694, 1996.

STRAUS, D.C.; UNBEHAGEN, P.J.; PURDY, C.W. Neuraminidase production by a *Pasteurella haemolytica* A1 strain associated with bovine pneumonia. **Infect. Immun.**, v.61, n.1, p.253-259, 1993.

SUTHERLAND, A.D.; GRAY, E.; WELLS, P.W. Cytotoxic effect of *Pasteurella haemolytica* on ovine bronchoalveolar macrophages *in vitro*. **Vet. Microbiol.**, v.8, p.3-15, 1983.

SWANSON, K.M.; BUSTA, F.F.; PETERSON, E.H.; JOHNSON, M.J. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. 41.ed. Washington: American Public Health Association, 2001. Washington: American Public Health Association, 1992. p.75-95.

TENNANT, B.; REINA-GUERRA, M.; HARROLD, D. Metabolic response of calves following acute experimental endotoxemia. **Ann. Rech. Vét.**, v. 4, p.135-147, 1973.

THOMAS, L.H.; STOTT, E.J.; COLLINS, A.P.; JEBBET, N.J.; STARK, A.J. Evaluation of respiratory disease in calves: comparison of disease response to different viruses. **Res. Vet. Sci.**, v.23, n.2, p.157-164, 1977.

THOMAS, L.H.; SWANN, R.G. Influence de colostrums on the incidence de calf pneumonia. **Vet. Rec.**, v.92, p.454-455, 1973.

THOMSON, R.G.; BENSON, M.L.; SAVAN, M. Pneumonic pasteurellosis of cattle: Microbiology and immunology. **Can. J. Comp. Med.**, v. 33, p.194-206, 1969.

THOMSON, R.G.; CHANDER, S.; SAVAN, M.; FOX, M.L. Investigation of factors of probable significance in the pathogenesis of pneumonic pasteurellosis. **Can.. J. Comp. Med.**, v.39, p.194-207, 1975.

THURMON, C.J., TRANQUILLI, J.W., BENSON, G.J. **Veterinary anesthesia**. 3 ed. Baltimore: Williams & Wilkins, 1996. 928p.

TÚRY, E.; LIMA, P.G.C.; MOLNÁR, E.; VALE, W.G.; MOLNÁR, L. Estudo clínico e anatomopatológico da febre do transporte, diagnosticada em bovinos importados da Alemanha. **Rev. Bras. Med. Vet.**, v.18, n.3, p.116-126, 1996.

VALLI, V.E.O.; HULLAND, T.J.; McSHERRY, B.J.; ROBINSON, G.A. The kinetics of haematopoiesis in calf I. An autoradiographical study of myelopoiesis in normal, anaemic e endotoxin treated calves. **Res. Vet. Sci.**, v.12, p.535-550, 1971.

VEIT, H.P.; FARREL, R.L. The anatomy and physiology of the bovine respiratory system relating to pulmonary disease. **Cornell Vet.**, v.68, p.555-581, 1978.

VESTWEBER, G.E.; GUFFY, M.; KELLY, B.; LELPOLD, H.W. Chronic bronchopneumonia in calves. **Bovine Pract.**, v.55, p.55-62, 1977.

VESTWEBER, J.G.; KLEMM, R.D.; LEIPOLD, H.W.; JOHNSON, D.E. Pneumonic pasteurellosis induced experimentally in gnotobiotic and conventional calves inoculated with *Pasteurella haemolytica*. **Am. J. Vet.**

Res., v.51, 1799-1805, 1990b.

VESTWEBER, J.G.; KLEMM, R.D.; LEIPOLD, H.W.; JOHNSON, D.E.; BAILIE, W.E. Clinical and pathologic studies of experimentally induced *Pasteurella haemolytica* pneumonia in calves. **Am. J. Vet. Res.**, v.51, n.11, p.1792, 1990a.

VIRTALA, A-M.K.; GRÖHN, Y.T.; MECHOR, G.D.; ERB, H.N. The effect of maternally derived immunoglobulin G on the risk of respiratory disease in heifers during the first 3 months of life. **Prev. Vet. Med.**, v.39, p.25-37, 1999.

WEEKLEY, L.B.; VEIT, H.P.; EYRE, P. Bovine pneumonic pasteurellosis. Part I. Pathophysiology. **CCEPV**, v.20, n.1, p.S33-S46, 1998a.

WEEKLEY, L.B.; VEIT, H.P.; EYRE, P. Bovine pneumonic pasteurellosis. Part II. Clinical presentation and treatment. **CCEPV**, v.20, n.2, p.S56-S62, 1998b.

WEISS, D.J.; BAUER, M.C.; WHITELEY, L.O.; MAHESWARAN, S.K.; AMES, T.R. Changes in blood and bronchoalveolar lavage fluid components in calves with experimentally induced pneumonic pasteurellosis. **Am. J. Vet. Res.**, v.52, n.2, p.337-344, 1991.

WHITELEY, L.O.; MAHESWARAN, S.K.; WEISS, D.J.; AMES, T.R. Alterations in pulmonary morphology and peripheral coagulation profiles caused by intratracheal inoculation of live and ultraviolet light-killed *Pasteurella haemolytica* A1 in calves. **Vet. Pathol.**, v.28, p.275-285, 1991a.

WHITELEY, L.O.; MAHESWARAN, S.K.; WEISS, D.J.; AMES, T.R. Immunohistochemical localization of *Pasteurella haemolytica* A1-derived endotoxin, leukotoxin, and capsular polysaccharide in experimental bovine

pasteurella pneumonia. **Vet. Pathol.**, v.27, n.3, p.150-161, 1990.

WHITELEY, L.O.; MAHESWARAN, S.K.; WEISS, D.J.; AMES, T.R. Morphological and morphometrical analysis of the acute response of the bovine alveolar wall to *Pasteurella haemolytica* AI-derived endotoxin and leucotoxin. **J. Comp. Pathol**, v.104, n.1, p.23-32, 1991b.

WIKSE, S.E. Feedlot cattle pneumonia. **Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.**, v.1, p.288-310,1985.

WILKIE, B.N. Respiratory tract immune response to microbial pathogens. **JAVMA**, v.181, n.10, p.1074-1078, 1982.

WILKIE, B.N.; MARKHAM, R.J.F.; SHEWEN, P.E. Response of calves to lung challenge exposure with *Pasteurella haemolytica* after parenteral or pulmonary immunization. **Am. J. Vet. Res.**, v.41, n.11, p.1773-1778, 1980.

WILKIE, B.N.; SHEWEN, P. Defining the role that *Pasteurella haemolytica* plays in shipping fever. **Vet. Med.**, v.83, p.1053-1058, 1988.

WILKSE, S.E. The bronchopneumonia. In: SMITH, B.P. (Ed). **Large animal internal medicine**. St. Louis: CV Mosby, 1990. p.582-594.

WILSON, J.H.; LOFSTEDT, J. Alterations in respiratory function. In: SMITH, B. **Large animal internal medicine: diseases of horses, cattle, sheep and goats**. St. Louis: C.V. Company, 1990. v.1, p.47-49.

WOLDEHIWET, Z.; MAMACHE, B.; ROWAN, T.G. The effects of age, environmental temperature and relative humidity on the bacterial flora of the tract respiratory upper in calves. **Br. Vet. J.**, v.146, p. 211-218, 1990.

WRAY, C.; THOMPSON, D.A. An epidemiological study of *Pasteurella*

haemolytica in calves. **Br. Vet. J.**, v.129, p.116-123, 1973.

YATES, W.D.G. A review of infectious bovine rhinotracheitis, shipping fever pneumonia and viral-bacterial synergism in respiratory disease of cattle. **Can. J. Comp. Med.**, v.46, n.3, p.225-263, 1982.

YOO, H.S.; MAHESWARAN, S.K.; SRINAND, S.; AMES, T.R.; SURESH, M. Increased tumor necrosis factor-alpha and interleukin-1 beta expression in the lungs of the calves with experimental pneumonic pasteurellosis. **Vet. Immunol. Immunopathol.**, v.49, p.15-28, 1995.

ANEXO 1: FICHA DE EXAME FÍSICO

EXAME FÍSICO GERAL								
N.º:	Lote:	Grupo:	Fase:	Momento:	N.º do exame:	Data:	Hora:	
Posição: () estação () decúbito esterno-abdominal intermitente/ constante () decúbito lateral intermitente/ constante								
Comportamento: () N ^a () deprimido (1-3)				Escore corporal: () (1-5)				
Ingestão de alimentos: () N () inapetência: leite () capim () ração () água (1-3)								
Linfonodos:								
Secreção Ocular:								
Mucosas:								
TRC ¹ :		Desidratação: % ()			FC ² : () bpm		TC ³ :	
EXAME FÍSICO ESPECIAL DO TRATO RESPIRATÓRIO								
ATIVIDADE RESPIRATÓRIA								
POSTURA () N () ortopnéica () intermitente () constante () cabeça/pescoço distendidos (1-3) () respiração bucal (1-3) () abdução dos cotovelos (1-3)				AMPLITUDE: () N () superficial (1-3) () profunda (1-3) TIPO: () N () costal (1-3) () abdominal (1-3) () costo-abdominal (1-3) MODO: () N () dispnéia () inspiratória (1-3) () expiratória (1-3) () mista (1-3) FR ⁴ : () mpm				
MUFLO () N () ressecado (1-3) () fissuras (1-3) () crostas (1-3) () erosões (1-3) () hiperemia(1-3)		SECREÇÃO NASAL () Ø ^b () ε ^c () direita () esquerda () serosa (1-3) () serosa (1-3) () mucosa (1-3) () mucosa (1-3) () muco-purulenta (1-3) () muco-purulenta (1-3) () purulenta (1-3) () purulenta (1-3)		MUCOSA NASAL () direita () esquerda () N () N () hiperemia (1-3) () hiperemia (1-3) () erosões (1-3) () erosões (1-3)				
AR EXPIRADO T ⁵ () N () ↑ ^d (1-3) () ↓ ^e (1-3) FLUXO () N () ↓ (1-3) ODOR () N () alterado ()		TOSSE ESPONTÂNEA () Ø () ε () superficial (1-3) () seca (1-3) () profunda (1-3) () úmida (1-3)		REFLEXO DE TOSSE () Ø () ε () facilidade (1-3) () superficial (1-3) () seca (1-3) () profunda (1-3) () úmida (1-3)				
ESTRIDOR ES () Ø () ε Tipo () () inspiração (1-3) () expiração (1-3)		LARINGE/ TRAQUÉIA <u>PALPAÇÃO</u> () N () Sens ⁶ ↑ (1-3) () FTq ⁷ (1-3)						
						<u>AUSCULTAÇÃO</u> RLT ⁸ : () N () ↑ (1-3) () ↓ (1-3) () crepitação (1-3) () sibilo (1-3)		

HEMITÓRAX DIREITO
AUSCULTAÇÃO

- RTB⁹ () N () ↑ (1-3) () ↓ (1-3)
- RBB¹⁰ () N () ↑ (1-3) () ↓ (1-3)
- CG¹¹ () Ø () ε (1-3)
- CF¹² () Ø () ε (1-3)
- S¹³ () Ø () ε (1-3)
- RP¹⁴ () Ø () ε (1-3)
- PC¹⁵ () Ø () ε (1-3)
- SR¹⁶ () Ø () ε (1-3)

PERCUSSÃO

- () N () timpânico (1-3)
- () sub-macifo (1-3) () macizez horizontal (1-3)

PALPAÇÃO

- Sens¹⁷ () N () ↑ (1-3)
- Tt¹⁸ () N () ↑ (1-3)
- FTc¹⁹ () Ø () ε (1-3)

HEMITÓRAX ESQUERDO
AUSCULTAÇÃO

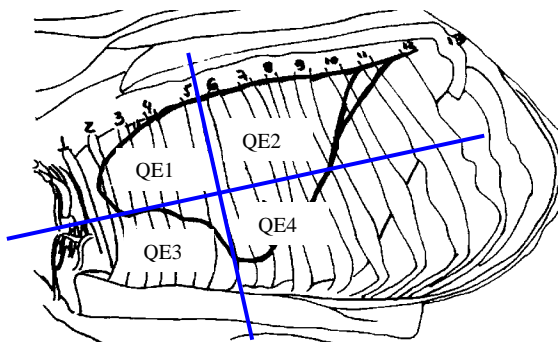
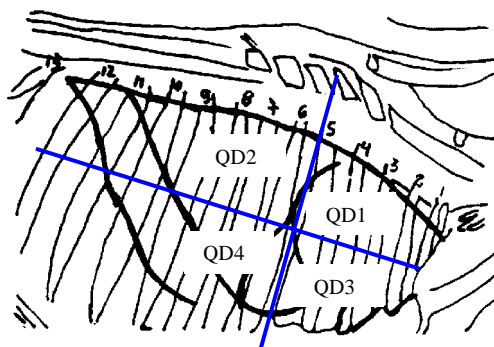
- RTB () N () ↑ (1-3) () ↓ (1-3)
- RBB () N () ↑ (1-3) () ↓ (1-3)
- CG () Ø () ε (1-3)
- CF () Ø () ε (1-3)
- S () Ø () ε (1-3)
- RP () Ø () ε (1-3)
- PC () Ø () ε (1-3)
- SR () Ø () ε (1-3)

PERCUSSÃO

- () N () timpânico
- () sub-macifo () macizez horizontal

PALPAÇÃO

- Sens () N () ↑ (1-3)
- Tt () N () ↑ (1-3)
- FTc () Ø () ε (1-3)



¹ TEMPO DE REPLEÇÃO CAPILAR, ² FREQUÊNCIA CARDÍACA, ³ TEMPERATURA CORPORAL, ⁴ FREQUÊNCIA RESPIRATÓRIA, ⁵ TEMPERATURA, ⁶ SENSIBILIDADE, ⁷ FRÊMITO TRAQUEAL, ⁸ RÚIDO LARINGO-TRAQUEAL; ⁹ RÚIDO TRAQUEO-BRÔNQUICO; ¹⁰ RÚIDO BRONQUIO-BRONQUIOLAR, ¹¹ CREPITAÇÃO GROSSA, ¹² CREPITAÇÃO FINA, ¹³ SIBILO, ¹⁴ ROCE PLEURAL, ¹⁵ PROPAGAÇÃO CARDÍACA, ¹⁶ SILÊNCIO RESPIRATÓRIO, ¹⁷ SENSIBILIDADE, ¹⁸ TEMPERATURA TORÁCICA, ¹⁹ FRÊMITO TORÁCICO, ^a NORMAL, ^b AUSENTE, ^c PRESENTE, ^d AUMENTADO (A), ^e DIMINUÍDO (A).

ANEXOS 3. Distribuição de frequência dos escores de intensidade para os 83 sinais clínicos diagnosticados às 12, 24, 48 e 72 horas após a indução da Manheimiose Pneumônica Bovina com cepa D153 de *M. haemolytica* A1, respectivamente, nos bezerros dos grupos GI a GIV.

Nº.	SINAIS CLÍNICOS	ESCORE *															
		GI- 12h (n = 7)			GII - 24 h (n = 7)			GIII - 48 h (n = 7)			GIV - 72 h (n = 7)						
		e0	e1	e2	e3	e0	e1	e2	e3	e0	e1	e2	e3	e0	e1	e2	e3
S1	Posição ¹	2	5	0	0	3	4	0	0	1	6	0	0	2	5	0	0
S2	Depressão	0	2	4	1	3	2	2	0	1	4	2	0	3	3	0	1
S3	Aumento de tamanho dos linfonodos mandibulares	5	2	0	0	2	5	0	0	4	2	1	0	2	5	0	0
S4	Aumento de tamanho dos linfonodos parotídeos	4	3	0	0	3	4	0	0	4	3	0	0	3	4	0	0
S5	Secreção ocular serosa	5	1	1	0	6	0	0	1	5	2	0	0	4	3	0	0
S6	Secreção ocular sero-mucosa	5	2	0	0	2	4	1	0	4	2	1	0	5	1	1	0
S7	Secreção ocular muco-purulenta	7	0	0	0	5	2	0	0	4	2	1	0	5	1	1	0
S8	Hiperemia das mucosas oculares	2	2	2	1	0	3	3	1	0	4	2	1	5	1	1	0
S9	Aumento da ejeção dos vasos da esclera	2	3	2	0	3	4	0	0	2	5	0	0	3	3	1	0
S10	Aumento do tempo de preenchimento capilar	3	2	2	0	4	3	0	0	7	0	0	0	7	0	0	0
S11	Diminuição da força do pulso	4	3	0	0	5	2	0	0	6	1	0	0	6	1	0	0
S12	Diminuição da celeridade do pulso	4	3	0	0	5	2	0	0	6	1	0	0	6	1	0	0
S13	Dispneia - cabeça e pescoço distendidos	2	2	3	0	4	2	1	0	4	2	1	0	5	1	0	1
S14	Dispneia - abdução da articulação umerorradial	6	1	0	0	7	0	0	0	7	0	0	0	6	1	0	0
S15	Aumento da amplitude dos movimentos torácicos à inspiração	1	5	1	0	1	5	1	0	0	5	2	0	0	4	3	0
S16	Aumento da amplitude dos movimentos abdominais à inspiração	1	2	3	1	1	1	4	1	0	1	4	2	0	2	2	3
S17	Aumento da amplitude dos movimentos torácicos na à expiração	1	5	1	0	1	5	1	0	0	5	2	0	0	4	3	0
S18	Aumento da amplitude dos movimentos abdominais à expiração	1	2	3	1	1	1	4	1	0	1	4	2	0	2	2	3
S19	Muflo ressecado	3	3	1	0	3	4	0	0	4	2	1	0	6	0	1	0

Continua

ANEXOS 3. Distribuição de frequência dos escores de intensidade para os 83 sinais clínicos diagnosticados às 12, 24, 48 e 72 horas após a indução da Manheimiose Pneumônica Bovina com cepa D153 de *M. haemolytica* A1, respectivamente, nos bezerros dos grupos GI a GIV.

Nº.	SINAIS CLÍNICOS	ESCORE *																		
		GI- 12h (n = 7)			GII -24 h (n = 7)			GIII - 48 h (n = 7)			GIV - 72 h (n = 7)									
		e0	e1	e2	e3	e0	e1	e2	e3	e0	e1	e2	e3	e0	e1	e2	e3			
S20	Secreção nasal mucosa	5	2	0	0	4	3	0	0	3	4	0	0	2	4	0	2	4	1	0
S21	Secreção nasal muco-purulenta	5	1	1	0	4	3	0	0	5	1	0	1	0	1	4	0	2	1	0
S22	Hiperemia das mucosas nasais	7	0	0	0	6	0	1	0	6	1	0	0	0	5	1	1	0	0	0
S23	Aumento de temperatura do ar expirado	6	1	0	0	6	1	0	0	7	0	0	0	6	1	0	0	0	0	0
S24	Tosse espontânea úmida	6	1	0	0	2	3	1	1	1	1	4	1	2	2	2	1	2	1	2
S25	Tosse espontânea seca	7	0	0	0	6	0	1	0	6	1	0	0	6	0	0	0	1	1	1
S26	Tosse espontânea superficial	6	0	1	0	3	1	3	0	6	0	1	0	5	0	1	1	1	1	1
S27	Tosse espontânea profunda	7	0	0	0	5	0	2	0	1	1	5	0	3	0	3	0	3	1	1
S28	Tosse induzida úmida	3	4	0	0	1	5	0	1	1	3	2	1	2	2	1	2	1	2	2
S29	Tosse induzida seca	6	0	1	0	6	0	1	0	6	1	0	0	6	0	1	0	1	0	0
S30	Tosse induzida superficial	3	3	1	0	4	0	3	0	5	1	1	0	5	0	2	0	2	0	0
S31	Tosse induzida profunda	6	1	0	0	3	1	3	0	2	0	4	1	3	0	2	2	2	2	2
S32	Facilidade de indução da tosse	2	3	2	0	0	1	1	5	0	1	0	6	1	1	4	1	1	1	1
S33	Ruído Laringo-Traqueal	1	3	2	1	1	2	3	1	0	2	3	2	0	1	3	3	0	1	3
S34	Crepitação na traquéia	6	0	1	0	7	0	0	0	7	0	0	0	6	0	1	0	0	1	0
S35	Sibilo na traquéia	7	0	0	0	7	0	0	0	6	1	0	0	6	1	0	6	1	0	0
S36	Aumento do Ruído Respiratório Traqueo-Brônquico Direito	0	2	5	0	0	7	0	0	0	3	4	0	1	2	4	0	0	0	0
S37	Aumento do Ruído Respiratório Traqueo-Brônquico Esquerdo	0	2	5	0	2	5	0	0	0	3	4	0	2	2	3	0	0	0	0
S38	Aumento do Ruído Respiratório Brônquio-Bronquiolar Direito	1	2	4	0	1	6	0	0	1	2	5	0	2	3	0	0	0	0	0
S39	Aumento do Ruído Brônquio-Bronquiolar Esquerdo	1	2	4	0	3	4	0	0	1	1	5	0	3	1	3	0	0	0	0
S40	Crepitação Grossa no Quadrante Direito 1	4	2	1	0	1	6	0	0	1	5	0	1	1	2	4	0	1	2	4

Continua

ANEXOS 3. Distribuição de frequência dos escores de intensidade para os 83 sinais clínicos diagnosticados às 12, 24, 48 e 72 horas após a indução da Manheimiose Pneumônica Bovina com cepa D153 de *M. haemolytica* A1, respectivamente, nos bezerros dos grupos GI a GIV.

Nº.	SINAIS CLÍNICOS	ESCORE *																
		GI- 12h (n = 7)			GII - 24 h (n = 7)			GIII - 48 h (n = 7)			GIV - 72 h (n = 7)							
		e0	e1	e2	e3	e0	e1	e2	e3	e0	e1	e2	e3	e0	e1	e2	e3	
S41	Crepitação Grossa no Quadrante Direito 2	2	3	2	0	0	0	5	1	1	0	5	2	0	0	5	2	0
S42	Crepitação Grossa no Quadrante Direito 3	2	1	1	3	1	2	3	1	1	3	2	1	0	2	2	2	3
S43	Crepitação Grossa no Quadrante Direito 4	1	3	1	2	0	2	4	1	1	3	2	1	1	3	2	1	0
S44	Crepitação Grossa no Quadrante Esquerdo 1	3	4	0	0	3	4	0	0	3	3	0	1	3	3	1	0	0
S45	Crepitação Grossa no Quadrante Esquerdo 2	3	2	2	0	2	3	2	0	2	4	1	0	1	6	0	0	0
S46	Crepitação Grossa no Quadrante Esquerdo 3	1	3	0	3	5	1	1	0	2	3	1	1	0	4	2	1	0
S47	Crepitação Grossa no Quadrante Esquerdo 4	1	4	0	2	4	0	2	1	2	4	0	1	3	2	2	0	0
S48	Sibilo no Quadrante Direito 1	6	1	0	0	7	0	0	0	6	0	1	0	6	1	0	0	0
S49	Sibilo no Quadrante Direito 2	7	0	0	0	6	1	0	0	5	1	1	0	7	0	0	0	0
S50	Sibilo no Quadrante Direito 3	6	1	0	0	7	0	0	0	7	0	0	0	6	1	0	0	0
S51	Sibilo no Quadrante Esquerdo 1	7	0	0	0	7	0	0	0	6	1	0	0	7	0	0	0	0
S52	Sibilo no Quadrante Esquerdo 2	7	0	0	0	7	0	0	0	6	1	0	0	7	0	0	0	0
S53	Sibilo no Quadrante Esquerdo 3	7	0	0	0	7	0	0	0	6	1	0	0	7	0	0	0	0
S54	Sibilo no Quadrante Esquerdo 4	7	0	0	0	7	0	0	0	6	1	0	0	7	0	0	0	0
S55	Roce Pleural no Quadrante Direito 3	7	0	0	0	6	1	0	0	7	0	0	0	7	0	0	0	0
S56	Propagação dos Batimentos Cardíacos no Quadrante Direito 1	4	1	2	0	3	4	0	0	5	2	0	0	3	2	2	0	0
S57	Propagação dos Batimentos Cardíacos no Quadrante Direito 2	7	0	0	0	5	2	0	0	6	1	0	0	3	2	2	0	0
S58	Propagação dos Batimentos Cardíacos no Quadrante Direito 3	4	1	2	0	2	5	0	0	5	2	0	0	4	2	1	0	0

Continua

ANEXOS 3. Distribuição de frequência dos escores de intensidade para os 83 sinais clínicos diagnosticados às 12, 24, 48 e 72 horas após a indução da Manheimiose Pneumônica Bovina com cepa D153 de *M. haemolytica* A1, respectivamente, nos bezerros dos grupos GI a GIV.

Nº.	SINAIS CLÍNICOS	ESCORE *															
		GI- 12h (n = 7)			GII -24 h (n = 7)			GIII - 48 h (n = 7)			GIV - 72 h (n = 7)						
		e0	e1	e2	e3	e0	e1	e2	e3	e0	e1	e2	e3	e0	e1	e2	e3
S59	Propagação dos Batimentos Cardíacos no Quadrante Direito 4	7	0	0	0	6	1	0	0	7	0	0	0	7	0	0	0
S60	Propagação dos Batimentos Cardíacos no Quadrante Esquerdo 1	4	0	3	0	3	2	2	0	3	3	1	0	2	3	2	0
S61	Propagação dos Batimentos Cardíacos no Quadrante Esquerdo 2	7	0	0	0	4	1	2	0	4	3	0	0	3	3	1	0
S62	Propagação dos Batimentos Cardíacos no Quadrante Esquerdo 3	4	0	2	1	2	2	3	0	3	3	1	0	2	3	2	0
S63	Propagação dos Batimentos Cardíacos no Quadrante Esquerdo 4	7	0	0	0	6	0	1	0	7	0	0	0	7	0	0	0
S64	Diminuição Relativa do Ruído Respiratório Traqueo-Brônquico no quadrante direito 3	6	1	0	0	6	0	1	0	4	3	0	0	3	3	1	0
S65	Diminuição Relativa do Ruído Respiratório Brônquio-Bronquiolar no quadrante direito 4	7	0	0	0	7	0	0	0	6	1	0	0	5	2	0	0
S66	Diminuição Relativa do Ruído Respiratório Traqueo-Brônquico no quadrante esquerdo 3	6	1	0	0	7	0	0	0	6	1	0	0	5	1	1	0
S67	Sub-macidez na extremidade do quadrante direito 3	6	1	0	0	4	2	1	0	3	4	0	0	4	2	1	0
S68	Sub-macidez na extremidade do quadrante direito 4	7	0	0	0	5	1	1	0	5	2	0	0	6	1	0	0
S69	Sub-macidez na extremidade do quadrante direito 3	6	1	0	0	6	1	0	0	6	1	0	0	5	2	0	0
S70	Sub-macidez na extremidade do quadrante direito 4	7	0	0	0	6	1	0	0	7	0	0	0	6	1	0	0
S71	Sensibilidade dolorosa no quadrante direito 1	6	0	1	0	6	0	1	0	5	2	0	0	6	0	1	0
S72	Sensibilidade dolorosa no quadrante direito 3	6	0	1	0	6	0	1	0	5	1	1	0	6	0	1	0

Continua

ANEXOS 3. Distribuição de frequência dos escores de intensidade para os 83 sinais clínicos diagnosticados às 12, 24, 48 e 72 horas após a indução da Manheimiose Pneumônica Bovina com cepa D153 de *M. haemolytica* A1, respectivamente, nos bezerros dos grupos GI a GIV.

Nº.	SINAIS CLÍNICOS	ESCORE *														Término						
		GI- 12h (n = 7)			GII -24 h (n = 7)			GIII - 48 h (n = 7)			GIV - 72 h (= 7)											
		e0	e1	e2	e3	e0	e1	e2	e3	e0	e1	e2	e3	e0	e1		e2	e3				
S73	Sensibilidade dolorosa no quadrante esquerdo 1	6	0	1	0	7	0	0	0	7	0	0	0	7	0	0	0	7	0	0	0	0
S74	Sensibilidade dolorosa no quadrante esquerdo 3	6	0	1	0	7	0	0	0	7	0	0	0	7	0	0	0	6	0	1	0	0
S75	Inspiração interrompida no quadrante direito 1	7	0	0	0	5	0	1	1	5	1	1	0	7	0	0	7	0	0	0	0	0
S76	Inspiração interrompida no quadrante direito 3	7	0	0	0	5	0	1	1	6	0	1	0	7	0	0	7	0	0	0	0	0
S77	Inspiração interrompida no quadrante direito 4	7	0	0	0	7	0	0	0	6	0	1	0	7	0	0	7	0	0	0	0	0
S78	Inspiração interrompida no quadrante esquerdo 1	7	0	0	0	5	2	0	0	5	2	0	0	7	0	0	7	0	0	0	0	0
S79	Inspiração interrompida no quadrante esquerdo 3	7	0	0	0	5	2	0	0	5	2	0	0	7	0	0	7	0	0	0	0	0
S80	Estridor expiratório do tipo ronco	7	0	0	0	6	0	1	0	5	1	0	1	4	1	4	1	2	0	0	0	0
S81	Aumento da Temperatura Corporal	0	2	4	1	1	2	4	0	1	2	4	0	1	1	3	2	0	0	0	0	0
S82	Aumento da Frequência Cardíaca	5	1	1	0	4	3	0	0	6	1	0	0	4	3	0	0	4	3	0	0	0
S83	Aumento da Frequência Respiratória	0	1	1	1	5	0	3	1	3	0	0	4	3	0	0	4	3	0	0	0	7

* Escore de sinais clínicos: e0, escore zero, ausência do sinal clínico; e1, escore um, presença do sinal clínico com intensidade leve; e2, escore dois, presença do sinal clínico com intensidade moderada; e e3, escore três, presença do sinal clínico com intensidade grave. 1, estação; e1, decúbito esternal, e2, decúbito lateral; e3, decúbito lateral em estado semi-comatoso

ANEXOS 4. Estatística descritiva do número de hemácias, concentração de hemoglobina, volume globular e contagem de leucócitos, metamielócitos, segmentados, linfócitos, monócitos, eosinófilos e basófilos obtidos sete dias antes da inoculação da cepa D153 de *M.haemolytica* A1, variação basal, às 12, 24, 48 e 72 horas após indução da Manheimiose Pneumonia Bovina, respectivamente, nos bezerros dos grupos GI a GIV.

Variáveis	GI (pré-sete dias)					GII (pré - sete dias)					GIII (pré- sete dias)					GIV (pré- sete dias)				
	Média*	DP ¹	Min. ²	Máx. ³	CV ⁴	Média	DP ¹	Min. ²	Máx. ³	CV ⁴	Média	DP ¹	Min. ²	Máx. ³	CV ⁴	Média	DP ¹	Min. ²	Máx. ³	CV ⁴
Hemácias (x 10 ⁶ /µl)	6,48	1,53	4,76	9,52	0,24	6,81	1,47	5,29	9,24	0,22	8,37	0,63	7,67	9,36	0,07	7,80	0,88	6,75	8,90	0,11
Hemoglobina (g/dl)	8,23	1,53	6,90	11,50	0,19	8,56	1,93	6,00	11,20	0,23	10,42	1,66	8,53	12,30	0,16	10,14	1,02	9,01	11,70	0,10
VG (%)	26,29	4,23	22,00	35,00	0,16	27,14	5,98	19,00	35,00	0,22	33,71	4,92	28,00	39,00	0,15	32,43	3,31	29,00	37,00	0,10
Leucócitos (x 10 ³ /µl)	10,15	2,77	6,57	14,30	0,27	10,28	2,33	6,75	13,40	0,23	8,89	2,59	6,06	13,50	0,29	11,90	1,54	9,71	14,10	0,13
Metamielócito (x 10 ³ /µl)	0,00	0,00	0,00	0,00	-	0,00	0,00	0,00	0,00	-	0,00	0,00	0,00	0,00	-	0,00	0,00	0,00	0,00	-
Bastonete (x 10 ³ /µl)	0,00	0,00	0,00	0,00	-	0,01	0,04	0,00	0,10	2,65	0,00	0,00	0,00	0,00	-	0,09	0,23	0,00	0,62	2,65
Segmentados (x 10 ³ /µl)	3,94	1,60	1,82	6,05	0,41	3,74	1,27	1,73	5,20	0,34	3,86	2,18	1,47	7,56	0,57	4,33	0,92	3,22	5,92	0,21
Linfócitos (x 10 ³ /µl)	5,52	2,23	3,35	9,75	0,40	6,14	1,91	2,84	8,04	0,31	4,52	1,21	2,97	5,98	0,27	6,86	1,71	3,61	8,80	0,25
Monócitos (x 10 ³ /µl)	0,59	0,51	0,00	1,43	0,86	0,36	0,25	0,00	0,67	0,69	0,53	0,38	0,11	1,23	0,72	0,60	0,49	0,11	1,65	0,81
Eosinófilos (x 10 ³ /µl)	0,07	0,16	0,00	0,43	2,17	0,01	0,03	0,00	0,09	2,65	0,00	0,00	0,00	0,00	-	0,00	0,00	0,00	0,00	-
Basófilos (x 10 ³ /µl)	0,02	0,05	0,00	0,14	2,65	0,00	0,00	0,00	0,00	-	0,00	0,00	0,00	0,00	-	0,02	0,05	0,00	0,14	2,65
Variáveis	GI (pós- 12 horas)					GII (pós- 24horas)					GIII (pós- 48 horas)					GIV (pós- 72horas)				
	Média*	DP ¹	Min. ²	Máx. ³	CV ⁴	Média	DP ¹	Min. ²	Máx. ³	CV ⁴	Média	DP ¹	Min. ²	Máx. ³	CV ⁴	Média	DP ¹	Min. ²	Máx. ³	CV ⁴
Hemácias (x 10 ⁶ /µl)	8,38	2,92	5,90	14,60	0,35	7,37	1,19	5,76	9,02	0,16	8,02	0,98	6,84	9,51	0,12	8,29	0,98	6,80	9,64	0,12
Hemoglobina (g/dl)	10,09	4,94	5,40	20,80	0,49	8,81	1,47	6,51	10,20	0,17	9,84	1,87	7,25	12,20	0,19	10,27	0,61	9,30	11,00	0,06
VG (%)	35,14	15,48	26,00	70,00	0,44	28,43	4,12	22,00	33,00	0,14	32,43	6,43	25,00	41,00	0,20	32,57	1,40	31,00	35,00	0,04
Leucócitos (x 10 ³ /µl)	29,27	10,94	18,10	50,20	0,37	22,70	9,27	10,20	35,60	0,41	16,75	8,18	8,30	32,30	0,49	14,51	8,82	5,92	32,00	0,61
Metamielócito (x 10 ³ /µl)	0,14	0,25	0,00	0,51	1,71	0,00	0,00	0,00	0,00	-	0,00	0,00	0,00	0,00	-	0,00	0,00	0,00	0,00	-
Bastonete (x 10 ³ /µl)	1,30	1,27	0,18	3,80	0,97	0,32	0,40	0,00	0,87	1,27	0,05	0,12	0,00	0,32	2,65	0,05	0,12	0,00	0,32	2,20
Segmentados (x 10 ³ /ml)	18,94	10,32	9,87	41,16	0,54	14,53	7,52	4,39	26,34	0,52	8,81	6,25	1,41	21,00	0,71	7,54	6,37	2,66	20,48	0,85
Linfócitos (x 10 ³ /µl)	8,05	5,45	3,44	19,91	0,68	6,91	2,21	4,16	10,12	0,32	7,00	1,82	3,81	9,37	0,26	6,28	2,61	2,90	9,60	0,42
Monócitos (x 10 ³ /µl)	0,83	1,47	0,00	4,05	1,77	0,94	1,00	0,21	3,09	1,06	0,82	0,41	0,17	1,29	0,50	0,59	0,61	0,00	1,60	1,04
Eosinófilos (x 10 ³ /µl)	0,00	0,00	0,00	0,00	-	0,00	0,00	0,00	0,00	-	0,07	0,13	0,00	0,32	1,82	0,05	0,12	0,00	0,32	2,65
Basófilos (x 10 ³ /µl)	0,00	0,00	0,00	0,00	-	0,00	0,00	0,00	0,00	-	0,00	0,00	0,00	0,00	-	0,00	0,00	0,00	0,00	-

*Foram utilizados sete bezerros em cada grupo, GI a GIV; ¹, DP, Desvio Padrão; ², Min, Mínimo; ³, Máx, Máximo; ⁴, CV, Coeficiente de Variação.

ANEXOS 5. Frequência de isolamento de cada agente bacteriano nos swabs nasal (SN) e nasofaríngeo (SNF) antes da inoculação da cepa D153 de *M. haemolytica* A1, flora normal, e às 12, 24, 48 e 72 horas após a indução da MPB, respectivamente, nos bezerros dos grupos GI a GIV.

AGENTE	GI * (12h)		GII * (24h)		GIII * (48h)		GIV * (72h)									
	PRÉ	PÓS	PRÉ	PÓS	PRÉ	PÓS	PRÉ	PÓS								
	SN	SNF	SN	SNF	SN	SNF	SN	SNF								
<i>Arcanobacterium pyogenes</i>	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	
<i>Bacillus</i> spp.	6	3	4	1	3	3	3	2	6	3	2	2	2	3	3	2
<i>E. coli</i>	2	2	1	1	0	0	0	0	2	2	0	1	2	3	2	1
<i>Enterobacter agglomerans</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
<i>Enterobacter cloacae</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0
<i>M. haemolytica</i> A	0	1	7	7	0	0	6	7	0	3	7	7	0	1	7	7
<i>Micrococcus</i> spp.	5	3	2	1	6	6	2	5	6	7	4	3	6	6	2	3
<i>Moraxella</i> spp.	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
<i>Neisseria</i> spp.	0	0	0	0	0	2	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>P. multocida</i>	2	2	2	3	2	2	2	5	2	2	4	4	2	2	2	2
<i>Proteus</i> spp.	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
<i>Staphylococcus</i> spp.	2	1	2	0	2	2	1	1	4	2	2	0	2	4	3	1
<i>Streptococcus</i> spp.	4	2	0	2	3	3	2	2	4	3	3	0	1	2	1	0

*, Utilizaram-se $n = 7$ bezerros para SN e SNF em todos grupos experimentais, GI a GIV.