

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA**

**INFLUÊNCIA DA VITAMINA E NA PROFILAXIA E TRATAMENTO DE
BRONCOPNEUMONIA EM BEZERROS**

ANA ELISA ARRUDA ROCHA

**Dissertação apresentada junto ao Programa de Pós-
Graduação em Medicina Veterinária para obtenção do
título de Mestre em Medicina Veterinária.**

Orientador: Prof. Dr. Roberto Calderon Gonçalves

**BOTUCATU - SP
Agosto 2006**

DEDICATÓRIA

*A Deus e aos meus pais, pela
oportunidade de desfrutar do maior
presente a mim concedido:
a vida.*



AGRADECIMENTOS

Ao **Prof. Dr. Roberto Calderon Gonçalves**, por ter acreditado no sucesso da realização deste trabalho, apoiando-me e aconselhando-me em todos os momentos.

À **FAPESP** – Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo, por ter cedido a Bolsa de Mestrado, garantindo assim minha permanência no estado de São Paulo, e pela aprovação do Projeto de Auxílio Pesquisa, que permitiu a compra de equipamentos para realização do experimento.

Aos produtores rurais das fazendas: **Campestre, Fidenza, Globo, Moura, Pinheiros, Santa Maria da Escaramuça, Santa Rosa e TMG**, que forneceram os bezerros utilizados neste experimento.

Aos colaboradores **Allflex, Avesul, BD, Bravet e Laborclin**, que forneceram instrumentos e materiais necessários para o desenvolvimento do projeto.

Aos **professores e residentes da Clínica de Grandes Animais**, pelo suporte constante durante o período experimental. **Aos funcionários da Clínica de Grandes Animais: Irineu, Marcão e Vado**, que me auxiliaram no manejo com os bezerros.

Aos **Laboratórios de Microbiologia, Patologia e Patologia Clínica Veterinária da FMVZ – UNESP – Botucatu** pelo espaço cedido, e aos **residentes, funcionários e professores** pelo auxílio na realização dos exames complementares.

À **minha família**, pela paciência e compreensão durante os meses em que estive longe de casa, e à **Minky** e ao **Buck**, pelo amor incondicional e companhia em um dos momentos mais difíceis da minha vida.

Ao meu pai, **Edson Francisco Ribas Rocha**, por ter me ensinado a amar e admirar os animais desde a minha infância, e por ter influenciado de maneira tão benéfica a escolha da minha profissão.

RESUMO

ROCHA, A.E. **Influência da vitamina E na profilaxia e tratamento de broncopneumonia em bezerros**. 2006. 93 f. Dissertação de Mestrado – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu.

Estudou-se a broncopneumonia de ocorrência natural em bezerros mantidos em bezerreiro coletivo, e a influência da administração intramuscular de acetato de DL- α -tocoferol na profilaxia e tratamento desta enfermidade. Foram avaliados 60 bezerros machos, com idade máxima de 10 dias, sorteados para comporem os grupos experimentais: **GSV** (grupo sem vitamina) e **GCV** (grupo com vitamina). A suplementação foi precedida por exame físico, colheita de sangue para hemograma, determinação de proteínas séricas e GGT, e lavado traqueobrônquico para exame citológico (D0). Os animais de ambos os grupos foram conduzidos ao bezerreiro coletivo, onde permaneceram até o 21º dia (D0 ao D21). Foram distribuídos aleatoriamente, 2 a 2, em baias individuais de 1,20m de largura por 2 m de comprimento. Independentemente do grupo experimental, os animais foram avaliados por exame físico diário e, na presença de sinais clínicos indicativos de broncopneumonia (DX), foram retirados do bezerreiro, avaliados por hemograma e citologia do lavado traqueobrônquico, e tratados com enrofloxacin. Durante o tratamento, o exame físico foi realizado diariamente, e os exames complementares, hemograma e citologia do lavado traqueobrônquico, repetidos uma semana após seu término (DY). Nos animais sadios, além do exame físico diário e dos exames complementares já realizados no D0, foram repetidos hemograma e citologia do lavado traqueobrônquico no último dia (D21) do experimento. Comparou-se a ocorrência de broncopneumonia e a evolução do tratamento nos dois grupos estudados. A suplementação com vitamina E não teve influência na profilaxia e no tratamento de broncopneumonia de bezerros.

Palavras-chave: bezerros, broncopneumonia, vitamina E, lavado traqueobrônquico, profilaxia.

ABSTRACT

ROCHA, A.E. **Influence of vitamin E on prophylaxis and treatment of bronchopneumonia in calves.** 2006. 93 f. Dissertação de Mestrado – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu.

Bronchopneumonia of natural occurrence in calf housed calves was studied, and the influence of intramuscular administration of DL- α -tocopherol acetate on prophylaxis and treatment of this disease. Sixty male calves, with maximum age of 10 days, were evaluated, drafted to compose the experimental groups: **GSV** (animals without supplementation) and **GCV** (animals with supplementation). Supplementation was preceded by physical examination, collection of blood samples for hemogram, total protein determination and GGT, and tracheobronchial wash for cytological examination (D0). The animals were taken to the calf housing, where they remained until 21st day (D0 to D21). They were distributed, 2 - 2, in individual pens of 1,20m of width for 2 m of length. Independently of the group, all animals were evaluated by physical examination daily and, in presence of indicative clinical signs of bronchopneumonia (DX), they were removed out of the calf housing, evaluated for hemogram and cytology of tracheobronchial wash, and treated with enrofloxacin. During the treatment, physical examination was carried through daily and the complementary examinations, hemogram and cytology of the tracheobronchial wash were repeated one week after its ending (DY). In healthy animals, beyond the daily physical examination and complementary examinations already done on D0, hemogram and cytology of tracheobronchial wash were repeated in the last day of the experiment (D21). Occurrence of bronchopneumonia and evolution of the treatment in both studied groups were compared. The supplementation with vitamin E did not have influence on bronchopneumonia prophylaxis or treatment.

Key words: calves, bronchopneumonia, vitamin E, tracheobronchial wash, prophylaxis.

SUMÁRIO

Lista de figuras.....	i
Lista de quadros e tabelas.....	iii
Lista de abreviaturas.....	vi
1. INTRODUÇÃO.....	17
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	19
2.1. Broncopneumonia.....	19
2.2. Hemograma.....	21
2.3. Citologia do lavado traqueobrônquico.....	22
2.4. Dosagem de GGT e proteínas totais séricas.....	24
2.5. Antibioticoterapia.....	25
2.6. Vitamina E.....	26
3. OBJETIVOS.....	29
3.1. Objetivo geral.....	29
3.2. Objetivos específicos.....	29
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	30
4.1. Animais.....	30
4.2. Identificação prévia.....	30
4.3. Desinfecção umbilical.....	31
4.4. Dosagem de GGT e proteínas totais séricas.....	31
4.5. Identificação Permanente.....	32
4.6. Pesagem.....	32
4.7. Vermifugação.....	32
4.8. Delineamento experimental.....	32
4.9. Suplementação com vitamina E.....	34
4.10. Sistema de Confinamento.....	35
4.11. Exame físico.....	36
4.12. Hemograma.....	37
4.13. Lavado traqueobrônquico.....	37
4.14. Citologia do lavado traqueobrônquico.....	39
4.15. Antibioticoterapia.....	42

4.16. Exame <i>post mortem</i>	42
4.17. Análise estatística.....	43
5. RESULTADOS.....	44
5.1. Dosagem de GGT e proteína total sérica.....	44
5.2. Exame físico.....	45
5.3. Hemograma.....	49
5.4. Lavado traqueobrônquico.....	59
5.5. Comparação entre os grupos experimentais GCV e GSV.....	66
6. DISCUSSÃO.....	74
6.1. Dosagem de GGT e proteína total sérica.....	74
6.2. Exame físico.....	75
6.3. Hemograma.....	77
6.4. Citologia do lavado traqueobrônquico.....	79
6.5. Comparação entre os grupos experimentais GCV e GSV.....	80
7. CONCLUSÃO.....	82
8. REFERÊNCIAS	83
APÊNDICE.....	95

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1.	Bezerros, ainda na fazenda de origem, sendo avaliados antes do transporte.....	30
FIGURA 2.	Colheita de sangue em tubos a vácuo para realização de exames de sangue.....	31
FIGURA 3.	Alimentação individual de bezerros com mamadeira.....	35
FIGURA 4.	Exame físico diário realizado nos bezerros, para detecção de sinais clínicos de broncopneumonia.....	36
FIGURA 5.	Material utilizado para lavado traqueobrônquico, por sondagem nasotraqueal.....	38
FIGURA 6.	Introdução da sonda Levine no meato nasal esquerdo.....	39
FIGURA 7.	Aspiração do lavado traqueobrônquico por sondagem nasotraqueal.....	39
FIGURA 8.	Lavado traqueobrônquico para realização de exames citológicos.....	40
FIGURA 9.	Lavado traqueobrônquico de bezerro sadio, com predomínio de macrófagos alveolares.....	41
FIGURA 10.	Lavado traqueobrônquico de bezerro acometido por broncopneumonia, apresentando grande quantidade de neutrófilos.....	41
FIGURA 11.	Necropsia de bezerro com diagnóstico de broncopneumonia grave.....	42
FIGURA 12.	Valor médio e desvio padrão de fibrinogênio nos grupos GCV e GSV, nos momentos D0, DX, DY e D21.....	56
FIGURA 13.	Valor médio e desvio padrão de leucócitos totais nos grupos GCV e GSV, nos momentos D0, DX, DY e D21.....	56
FIGURA 14.	Percentual médio e desvio padrão de neutrófilos segmentados nos grupos GCV e GSV, nos momentos D0, DX, DY e D21.....	57
FIGURA 15.	Percentual médio e desvio padrão de linfócitos nos grupos GCV e GSV, nos momentos D0, DX, DY e D21.....	57

FIGURA 16.	Percentuais médios e desvio padrão de monócitos, observados nos grupos GCV e GSV, nos momentos D0, DX, DY e D21.....	58
FIGURA 17.	Percentuais médios e desvio padrão de células epiteliais do lavado traqueobrônquico, nos grupos GCV e GSV, nos momentos D0, DX, DY e D21.....	64
FIGURA 18.	Percentuais médios e desvio padrão de macrófagos alveolares do lavado traqueobrônquico, nos grupos GCV e GSV, nos momentos D0, DX, DY e D21.....	64
FIGURA 19.	Percentuais médios e desvio padrão de neutrófilos do lavado traqueobrônquico, nos grupos GCV e GSV, nos momentos D0, DX, DY e D21.....	65
FIGURA 20.	Percentuais médios e desvio padrão de linfócitos do lavado traqueobrônquico, nos grupos GCV e GSV, nos momentos D0, DX, DY e D21.....	65
FIGURA 21.	Incidência de animais com broncopneumonia nos grupos GCV e GSV, no momento DX.....	67
FIGURA 22.	Comparação dos grupos GSC e GCV em relação ao tempo (dias) que levam para adoecer.....	68
FIGURA 23.	Percentual de animais com broncopneumonia moderada e grave nos grupos GCV e GSV, no momento DX.....	69
FIGURA 24.	Comparação dos animais dos grupos GSV e GCV em relação à probabilidade de estarem vivos após o tratamento.....	70
FIGURA 25.	Percentual de recuperação de bezerros após o tratamento (DY), de acordo com a gravidade da broncopneumonia, nos grupos GCV e GSV.....	72

LISTA DE QUADROS E TABELAS

QUADRO 1.	Atividades realizadas durante o período experimental, em bezerros sadios ou doentes, suplementados ou não com vitamina E.....	34
TABELA 1.	Descrição de média, mediana, desvio padrão e valor de p para as variáveis GGT, proteína total sérica, albumina e globulinas, nos animais dos grupos GCV e GSV no momento D0.	44
TABELA 2.	Freqüências e percentuais de presença de sinais clínicos de broncopneumonia nos grupos GCV e GSV, nos momentos D0, DX, DY e D21, independentemente da gravidade da doença.	46
TABELA 3.	Freqüências e percentuais de sinais clínicos observados nos animais com broncopneumonia moderada nos grupos GCV e GSV, no momento DX.	47
TABELA 4.	Freqüências e percentuais de sinais clínicos observados nos animais com broncopneumonia grave nos grupos GCV e GSV, no momento DX.	48
TABELA 5.	Valor médio, percentual médio, desvio padrão e valor de p das variáveis do hemograma nos grupos GCV e GSV no momento D0.....	50
TABELA 6.	Valor médio, percentual médio, desvio padrão e valor de p das variáveis do hemograma nos grupos GCV e GSV no momento DX.....	51
TABELA 7.	Valor médio, percentual médio, desvio padrão e valor de p das variáveis do hemograma, em animais dos grupos GCV e GSV com broncopneumonia moderada, no momento DX.....	52
TABELA 8.	Valor médio, percentual médio, desvio padrão e valor de p das variáveis do hemograma, em animais dos grupos GCV e GSV com broncopneumonia grave, no momento DX.....	53

TABELA 9.	Valor médio, percentual médio, desvio padrão e valor de p das variáveis do hemograma nos grupos GCV e GSV no momento DY.....	54
TABELA 10.	Valor médio, percentual médio, desvio padrão e valor de p das variáveis do hemograma nos grupos GCV e GSV no momento D21.....	55
TABELA 11.	Percentuais médios de células do lavado traqueobrônquico de bezerros nos momentos D0, DX e DY.	60
TABELA 12.	Percentuais médios de células do lavado traqueobrônquico de bezerros, de acordo com a idade dos animais no momento D0.....	60
TABELA 13.	Percentuais médios, desvio padrão e valor de p de células do lavado traqueobrônquico, nos grupos GCV e GSV, no momento D0.....	61
TABELA 14.	Percentuais médios, desvio padrão e valor de p de células do lavado traqueobrônquico, nos grupos GCV e GSV, no momento DX.....	61
TABELA 15.	Percentuais médios, desvio padrão e valor de p de células do lavado traqueobrônquico, nos animais com broncopneumonia moderada dos grupos GCV e GSV, no momento DX.....	62
TABELA 16.	Percentuais médios, desvio padrão e valor de p de células do lavado traqueobrônquico, nos animais com broncopneumonia grave dos grupos GCV e GSV, no momento DX.....	62
TABELA 17.	Percentuais médios, desvio padrão e valor de p de células do lavado traqueobrônquico, nos grupos GCV e GSV, no momento DY.....	63
TABELA 18.	Percentuais médios, desvio padrão e valor de p de células do lavado traqueobrônquico, nos grupos GCV e GSV, no momento D21.....	63
TABELA 19.	Freqüências e percentuais de animais doentes nos grupos GCV e GSV, no momento DX.....	67
TABELA 20.	Comparação dos grupos GSC e GCV em relação ao tempo (dias) para adoecer.....	68

TABELA 21.	Freqüências e percentuais de BCP moderada e grave nos grupos GCV e GSV no momento DX.....	69
TABELA 22.	Freqüências e percentuais de animais vivos e mortos, uma semana após o término do tratamento de broncopneumonia (DY) nos grupos GCV E GSV.....	70
TABELA 23.	Freqüências e percentuais de animais vivos e mortos, acometidos por broncopneumonia moderada, nos grupos GCV E GSV.....	71
TABELA 24.	Freqüências e percentuais de animais vivos e mortos, acometidos por broncopneumonia grave, nos grupos GCV E GSV.....	71
TABELA 25.	Freqüência e percentual de animais recuperados de broncopneumonia moderada e grave, nos grupos GCV e GSV, no momento DY.....	72
TABELA 26.	Freqüência e percentual de óbitos em animais acometidos por broncopneumonia moderada e grave nos grupos GCV E GSV.	73
TABELA 27.	Comparação dos grupos GSC e GCV em relação ao tempo (dias) que levam para morrer.....	73
TABELA 28.	Comparação dos grupos GCV E GSV em relação à causa <i>mortis</i> dos bezerros acometidos por broncopneumonia.	73

LISTA DE ABREVIATURAS

AS - área de silêncio
B - bastonete
BS - basófilo
CE - célula epitelial
CF - crepitação fina
CG - crepitação grossa
CHCM - concentração de hemoglobina corpuscular média
CHE - choque endotoxêmico
D0 - data inicial do experimento
D21 - data final do experimento
DM - dispnéia mista
DX - data do diagnóstico de broncopneumonia
DY- Sétimo dia após o término do tratamento de broncopneumonia
DZ - data de óbito dos bezerros
E - eosinófilo
EO - eosinófilo de lavado traqueobronquico().
FC↑ - aumento de frequência cardíaca
FIB - fibrinogênio
FR↑ - aumento da frequência respiratória
FTO - frêmito torácico
FTR - frêmito traqueal
GCV - grupo de animais que receberam suplementação de vitamina E
GGT - gama glutamil-transferase
GSV - grupo de animais que não receberam suplementação de vitamina E
HEM - hemácias
HGM - hemoglobina
II - inspiração interrompida
IR - insuficiência respiratória
LCT - leucócitos totais
LFT - linfócito de lavado traqueobronquico

LIN - linfócito
LTB - lavado traqueobrônquico
M - macicez
MA - macrófago alveolar
MI - mielócito
MO - monócito
MT - metamielócito
NE - neutrófilo de lavado traqueobrônquico
OEF - odor expiratório fétido
PLAQ - plaquetas
PTS - proteína total sérica
RBB↑ - ruído bronco-bronquiolar rude
RO - ronco
RP - roce pleural
RT↑ - reflexo de tosse exacerbado
RTB↑ - aumento de ruído traqueobrônquico
S - neutrófilo segmentado
SI - sibilo
SM - submacicez
SN - secreção nasal
T↑ - hipertermia
TO - tosse
UI - unidade internacional
VCM - volume corpuscular médio
VG - volume globular

1. INTRODUÇÃO

O sistema imunológico do neonato bovino, embora desenvolvido ao nascimento, responde de maneira pouco eficaz às agressões do meio ambiente (GORMAN & HALLIWELL, 1989; TIZZARD, 1998). Concomitantemente, esta espécie apresenta particularidades anatômicas e fisiológicas no trato respiratório que a torna especialmente sensível às doenças pulmonares (VEIT & FARREL, 1978; LEKEUX et. al., 1984). Os microorganismos patogênicos podem atingir os pulmões principalmente pelos brônquios e pela corrente sangüínea (JONES, 1997).

A broncopneumonia de bezerros é uma doença de causa multifatorial, que requer a combinação ativa de um ou mais agentes infecciosos e do meio ambiente com o hospedeiro para que possa se desenvolver. Comumente os animais susceptíveis sofreram falha na transferência passiva de imunoglobulinas ou foram expostos a situações de estresse contínuo.

A broncopneumonia é apontada como uma das principais causas de óbito em animais com falha na transferência passiva de imunidade (WILLIAMS et al., 1975; DAVIDSON et al., 1981; BORGES, 1997), e responsável por grandes perdas econômicas em bezerros confinados (SMITH, 2002). O estresse causado pelo transporte de animais, das fazendas de cria para os confinamentos de engorda, eleva as concentrações séricas de biomarcadores de estresse oxidativo, que são relacionados com episódios de doença respiratória bovina e mortalidade em bezerros (CHIRASE et al., 2004). Durante o processo inflamatório que ocorre nos casos de broncopneumonia, as células de defesa liberam enzimas e substâncias tóxicas como os radicais livres, que lesam os tecidos adjacentes, como vasos e capilares sangüíneos (LEDWOZYW & STOLARCZYK, 1991a e b). As lesões pulmonares interferem negativamente no desenvolvimento dos bezerros, reduzindo o rendimento e a qualidade de carcaça dos animais, comprometendo a produção futura (GRIFFIN, 1985). A redução no ganho de peso diário decorre da redução do consumo de alimentos. Animais tratados gastam 23% menos tempo se alimentando e deslocam-se menos em direção aos cochos (STOVALL et al., 1999).

Diversos estudos mencionam o efeito antioxidante da vitamina E, na forma de acetato de DL- α -tocoferol, correlacionado com o seu potencial de prevenção de

moléstias degenerativas, revertendo ou prevenindo deficiências específicas (MACHLIN, 1991). Protege contra a destruição das vitaminas A e C, selênio, aminoácidos sulfurados, mantém a atividade de certas enzimas e melhora o sistema imune, além de auxiliar nos processos de cicatrização. Nenhum outro antioxidante pode substituir todas as funções da vitamina E e, como esta raramente apresenta efeitos tóxicos, não há razão para experimentar a troca do fornecimento desta vitamina por outro antioxidante (RICE & KENNEDY, 1988).

As perdas econômicas decorrentes da broncopneumonia se dão de forma cumulativa, pelos custos com tratamento, redução da produção e perdas por mortes, devendo-se, portanto, realizar a profilaxia desde a fase de bezerros (STOVALL et al., 2000). Neste estudo buscou-se uma alternativa para profilaxia e tratamento de broncopneumonia em bezerros que fosse economicamente viável, capaz de melhorar o sistema imune e minimizar as lesões teciduais, permitindo um retorno mais rápido do animal à sua homeostase. Pela certificação dos benefícios da suplementação com vitamina E nas diferentes espécies animais, tornou-se interessante avaliar sua influência na broncopneumonia de bezerros.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Broncopneumonia

A broncopneumonia pode ser causada por bactérias, vírus, fungos, parasitas, clamídias, micoplasmas e, em determinadas condições, por substâncias químicas irritantes e agentes físicos, que danificam a superfície do epitélio que recobre as vias aéreas anteriores, comprometendo o mecanismo de limpeza muco-ciliar (SMITH, 2002), permitindo a colonização do trato respiratório por patógenos em animais imunossuprimidos. É apontada como uma das principais causas de óbito em animais com falha na transferência passiva de imunidade (WILLIAMS et al., 1975; DAVIDSON et al., 1981; BORGES, 1997).

Aproximadamente 50% dos tratamentos realizados em bezerros lactentes ou desmamados decorrem de doenças respiratórias (MAZZUCHELLI & RODRIGUEZ, 1995). Santra & Pachalag (1996) verificaram incidência de 24,63% de óbito em bezerros com até 90 dias de vida. De acordo com resultados obtidos por Gardner et al. (1998), são responsáveis por 75% da morbidade, 50% da mortalidade e até 90% de todos os tratamentos realizados durante as primeiras cinco semanas de confinamento. Andrews & Read (1983) observaram que as doenças respiratórias representaram 51,2% dos casos de doença em bezerros até 3 meses de vida. No Brasil, verificou-se incidência de 12,7% de broncopneumonia em bezerros criados em regime extensivo na região de Araçatuba – SP (BARROS et al., 1966), 23,6% em bezerros examinados na região de Garanhuns - PE (RABELLO et al., 1996), e de 12,27% em bezerros na região de Botucatu – SP (GONÇALVES et al., 2000a). O risco de doenças respiratórias em bezerros lactentes é de 11% quando detectadas pelos produtores, e de 25,6% quando diagnosticada por veterinário (VIRTALA et al., 1996), indicando a importância da técnica apurada de diagnóstico nestas enfermidades (GONÇALVES, 1997). Há mais de 70% de chance de que animais aparentemente saudáveis estejam ou tenham sido acometidos com algum tipo de pneumonia entre o nascimento e o abate, inclusive animais vacinados ou tratados com antibióticos (VIRTALA et al., 1996). Animais com infecção inaparente podem apresentar lesões pulmonares similares às aquelas observadas nos animais

cl clinicamente doentes (GARDNER et al., 1998). Os animais acometidos por broncopneumonia podem apresentar sinais clínicos variados, dependendo do tipo de agente envolvido no processo. Entretanto, sabe-se que processos inflamatórios e o comprometimento do parênquima pulmonar podem ocorrer independentemente do tipo ou do agente agressor (DIRKSEN et al., 1993; RADOSTITIS et al., 2000). Os sinais clínicos iniciais de broncopneumonia incluem anorexia, depressão, fraqueza, secreção ocular e nasal, tosse, taquipnéia e febre. Algumas infecções por vírus e micoplasmas provocam sintomatologia suave, mas podem ser complicadas por agentes bacterianos secundários, como *Mannheimia haemolytica*, *Pasteurella multocida* e *Haemophilus somnus*, que dificilmente colonizariam o trato respiratório inferior em condições normais (JONES, 1997). Embora as enterobactérias tenham sido consideradas contaminantes de pouca importância quando isoladas do trato respiratório de bovinos sadios (COLLIER & ROSSOW, 1964), já foram apontadas como agentes etiológicos comumente isolados em casos de broncopneumonia em bovinos jovens e adultos (PESAGRO, 1987; GONÇALVES, 1987; BARROS et al., 1994).

O diagnóstico de broncopneumonia pode ser feito pelo exame físico, associado ou não a exames auxiliares, como radiológico, ultra-sonográfico, endoscópico, histopatológico, citológico, microbiológico e imunológico. Quando realizado de maneira correta, torna-se insubstituível por quaisquer exames complementares (GONÇALVES & BARIONI, 2000b). A presença de sinais clínicos relacionados às vias aéreas posteriores e parênquima pulmonar (BREEZE, 1985), isolados ou em associação, podem confirmar o diagnóstico (WILSON & LOFSTEDT, 1990; ANDREWS, 1992; STOBBER, 1993; RADOSTITIS et al., 1995; REBHUN et al., 2000; GONÇALVES, 1997) e caracterizar a intensidade moderada e grave das broncopneumonias em bovinos (GONÇALVES et al., 2001). Tosse, reflexo de tosse exacerbado, hipertermia, taquicardia, ruído traqueobrônquico aumentado, ruído broncobronquiolar rude e inspiração interrompida são sinais clínicos que não diferenciam a gravidade do quadro clínico. Dispnéia mista, submacicez, macicez, área de silêncio, crepitação grossa, roncos e sibilos podem definir a gravidade de broncopneumonia (CURRLE, 1985; GONÇALVES, 1997) observou).

Entretanto, para alguns autores, somente a realização do exame físico não é suficiente para determinar a intensidade das lesões pulmonares em bezerras portadores de broncopneumonia (VESTWEBER et al., 1977; RABELING et al., 1998).

Autores como Wilson (1992) e Rebhun et al. (1995) chegaram a encarar a interpretação do exame físico como arte. A realização de exames complementares pode ser útil não apenas para confirmação diagnóstica da broncopneumonia, mas também para orientação em sua abordagem terapêutica, conforme a gravidade do quadro clínico.

2.2 Hemograma

O hemograma é um importante método auxiliar de diagnóstico de broncopneumonia, que pode indicar a gravidade do processo inflamatório no momento da colheita da amostra e, em alguns casos, inferir os tipos de agentes etiológicos responsáveis pela doença. Entretanto, devem-se considerar algumas particularidades na interpretação deste exame na espécie bovina, principalmente nos bezerros, devido às variações celulares observadas nestes animais no período neonatal.

A contagem de leucócitos do sangue de bovinos nos estágios iniciais do processo inflamatório nem sempre reflete a gravidade do processo. Em bezerros neonatos, observa-se maior proporção de neutrófilos, que tende a cair com o avançar da idade, apresentando menor proporção aos 15 dias de vida. O inverso ocorre em relação aos linfócitos, que se são encontrados em baixas proporções ao nascimento, e se elevam aos 15 dias de vida (COSTA, 2001). Em bovinos jovens e adultos sadios, os linfócitos excedem os neutrófilos, porém decrescem em resposta à liberação de corticóides induzida por estresse. O número de eosinófilos também diminui. Neutrófilos e monócitos deixam a circulação para participar do desenvolvimento do processo inflamatório (JAIN, 1993).

Embora os neutrófilos maduros do *pool* medular entrem na circulação, eles também são atraídos para o sítio de lesão. A resposta neutrofílica aos corticóides é mascarada pela rápida migração de neutrófilos para a lesão inflamatória, levando a leucopenia. Em bovinos, a leucopenia transitória com desvio à esquerda é a resposta inicial a uma doença inflamatória severa. Como ocorre depleção na reserva medular de neutrófilos maduros, células imaturas entram na circulação nas primeiras 24-48 horas, resultando em desvio degenerativo à esquerda. Com a cronificação do processo, o desvio degenerativo dá lugar ao desvio à esquerda regenerativo. O

número de monócitos também se encontra aumentado, e observa-se leucocitose acentuada. A persistência de leucopenia além do 3° ou 4° dias indica inadequação da granulopoiese para atender a demanda de neutrófilos (JAIN, 1993).

Em determinadas infecções crônicas, condições inflamatórias não-infecciosas e em alguns tipos de neoplasias pode-se observar uma anemia normocítica, normocrômica e não-responsiva denominada anemia da doença crônica ou anemia da doença inflamatória. Os agentes infecciosos dificilmente são os causadores diretos da anemia (STOCKHAM, 2000). O grau de anemia varia de acordo com a natureza do processo infeccioso, mas normalmente é moderada a branda, e inicia-se em 3 a 10 dias do início do processo, causando redução no volume globular e na concentração de hemoglobina (WANER & HARRUS, 2000).

As concentrações aumentadas das proteínas de fase aguda em ruminantes são indicadores mais sensíveis de inflamação aguda ou crônica do que alterações na contagem de leucócitos (SMITH, 1993; TAYLOR, 2000). A concentração de fibrinogênio encontra-se elevada nas doenças inflamatórias. Pode aumentar com inflamação leve a moderada, não associada à leucocitose e neutrofilia. É um indicador extremamente útil de inflamação em bovinos, espécie que possui maior capacidade de produzir fibrinogênio em resposta à enfermidade, comparativamente às demais espécies. Embora não significativas do ponto de vista estatístico, Wittum et al. (1996) relataram elevação na concentração de fibrinogênio em bovinos jovens com lesões pulmonares graves.

Os valores fisiológicos do hemograma para bezerros até trinta dias de vida são: eritrócitos totais ($6,3$ a $8,9 \times 10^6 / \mu\text{L}$), hemoglobina ($9,5$ a $11,7$ g/dL), volume globular (29 a 39%), VCM (39 a 52%), CHCM (29 a 33%), leucócitos totais (7.200 a 15.000/ μL), neutrófilos bastonetes (0 a 134/ μL), neutrófilos segmentados (2.790 a 7.190/ μL), eosinófilos (0 a 415/ μL), basófilos (0/ μL), linfócitos (3.008 a 7.744/ μL), monócitos (163 a 925/ μL) (PEIXOTO et. al., 2002).

2.3. Citologia do Lavado Traqueobrônquico

O lavado traqueobrônquico, além de permitir a avaliação citológica das secreções traqueobrônquicas e das estruturas associadas, pode fornecer outras

informações úteis sobre as doenças do trato respiratório (GONÇALVES, 1997), a partir de avaliações imunológicas e microbiológicas.

Vários métodos foram desenvolvidos para a colheita de material, para estudo citológico e bacteriológico das vias aéreas inferiores em animais, como aspiração ou lavagem traqueal por traqueocentese (MANSMANN & KNIGHT, 1972), lavagem traqueobrônquica por traqueocentese (GONÇALVES et al., 1990), lavagem buco-traqueal (LE JAN et al., 1980), lavagem bronco-alveolar às cegas (FOGARTY et al., 1983; LAY, 1986; ALLEN et al., 1992), lavagem bronco-alveolar por endoscopia (PRINGLE, 1988; KOIVUNEN et al., 1996) e lavado traqueobrônquico por sondagem naso-traqueal (CRISMAN et al., 1992). O líquido do lavado deve ser rico em células, e representativo das regiões mais profundas dos pulmões (ZINKL, 1992). No momento da colheita, deve-se estimular a tosse dos animais para que haja eliminação de células das vias respiratórias mais profundas (REBAR et al., 1992). A presença de macrófagos alveolares no lavado confirma a representação das porções mais profundas do trato respiratório (ROSZEL et al., 1986; DERKSEN et al., 1989). A lavagem pulmonar não é muito utilizada no estudo das doenças do trato respiratório em bezerros, embora seja uma técnica relativamente fácil e não traumática (CORSTVET et al., 1982). O lavado traqueobrônquico por sondagem naso-traqueal apresenta vantagens em relação aos demais, por ser de fácil execução e pouco dispendioso (GONÇALVES, 1990), além de possibilitar sua prática ao veterinário de campo e permitir um processamento mais fácil.

A constituição celular do lavado depende da técnica utilizada para realizar a colheita do material. Em estudos citológicos desenvolvidos em eqüinos, podem-se observar variações significativas nos resultados, sendo que este fato pode ser decorrente das diferentes técnicas utilizadas (SWEENEY et al., 1992). Na lavagem bronco-alveolar há predominância de macrófagos, com poucas células cilíndricas ciliadas, comparado ao resultado obtido por lavagem transtraqueal (MAIR et al., 1987; DERKSEN et al., 1989). Os macrófagos alveolares são as células predominantes no lavado traqueobrônquico de bovinos saudáveis, constituindo 50% a 90% do total de células (WILKIE, 1981; LIGGITT, 1985; KIMMAN et al., 1986; GONÇALVES, 1997). O acúmulo de neutrófilos no pulmão é parte de uma resposta inicial à inalação de algumas bactérias, toxinas bacterianas (WALKER et al., 1985) ou vírus (KIMMAN et al., 1986). Durante a fase aguda da infecção, espera-se que ocorra um aumento na porcentagem de neutrófilos, com diminuição na porcentagem

de macrófagos e linfócitos (ROSSIER et al., 1991; GONÇALVES, 1997). A presença de eosinófilos decorre normalmente de reações alérgicas a parasitas e fungos. Em bovinos sadios ou acometidos por problemas respiratórios, diversos autores confirmaram a ausência ou pequena proporção de eosinófilos no lavado traqueobrônquico (NAYLOR et al., 1992; LAPOINT et al., 1993). A variação em relação ao número total de células em lavados traqueobrônquicos ou bronco-alveolares é muito grande, devendo-se, portanto, ter cautela ao utilizar este dado na interpretação de casos clínicos (SWEENEY & SMITH, 1990; GONÇALVES, 1997). O lavado traqueobrônquico pode ser usado para auxiliar na classificação da gravidade da broncopneumonia em bezerros com bastante eficiência (GONÇALVES, 1997).

2.4. Dosagem de GGT e Proteínas Totais Séricas

A placenta sinepitélío-corial de ruminantes (WOODING, 1992; RIDDERSTRÄLE et al., 1997) impede a passagem de anticorpos da circulação materna para fetal, fazendo com que os bezerros nasçam com níveis insignificantes de imunoglobulinas no soro (MCCOY et al., 1970). A ingestão de colostro é considerada como uma das mais importantes recomendações do período neonatal, já que fornece energia, proteína e outros constituintes essenciais ao recém-nascido (ANDREWS & LYONS, 1990). Além do momento em que o colostro é ingerido, o nível de imunidade passiva colostrar obtido é dependente, de sua qualidade, de seu volume e da forma de sua administração (BESSER et al., 1991). A qualidade do colostro está diretamente relacionada à concentração de imunoglobulinas presentes na sua composição, fato que dependerá da idade, concentração de anticorpos séricos e do estado nutricional materno (LANGHOLZ et al., 1987).

A falha na transferência passiva de imunidade é responsável por elevados índices de morbidade e mortalidade de bezerros neonatos (RIBEIRO et al., 1983; WITTUM & PERINO, 1995; SANDERSON & DARGATZ, 2000). Os bezerros podem sofrer falha na ingestão de colostro quando ocorre a rejeição do bezerro pela vaca, por incapacidade do neonato em mamar, ou pela quantidade e qualidade inadequadas do colostro ingerido (MCGUIRE e ADAMS, 1982; WHITE, 1993).

A γ -glutamyl-transferase (GGT) é uma enzima hepática usada como indicador do *status* de transferência passiva de imunidade em bezerros. A GGT do colostro é

absorvida junto com outras macromoléculas durante o período em que a mucosa intestinal está permeável. O pico da atividade da GGT ocorre entre 24 e 48 horas após o nascimento. Borges (1997) obteve resultados entre 400 e 680 UI/L em bezerros que ingeriram colostro nos três primeiros dias de vida. A concentração de GGT superior a 300UI/L indica que o bezerro ingeriu o colostro (OGILVIE, 2000). Concentrações séricas de GGT inferiores a 200UI/L indicam falha na transferência passiva de imunoglobulinas (PERINO et al., 1993).

A dosagem de proteínas séricas ou plasmáticas totais é um método de avaliação indireta de ingestão de imunoglobulinas. Existe alta correlação entre teor de proteína sérica e valor de IgG (SELIM et al., 1995). Bezerros com proteína sérica inferior a 5,0 g/dL não tiveram adequada transferência passiva de imunoglobulinas (SMITH, 1993; OGILVIE, 2000). Segundo Perino et al. (1993), bezerros que apresentaram valor de proteína total sérica inferior a 4,2 g/dl provavelmente sofreram falha na transferência passiva de imunidade. A dosagem de proteína total nestes animais demonstrou sensibilidade e especificidade de respectivamente 80 e 100%. Para se estabelecer a taxa sérica limite de proteína total indicadora da falência de transferência passiva de imunidade, Rea et al. (1996), analisaram 246 bezerras logo após o nascimento, que foram acompanhadas clinicamente até o desmame. Concluíram que animais com valores de proteína sérica inferior a 4,5 g/dl após a ingestão de colostro apresentavam alto risco de mortalidade.

2.5. Antibioticoterapia

A antibioticoterapia em animais clinicamente acometidos por broncopneumonia é utilizada para controlar ou cessar a proliferação bacteriana, limitando ou evitando a liberação de fatores de virulência pelos microrganismos, como leucotoxinas e endotoxinas, responsáveis pela formação de trombos, edema exsudativo e necrose. Evita também maiores danos ao tecido pulmonar, minimizando os efeitos negativos causados pelas lesões desenvolvidas nos animais. Quando as lesões se encontram em estágios muito avançados, a ação dos agentes antimicrobianos é dificultada pelas áreas de necrose e supuração, e a resposta regenerativa dos tecidos fica comprometida (SMITH, 2002).

Em casos de infecção viral, a antibioticoterapia é utilizada como tratamento suporte, a fim de combater uma broncopneumonia bacteriana secundária. Os animais respondem, portanto, à antibioticoterapia, mesmo que a infecção primária tenha sido viral, pois na maioria das vezes já houve contaminação bacteriana do pulmão quando o veterinário é chamado (SCOTT, 1994).

A enrofloxacin pertence ao grupo das quinolonas de segunda geração, agentes microbianos bactericidas com amplo espectro de ação, baixa toxicidade e capazes de atingir excelentes concentrações no sangue e tecidos. A resistência bacteriana é relativamente rara (ANDRADE, 2002). Podem ser utilizadas contra bactérias Gram-positivas, Gram-negativas, micoplasmas (SCHEER, 1987) e clamídias. A dose terapêutica recomendada é de 2,5 a 5 mg/Kg, administrada pela via subcutânea ou intramuscular profunda, em intervalos de 24 horas, durante 5 a 7 dias. A antibioticoterapia com enrofloxacin é recomendada nos casos de broncopneumonia em bovinos, principalmente pela atividade bactericida contra *Pasteurella sp.* e micoplasmas, agentes comumente associados a esta enfermidade (LEKEUX, 1988).

2.6. Vitamina E

A vitamina E é um antioxidante por excelência. Predominante no organismo animal na forma de α -tocoferol, esta vitamina lipossolúvel essencial protege o organismo das moléculas tóxicas resultantes tanto do metabolismo normal quanto da contaminação externa. Atua como co-enzima na membrana celular, evitando a auto-oxidação dos lipídios das membranas biológicas (TAPPEL, 1962; INGOLD et al., 1987), principais alvos dos radicais livres. No plasma, o α -tocoferol é regulado pela *proteína hepática de transferência de α -tocoferol* (α -TTP), que é necessária para a transferência intracelular hepática da vitamina e sua incorporação às lipoproteínas de densidade muito baixa (VLDLs). O *status* nutricional de vitamina E é estimado pela sua concentração no plasma, com alta correlação entre os níveis plasmáticos e hepáticos de alfa-tocoferol. A atividade biológica das diversas formas da vitamina E independe de sua propriedade antioxidante; algumas formas da vitamina mostram elevada atividade antioxidante, mas também baixa atividade biológica. Por exemplo, α -tocotrienol tem um terço da atividade biológica do α -

tocoferol, porém com propriedade antioxidante equivalente (SUARNA et al., 1993) ou superior (SERBINOVA et al., 1993).

Enquanto a deficiência de vitamina E é capaz de suprimir a resposta imune humoral e celular (EICHER et al., 1994; HOGAN et al., 1990), afetando adversamente a imunidade nos homens e nos animais (MEYDANI & HAYEK, 1997), a suplementação com esta vitamina pode potencializar determinadas respostas imunes (RADOSTITIS et al., 2000) e provocar aumento na resistência às doenças (TIZZARD, 1998). Promove a proliferação de linfócitos B, sendo o efeito mais acentuado na resposta imune primária. A suplementação de 1400 UI de DL- α -tocoferol, uma vez por semana, por via intramuscular em bezerros estimulou linfócitos e foi capaz de reduzir os títulos de replicação viral (REDDY et al., 1986). A administração de 2000 UI de DL- α -tocoferol em novilhas aumentou os níveis de α -tocoferol no soro e também promoveu estimulação de linfócitos (REDDY et al., 1986). Em cabras, reduziu a incidência de metrite, retenção de placenta e mastite (LOPES, 2001). A suplementação com vitamina E em elevadas concentrações na dieta de bovinos estressados por transporte melhorou a eficiência alimentar e o ganho de peso diário, além de reduzir a morbidade dos animais nos primeiros 28 dias após a chegada ao novo ambiente (STOVALL et al., 1999). Acredita-se que a melhora na resposta imune decorra da redução na produção de corticóides (GOLUB e GERSHWIN, 1985; BREAZILE, 1988), que provocam alterações no metabolismo do ácido aracdônico e subsequente síntese de prostaglandinas, tromboxanos e leucotrienos. Em situações de estresse, o aumento no nível destes compostos pode comprometer severamente a função imune celular (HADEN, 1987). O transporte e demais fatores estressantes aos animais estão associados ao decréscimo de níveis plasmáticos de tocoferol. Mesmo quando a dieta contém os níveis mínimos de vitamina E requeridos, podem ser necessários mais de 68 dias para restabelecer os níveis iniciais de tocoferol no sangue (NRC, 1984). Os mecanismos de defesa dos animais podem ser incrementados com a suplementação de vitamina E acima dos níveis recomendados pelo Nutritional Research Council - NRC (PEIXOTO, 2000), entretanto há necessidade de se realizar novos estudos para determinar quando a elevação da concentração de tocoferol no plasma é responsável pelos benefícios na performance e saúde dos animais (HAN et al., 1999).

A concentração sérica de vitamina E, administrada na dose de 1.400 UI por via intramuscular, em intervalos semanais, durante 12 semanas, foi de 3,79 μ g/mL

(REDDY et al., 1985); em dose única de 2.000 UI, por via intramuscular, de 3,54 µg/mL após uma semana (REDDY et al., 1986), e de 4,21 µg/mL quando administrada em intervalos semanais, durante 8 semanas (COSTA et al., 1999). Hidioglou et al. (1988), administrando 4.500 UI de acetato de DL- α -tocoferol pela via intramuscular, observou concentração máxima no soro de 11,09 µg/mL decorridas 24 horas da aplicação, com declínio gradativo dos valores, chegando aos níveis próximos do obtido antes da aplicação (1,61 µg/mL) aos 27 dias pós-tratamento.

Por não atravessar a placenta de bovinos e ovinos em quantidades apreciáveis, a vitamina E é encontrada em baixas concentrações no soro de bezerros e cordeiros recém-nascidos (NOCKELS, 1991; NJERU et al., 1994). Os níveis de vitamina E no soro de bezerros decrescem aos 15 dias pós-parto (0,92 µg/mL), elevando-se aos 30 (0,97 µg/mL), 60 (1,07 µg/mL) e 90 dias de idade (1,86 µg/mL). A elevação aos 60 dias deve-se provavelmente à modificação da dieta. O valor máximo só é atingido aos 150 dias (3,10 µg/mL) (COSTA, 2001). Embora seja concentrada no colostro (VAN SAUN et al., 1989; NOCKELS, 1991), bezerros que não o mamam adequadamente tornam-se altamente susceptíveis à deficiência, (HIDIROGLOU et al., 1969; VAN SAUN et al., 1989) o que, nesta espécie, leva à diminuição da resistência a doenças e resposta imune fraca (NOCKELS, 1991).

Considerando que níveis séricos inferiores a 1,1 µg/mL podem desencadear sinais de deficiência (WELKER, 1999; RADOSTITIS et al., 2000), verificou-se a importância de realizar a suplementação em bezerros nos primeiros dias de vida (COSTA, 2001).

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo Geral

Avaliar a influência da suplementação de vitamina E, na forma de acetato de DL- α -tocoferol, em bezerros recém-nascidos, criados em condições ambientais de risco para broncopneumonia, na profilaxia, gravidade e tratamento desta enfermidade.

3.2. Objetivos Específicos

- ♦ Comparar a ocorrência de broncopneumonia em bezerros suplementados e não suplementados com vitamina E (acetato de DL- α -tocoferol);
- ♦ Comparar a incidência de broncopneumonia moderada e grave em bezerros suplementados e não suplementados com vitamina E (acetato de DL- α -tocoferol).
- ♦ Comparar a recuperação de bezerros portadores de broncopneumonia, suplementados e não suplementados com vitamina E (acetato de DL- α -tocoferol), após o término da antibioticoterapia.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Animais

Foram incluídos 60 bezerros recém-nascidos, machos e saudáveis, nascidos de parto normal, com idade máxima de 10 dias e que receberam colostro nas primeiras 12 horas pós-parto. Estes animais provieram de propriedades rurais da região de Botucatu (**Figura 1**) e foram transportados das fazendas de origem até o Hospital Veterinário da FMVZ-Unesp/Botucatu, onde foram submetidos à realização de exame físico, identificados, pesados e desverminados.



FIGURA 1. Bezerros, ainda na fazenda de origem, sendo avaliados antes do transporte.

4.2. Identificação Prévia

Os animais foram previamente identificados com medalhas plásticas, fixadas ao redor do pescoço, para realização de desinfecção umbilical, exame físico inicial e dosagem de GGT, proteínas totais séricas, albumina e globulinas. A identificação prévia foi realizada para que houvesse possibilidade de descarte de animais doentes ou com suspeita de falha na transferência passiva de imunidade.

4.3. Desinfecção Umbilical

Todos os animais foram submetidos à desinfecção umbilical com solução de iodo a 2%. Os animais foram contidos em decúbito lateral, para permitir melhor penetração do produto, deixado por 2 minutos dentro do cordão umbilical. O procedimento foi realizado uma vez ao dia, durante três dias.

4.4. Dosagem de GGT e Proteínas Totais Séricas

A colheita de sangue para determinação de GGT e das proteínas totais séricas, albumina e globulinas foi realizada com tubos de colheita a vácuo¹ (**Figura 2**). Os animais foram posicionados em decúbito lateral direito, realizando-se desinfecção local com álcool iodado e punção da veia jugular com agulha acoplada ao adaptador de tubos de colheita. Foram utilizados tubos a vácuo de 3 mL, com gel retrator de coágulo. As amostras foram centrifugadas, armazenadas em tubos de 1,5 mL e encaminhadas ao laboratório de Patologia Clínica Veterinária da FMVZ – UNESP – Botucatu. Os animais que apresentaram resultados indicativos de ingestão de colostro e adequada transferência de imunoglobulinas, conforme valores propostos por Perino et al. (1993), foram submetidos à identificação permanente.



FIGURA 2. Colheita de sangue em tubos a vácuo para realização de exames de sangue.

¹ Vacutainer® – BD.

4.5 Identificação Permanente

Para identificação dos bezerros foram utilizados brincos de poliuretano de cor amarela², com numeração vinda de fábrica. Os animais foram numerados conforme a ordem de coleta nas fazendas. Os brincos foram desinfetados em solução de álcool iodado, e fixados no aplicador de brincos. Os animais foram contidos em decúbito lateral direito, com a cabeça posicionada em direção à cauda. Realizou-se desinfecção auricular com solução de álcool iodado, seguida pela aplicação do brinco na orelha direita.

4.6. Pesagem

Para pesagem, os animais foram dispostos na mesma ordem em que foram apanhados nas fazendas. Foram contidos em decúbito esternal, e colocados sobre a plataforma da balança digital. Os pesos foram anotados em fichas de controle individuais.

4.7. Desverminação

Os animais foram colocados em estação, e desverminados com 200 mcg/Kg de ivermectina³, por via subcutânea, utilizando-se agulhas hipodérmicas descartáveis 30X8 e seringas descartáveis de 3 mL.

4.8. Delineamento Experimental

Foram constituídos dois grupos de trinta bezerros, distribuídos aleatoriamente por sorteio, na dependência de receberem ou não suplementação de vitamina E (acetato de DL- α -tocoferol)⁴, na dose de 4.500UI, por via intramuscular, em dose única.

² Allflex.

³ Ivomec® - Merial.

⁴ Monovin E – Bravet.

- ♦ **GSV:** (grupo sem vitamina) – 30 animais.
- ♦ **GCV** (grupo com vitamina) – 30 animais.

Independentemente do grupo experimental, todos os animais foram avaliados desde o primeiro dia (D0) por exame físico diário e, na presença de sinais clínicos indicativos de broncopneumonia (DX), foram imediatamente retirados do confinamento, avaliados por hemograma e citologia do lavado traqueobrônquico e tratados com antibiótico de amplo espectro. Durante o tratamento, o exame físico foi realizado diariamente e os exames complementares, hemograma e citologia do lavado traqueobrônquico, repetidos uma semana após seu término (DY). Nos animais não-portadores de broncopneumonia, além do exame físico diário e dos exames complementares já realizados no primeiro dia de experimento (D0), repetiu-se o hemograma e a citologia do lavado traqueobrônquico no último dia (D21) do experimento. Os animais que foram a óbito no decorrer do experimento (DZ) foram submetidos à necropsia.

O projeto foi examinado e aprovado pela Comissão de Ética em Experimentação Animal da FMVZ-Unesp/Botucatu, segundo parecer de número 022/2003, em 15 de abril de 2003. As atividades realizadas durante o período experimental estão relacionadas no **Quadro 1**.

QUADRO 1. Atividades realizadas durante o período experimental, em bezerros sadios ou doentes, suplementados ou não com vitamina E.

Atividade	Animais suplementados com vitamina E		Animais não suplementados com vitamina E	
	Sadios	Doentes	Sadios	Doentes
Exame Físico	D0 a D21	D0 a D21	D0 a D21	D0 a D21
Colheita de Soro	D0	D0	D0	D0
Dosagem de GGT	D0	D0	D0	D0
Dosagem de proteínas séricas	D0	D0	D0	D0
Identificação Permanente	D0	D0	D0	D0
Desinfecção umbilical	D0	D0	D0	D0
Vermifugação	D0	D0	D0	D0
Hemograma	D0/D21	D0/DX/DY	D0/D21	D0/DX/DY
Lavado traqueobrônquico (LTB)	D0/D21	D0/DX/DY	D0/D21	D0/DX/DY
Administração de vitamina E	D0	D0	—	—
Antibioticoterapia	—	DX + 4 dias	—	DX + 4 dias
Necropsia	—	DZ	—	DZ

D0: data inicial do experimento

D21: data final do experimento.

DX: data do diagnóstico de broncopneumonia.

DY: sétimo dia após o término da antibioticoterapia.

DZ: data de óbito.

4.9. Suplementação com Vitamina E

Os animais sorteados para receber suplementação foram contidos em estação; a vitamina E foi administrada por via intramuscular, em dose única equivalente a 4500 UI, com seringa plástica descartável de 5 mL e agulha descartável 40 X 12. A dose administrada foi baseada no estudo realizado por Hidiroglou et al. (1988).

4.10. Sistema de Confinamento

Os animais foram colocados em bezerreiro coletivo, medindo 3,50m de largura por 6,50m de comprimento e 3,40m de altura, com quatro janelas de ventilação de 3m² cada. Os animais foram distribuídos aleatoriamente, 2 a 2, em baias individuais de 1,20m de largura por 2,00m de comprimento. Dessa maneira, extrapolou-se a capacidade do bezerreiro, de seis para doze animais, condição de risco para broncopneumonia. Os animais foram mantidos em baias forradas com feno. As baias foram lavadas diariamente com mangueira de alta pressão, e desinfetadas com amônia quaternária semanalmente.

Os animais foram alimentados com colostro no primeiro dia, e leite *in natura* nos primeiros cinco dias de vida, sendo posteriormente adaptados com substituto lácteo para bezerros⁵. A adaptação foi realizada de forma gradual, incorporando 25%, 50%, 75% e 100% do substituto lácteo à dieta dos bezerros. O aleitamento foi realizado às sete horas da manhã e às quatro horas da tarde, sendo 2 litros de leite artificial em cada período, fornecido em mamadeiras (**Figura 3**). A quantidade de leite fornecida aumentava gradualmente, de acordo com a idade e peso do bezerro.

A ração inicial e o capim triturado foram oferecidos aos animais durante todo o período de confinamento. A água foi fornecida em baldes individuais, e trocada ao menos duas vezes ao dia.



FIGURA 3. Alimentação individual de bezerros com mamadeira.

⁵ Terneron® – Avesul.

4.11. Exame Físico

O exame físico foi realizado conforme descrito na ficha específica para esta finalidade (**Apêndice A**). Os sinais clínicos avaliados no exame físico foram: tosse (TO), secreção nasal (SN), dispnéia mista (DM), frêmito traqueal (FTR), frêmito torácico (FTO), reflexo de tosse exacerbado (RT↑), submacicez (SM), macicez (M), aumento de ruído traqueobrônquico (RTB↑), ruído broncobronquiolar rude (RBB↑), área de silêncio (AS), inspiração interrompida (II), crepitação grossa (CG), crepitação fina (CF), ronco (RO), sibilo (SI), roce pleural (RP), odor expiratório fétido (OEF), hipertermia (T↑), aumento de frequência cardíaca (FC↑) e aumento da frequência respiratória (FR↑).

A partir dos achados deste exame (**Figura 4**), diferenciaram-se animais sadios de portadores de broncopneumonia. Casos de broncopneumonia confirmados por exame físico, hemograma e citologia do lavado traqueobrônquico foram classificados em dois graus: broncopneumonia moderada e grave, de acordo com a presença e associação dos sinais clínicos proposta por Gonçalves (1997), e dos resultados dos exames laboratoriais.



FIGURA 4. Exame físico diário realizado nos bezerros, para detecção de sinais clínicos de broncopneumonia.

4.12. Hemograma

Para colheita de sangue foram utilizados tubos a vácuo com EDTA⁶, adaptador de tubos, agulhas e algodões embebidos em álcool iodado.

Os animais foram contidos em decúbito lateral direito. Realizou-se desinfecção local com álcool iodado, para punção da veia jugular. As agulhas foram acopladas aos adaptadores e introduzidas na veia, seguindo-se pelo acoplamento dos tubos no adaptador. Após a colheita, os tubos foram homogeneizados e encaminhados ao laboratório de Patologia Clínica Veterinária da FMVZ – UNESP – Botucatu. As amostras foram processadas conforme a rotina adotada no laboratório.

As variáveis avaliadas no hemograma foram: hemácias (HEM), hemoglobina (HGM), volume globular (VG), fibrinogênio (FIB), plaquetas (PLAQ), leucócitos totais (LCT), mielócitos (MI), metamielócitos (MT), bastonetes(B), neutrófilos segmentados (S), linfócitos (LIN), eosinófilos (E), basófilos (BS) e monócitos (MO).

4.13. Lavado Traqueobrônquico

Para realização dos lavados traqueobrônquicos foram utilizadas sondas Levine N°22⁷, sondas de polietileno de 100 cm de comprimento e 1,8 mm de diâmetro interno, seringas plásticas descartáveis de 60 mL⁸, agulhas descartáveis 40X12, luvas cirúrgicas estéreis N° 6.5, frascos de 250 mL de NaCl 0.9%, panos de campo estéreis 1 X 1m, compressas de pano 20 X 20cm, álcool iodado (**Figura 5**), cordas e cabrestos para contenção.

⁶ Vacutainer® - BD.

⁷ Levine n.22 –CPL.

⁸ BD



FIGURA 5. Material utilizado para lavado traqueobrônquico, por sondagem nasotraqueal.

Os animais foram colocados sobre mesa de madeira 2 X 1m, sobre um colchão revestido com tecido impermeável. Foram contidos com cordas atadas aos membros anteriores e posteriores, e fixadas nas extremidades da mesa. Os bezerros foram posicionados em decúbito lateral direito, com a cabeça colocada sobre pano de campo estéril. Tracionou-se a língua dos animais, firmando-as para fora da boca com compressa de pano. Realizou-se desinfecção do muflo com álcool iodado. As agulhas foram acopladas às seringas para aspiração de 40 mL de NaCl 0.9%, para realização de lavagem traqueobrônquica. Colocaram-se as luvas cirúrgicas para manipulação da sonda Levine, que foi cuidadosamente introduzida no meato nasal esquerdo (**Figura 6**) e, após tração da língua e vocalização, foi conduzida até a carina. Introduziu-se a sonda de polietileno através da sonda Levine, ultrapassando aproximadamente 3 cm do seu comprimento. Acoplou-se a seringa à sonda de polietileno, onde foram injetados 40 mL de NaCl 0.9% que foram aspirados em seguida (**Figura 7**). O lavado traqueobrônquico foi colocado em tubo plástico para avaliação citológica.



FIGURA 6. Introdução da sonda Levine no meato nasal esquerdo.



FIGURA 7. Aspiração do lavado traqueobrônquico por sondagem nasotraqueal.

4.14. Citologia do Lavado Traqueobrônquico

Para a contagem total de células, o lavado traqueobrônquico (**Figura 8**) foi homogeneizado em agitador de tubos⁹. Foram utilizados 900µL de lavado e adicionados 100µL da solução corante de Cristal Violeta. O número total de células por mL de lavado foi determinado em câmara de Neubauer, conforme técnica

⁹ Phoenix Mod AT 56

descrita por Jain (1986) para contagem de leucócitos. A partir da contagem total de células presentes em cada lavado, pôde-se adequar a diluição para padronização da contagem diferencial em lâmina.

As amostras do lavado traqueobrônquico foram submetidas à citocentrifugação¹⁰ por 5 minutos a 189 x g, e coradas pelos métodos de Panótico e Rosenfeld, para contagem celular diferencial em microscópio óptico comum (**Figuras 9 e 10**). As células avaliadas no lavado traqueobrônquico foram: células epiteliais (CE), macrófagos alveolares (MA), neutrófilos (NE), linfócitos (LFT) e eosinófilos (EO).

Foram contadas entre 100 e 300 células, de acordo com a celularidade observada no lavado traqueobrônquico. Quanto maior a celularidade da amostra, maior o número de células contadas, conforme recomendação do Laboratório de Patologia Clínica Veterinária da FMVZ – UNESP – Botucatu.



FIGURA 8. Lavado traqueobrônquico para realização de exames citológicos.

¹⁰ Revan 2000D

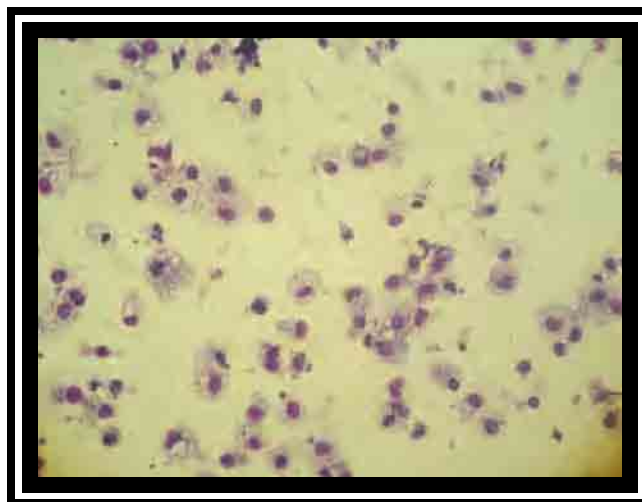


FIGURA 9. Lavado traqueobrônquico de bezerro sadio, com predomínio de macrófagos alveolares.

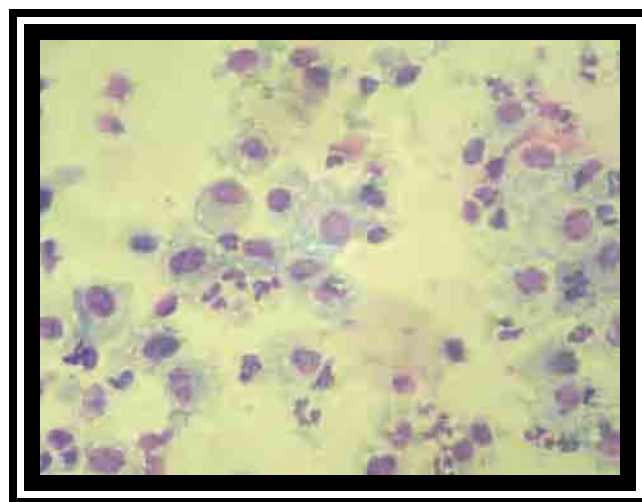


FIGURA 10. Lavado traqueobrônquico de bezerro acometido por broncopneumonia, apresentando grande quantidade de neutrófilos.

4.15. Antibioticoterapia

Os animais diagnosticados como doentes foram retirados do confinamento e isolados em piquete durante todo o tratamento. Os animais permaneceram no piquete durante o dia, sendo recolhidos em baias durante a noite. Este procedimento permitiu que os animais tomassem banho de sol durante o dia, e fossem protegidos do frio durante a noite.

Para o tratamento utilizou-se enrofloxacina 10%, na dose de 5 mg/Kg, por via intramuscular profunda, durante 5 dias. A droga foi administrada com seringa plástica descartável de 3mL e agulha descartável 30 X 8. O local de aplicação foi previamente desinfetado com solução de álcool iodado.

4.16. Exame *post mortem*

Os animais que vieram a óbito durante o período experimental foram submetidos à necropsia no Serviço de Anatomia Patológica, no Departamento de Clínica Veterinária da FMVZ – UNESP – Botucatu, para avaliação macroscópica das lesões pulmonares (**Figura 11**) e confirmação do diagnóstico de broncopneumonia.

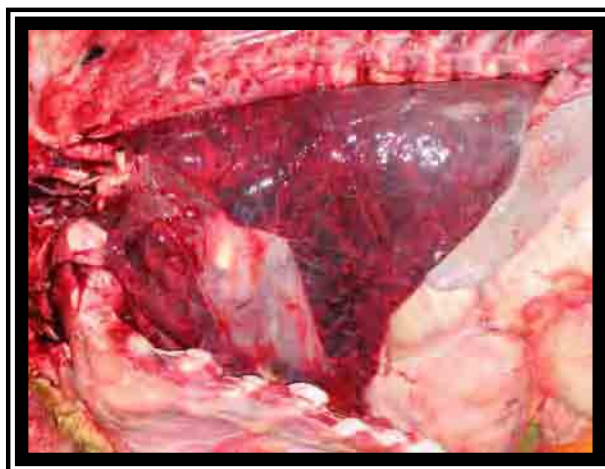


FIGURA 11. Necropsia de bezerro com diagnóstico de broncopneumonia grave.

4.17. Análise Estatística

Os grupos GCV e GSV foram comparados em relação às variáveis dicotômicas usando-se o teste exato de Fisher. Para as variáveis quantitativas, os grupos foram comparados considerando-se o teste não-paramétrico de Mann-Whitney (CURI, 1997). Valores de $p < 0,05$ indicaram significância estatística.

5. RESULTADOS

5.1. Dosagem de GGT e Proteína Total Sérica

Avaliou-se a homogeneidade dos grupos no dia inicial do experimento (D0), quanto à variável GGT, proteína total sérica e a idade dos animais. Para tanto, para cada variável, testou-se a hipótese nula de resultados iguais nos dois grupos, versus a hipótese alternativa de resultados diferentes. Os valores médios obtidos para GGT, proteína total sérica, albumina e globulina estão demonstradas na **Tabela 1**. Não houve diferença estatística entre os grupos no momento D0.

TABELA 1. Descrição de média, mediana, desvio padrão e valor de p para as variáveis GGT, proteína total sérica, albumina e globulinas, nos animais dos grupos GCV e GSV no momento D0.

Variável	Grupo	N	Média	Mediana	Desvio padrão	Valor de p
GGT (UI/L)	GCV	30	210,68	138	176,44	0,0906
	GSV	30	297,32	228	244,76	
PTS (g/dL)	GCV	30	5,97	5,8	1,08	0,2794
	GSV	30	6,18	6,25	1,27	
ALB (g/dL)	GCV	30	2,47	2,05	1,39	0,1159
	GSV	30	1,99	1,8	0,80	
GLOB (g/dL)	GCV	30	3,49	3,4	1,42	0,1026
	GSV	30	4,16	4	1,54	

5.2. Exame Físico

Para cada um dos momentos, testou-se a hipótese nula de que a probabilidade de presença de um sinal clínico no grupo GCV fosse igual à probabilidade de presença deste sinal no grupo GSV, versus a hipótese alternativa de probabilidades diferentes.

As freqüências e percentuais dos sinais clínicos observados nos momentos D0, DX, DY e D21, comparando-se os grupos GCV e GSV, independentemente da intensidade da broncopneumonia, estão descritas na **Tabela 2**. As freqüências e percentuais de sinais clínicos observados nos animais com broncopneumonia moderada e grave, nos grupos GCV e GSV, no momento DX, estão descritas nas **Tabelas 3 e 4**.

Não houve diferença significativa entre os grupos em nenhum dos momentos estudados. Entretanto, os sinais clínicos observados exclusivamente em animais com broncopneumonia grave foram mais freqüentes em bezerros do grupo GSV.

TABELA 2. Frequências e percentuais de presença de sinais clínicos de broncopneumonia nos grupos GCV e GSV, nos momentos D0, DX, DY e D21, independentemente da gravidade da doença.

Sinal Clínico	D0 (n= 30/30)		DX (n=17/17)		DY (n=6/3)		D21 (n=13/13)	
	GCV	GSV	GCV	GSV	GCV	GSV	GCV	GSV
TO	0	0	15 (88,2%)	14 (82,4%)	1 (16,7%)	0	0	0
SN	0	0	17 (100%)	17 (100%)	0	0	0	0
DM	0	0	2 (11,8%)	5 (29,4%)	0	0	0	0
FTR	0	0	0	0	0	0	0	0
FTO	0	0	0	0	0	0	0	0
RT↑	0	0	17 (100%)	17 (100%)	4 (66,7%)	2 (66,7%)	0	0
SM	0	0	1 (5,9%)	3 (17,6%)	0	0	0	0
RTB↑	0	0	17 (100%)	16 (94,1%)	0	0	0	0
RBB↑	0	0	8 (47,1%)	8 (47,1%)	0	0	0	0
AS	0	0	-	-	0	0	0	0
II	0	0	10 (58,8%)	8 (47,1%)	0	0	0	0
CG	0	0	9 (52,9%)	9 (52,9%)	0	0	0	0
CF	0	0	4 (23,5%)	5 (29,4%)	0	0	0	0
RO	0	0	2 (11,8%)	5 (29,4%)	0	0	0	0
SI	0	0	0	0	0	0	0	0
RP	0	0	0	2 (11,8%)	0	0	0	0
OEF	0	0	0	0	0	0	0	0
T↑	0	0	16 (94,1%)	16 (94,1%)	0	0	1 (7,7%)	1 (7,7%)
FR↑	5 (16,7%)	3 (10%)	17 (100%)	17 (100%)	1 (16,7%)	1 (33,3%)	2 (15,4%)	5 (38,5%)
FC↑	8 (26,7%)	9 (30%)	17 (100%)	17 (100%)	2 (33,3%)	2 (66,7%)	3 (23,1%)	7 (53,8%)

TABELA 3. Frequências e percentuais de sinais clínicos observados nos animais com broncopneumonia moderada nos grupos GCV e GSV, no momento DX.

Sinal Clínico	GCV (n=11)	GSV (n=9)	Valor de <i>p</i>
TO	10 (90,9%)	7 (77,8%)	0,5658
SN	11 (100%)	9 (100%)	---
DM	0 (0%)	0 (0%)	---
FTR	0 (0%)	0 (0%)	---
FTO	0 (0%)	0 (0%)	---
RT↑	11 (100%)	9 (100%)	---
SM	0 (0%)	0 (0%)	---
RTB↑	11 (100%)	8 (88,9%)	0,4500
RBB↑	2 (18,2%)	1 (11,1%)	1
AS	0 (0%)	0 (0%)	---
II	9 (81,8%)	7 (77,8%)	1
CG	3 (27,3%)	2 (22,2%)	1
CF	0 (0%)	0 (0%)	---
RO	0 (0%)	0 (0%)	---
SI	0 (0%)	0 (0%)	---
RP	0 (0%)	0 (0%)	---
OEF	0 (0%)	0 (0%)	---
T°↑	10 (90,9%)	8 (88,9%)	1
FR↑	11 (100%)	9 (100%)	---
FC↑	11 (100%)	9 (100%)	---

TABELA 4. Frequências e percentuais de sinais clínicos observados nos animais com broncopneumonia grave nos grupos GCV e GSV, no momento DX.

Sinal Clínico	GCV (n=6)	GSV (n=8)	Valor de <i>p</i>
TO	5 (83,3%)	7 (87,5%)	1
SN	6 (100%)	8 (100%)	---
DM	2 (33,3%)	5 (62,5%)	0,5921
FTR	0 (0%)	0 (0%)	---
FTO	0 (0%)	0 (0%)	---
RT↑	6 (100%)	8 (100%)	---
SM	1 (16,7%)	3 (37,5%)	0,5804
RTB↑	6 (100%)	8 (100%)	---
RBB↑	6 (100%)	7 (87,5%)	1
AS	0 (0%)	0 (0%)	---
II	1 (16,7%)	1 (12,5%)	1
CG	6 (100%)	7 (87,5%)	1
CF	4 (66,7%)	5 (62,5%)	1
RO	2 (33,3%)	5 (62,5%)	0,5921
SI	0 (0%)	0 (0%)	---
RP	0 (0%)	2 (25%)	0,4725
OEF	0 (0%)	0 (0%)	---
T⇑	6 (100%)	8 (100%)	---
FR↑	6 (100%)	8 (100%)	---
FC↑	6 (100%)	8 (100%)	---

5.3. Hemograma

Para cada variável, em cada momento, testou-se a hipótese nula de resultados iguais nos dois grupos, versus a hipótese alternativa de resultados diferentes.

Os valores e percentuais médios, desvios padrão e valores de p encontrados para as variáveis do hemograma, nos animais dos grupos GCV e GSV, no momento inicial do experimento (D0), estão descritos na **Tabela 5**. Os valores encontrados no momento do diagnóstico de broncopneumonia (DX) estão descritos na **Tabela 6**, e separados de acordo com a intensidade de broncopneumonia nas **Tabelas 7 e 8**. Os valores encontrados uma semana após o término do tratamento (DY) estão descritos na **Tabela 9**, e os valores obtidos no último dia do experimento, nos animais que não adoeceram (D21) estão descritos na **Tabela 10**.

Os valores médios e desvios padrão obtidos para fibrinogênio nos grupos GCV e GSV, em todos os momentos do experimento, estão ilustrados na **Figura 12**. Os valores obtidos para leucócitos totais estão ilustrados na **Figura 13**. Os valores obtidos para neutrófilos segmentados estão ilustrados na **Figura 14**. Os valores obtidos para linfócitos estão ilustrados na **Figura 15**. Os valores obtidos para monócitos estão ilustrados na **Figura 16**.

O hemograma não apresentou diferença significativa entre os grupos GCV e GSV, em nenhum dos momentos estudados, para as variáveis: HEM, HGM, VG, FIB, LCT, MI, MT, B, E, BS, MO. Houve diferença significativa entre os grupos no momento DY, avaliando-se percentual de neutrófilos segmentados e linfócitos. Houve maior percentual de neutrófilos e menor percentual de linfócitos no grupo GCV.

TABELA 5. Valor médio, percentual médio, desvio padrão e valor de *p* das variáveis do hemograma nos grupos GCV e GSV no momento D0.

Variável	GCV (n=30)	GSV (n=30)	Valor de <i>p</i>
	Média ± dp	Média ± dp	
HEM (milhões/ μ L)	6.930.666,67 ±1.634.441,66	7.373.266,67 ±1.537.365,91	0,4147
HGM (pg)	13,32 ±16,56	10,8 ±2,22	0,8087
VG (%)	31,27 ±7,17	33,13 ±6,73	0,552
FIB (mg/dL)	543,33 ±262,2	546,67 ±252,89	0,8776
PLAQ (plaq./ μ L)	488.033,33 ±251.715,01	534.033,33 ±253.552,75	0,4946
LCT (leuc./ μ L)	9.458,4 ±4.516,28	8.824,77 ±3.545,54	0,7082
MI (%)	0 ±0	0 ±0	-
MT (%)	0 ±0	0,03 ±0,18	0,8315
B (%)	0 ±0	0,3 ±1,21	0,665
S(%)	50 ±19,24	43,73 ±15,77	0,2601
LIN(%)	47,97 ±19,01	53,6 ±16,67	0,2861
E (%)	0,27 ±0,52	0,03 ±0,18	0,1823
BS (%)	0 ±0	0,07 ±0,25	0,665
MO (%)	1,73 ±1,39	2,13 ±1,91	0,5619

TABELA 6. Valor médio, percentual médio, desvio padrão e valor de *p* das variáveis do hemograma nos grupos GCV e GSV no momento DX.

Variável	GCV (n=17)	GSV (n=17)	Valor de <i>p</i>
	Média ± dp	Média ± dp	
HEM (milhões/ μ L)	7.075.294,12 ±1.543.944,29	7.635.294,12 ±1.471.309,44	0,2897
HGM (pg)	10,53 ±2,52	11,27 ±2,42	0,3057
VG (%)	32,53 ±7,5	34,35 ±8,05	0,5401
FIB (mg/dL)	800 ±264,58	876,47 ±243,75	0,6339
PLAQ (plaq./ μ L)	489.647,06 ±355.687,35	537.188,24 ±225.336,42	0,4332
LCT (leuc./ μ L)	15.209,35 ±7320,26	14.008,76 ±6562,19	0,5177
MI (%)	0 ±0	0 ±0	-
MT (%)	0 ±0	0 ±0	-
B (%)	0,18 ±0,73	0,06 ±0,24	1
S (%)	60,41 ±19,02	57,35 ±16,29	0,4745
LIN (%)	36,24 ±14,81	39,06 ±16,2	0,5861
E (%)	0,12 ±0,33	0 ±0	0,5629
BS (%)	0,12 ±0,33	0 ±0	0,5629
MO (%)	4,06 ±4,42	3,35 ±4,01	0,3571

TABELA 7. Valor médio, percentual médio, desvio padrão e valor de *p* das variáveis do hemograma, em animais dos grupos GCV e GSV com broncopneumonia moderada, no momento DX.

Variável	GCV (n=11)	GSV (n=9)	Valor de <i>p</i>
	Média ± dp	Média ± dp	
HEM (milhões/ μ L)	7.361.818,18 ± 1.429.628,05	7.471.111,11 ± 1.622.147,07	1,0000
HGM (pg)	10,86 ± 2,46	10,99 ± 2,12	0,8238
VG (%)	33,64 ± 7,02	33,11 ± 7,8	0,8820
FIB (mg/dL)	745,45 ± 238,17	733,33 ± 141,42	0,6556
PLAQ (plaq./ μ L)	461.545,45 ± 409.928,38	548666,67 ± 201.692,22	0,2299
LCT (leuc./ μ L)	12.474,73 ± 5.656,13	11.105,11 ± 3.669,62	0,6027
MI (%)	0 ± 0	0 ± 0	---
MT (%)	0 ± 0	0 ± 0	---
B (%)	0,27 ± 0,9	0 ± 0	0,7664
S (%)	53,09 ± 18,19	49,33 ± 13,77	0,4561
LIN (%)	41,27 ± 15,28	48,56 ± 14,32	0,2947
E (%)	0,18 ± 0,4	0 ± 0	0,5027
BS(%)	0,18 ± 0,4	0 ± 0	0,5027
MO (%)	5,09 ± 5,2	2,44 ± 2,79	0,1519

TABELA 8. Valor médio, percentual médio, desvio padrão e valor de *p* das variáveis do hemograma, em animais dos grupos GCV e GSV com broncopneumonia grave, no momento DX.

Variável	GCV (n=6)	GSV (n=8)	Valor de <i>p</i>
	Média ± dp	Média ± dp	
HEM (milhões/ μ L)	6.550.000 ± 1.740.298,82	7.820.000 ± 1.366.413,45	0,1812
HGM (pg)	9,91 ± 2,75	11,59 ± 2,84	0,2284
VG (%)	30,5 ± 8,6	35,75 ± 8,63	0,3450
FIB (mg/dL)	900 ± 303,32	1037,5 ± 238,67	0,4908
PLAQ (plaq./ μ L)	541.166,67 ± 252.662,16	524.275 ± 263.076,91	0,8518
LCT (leuc./ μ L)	20.222,83 ± 7.802,44	17.275,38 ± 7.746,16	0,4136
MI (%)	0 ± 0	0 ± 0	---
MT (%)	0 ± 0	0 ± 0	---
B (%)	0 ± 0	0,13 ± 0,35	0,7546
S (%)	73,83 ± 12,7	66,38 ± 14,64	0,6620
LIN (%)	27 ± 8,74	28,38 ± 10,9	0,9497
E (%)	0 ± 0	0 ± 0	---
BS (%)	0 ± 0	0 ± 0	---
MO (%)	2,17 ± 1,33	4,38 ± 5,07	0,8518

TABELA 9. Valor médio, percentual médio, desvio padrão e valor de *p* das variáveis do hemograma nos grupos GCV e GSV no momento DY.

Variável	GCV (n=6)	GSV (n=3)	Valor de <i>p</i>
	Média ± dp	Média ± dp	
HEM (milhões/ μ L)	8.263.333,33 $\pm$ 1.376.280,01	6.655.333,33 $\pm$ 1.333.801,08	0,1667
HGM (pg)	11,92 $\pm$ 2,39	8,93 $\pm$ 0,6	0,0952
VG (%)	34,83 $\pm$ 5,95	28,67 $\pm$ 3,21	0,2619
FIB (mg/dL)	633,33 $\pm$ 150,55	566,67 $\pm$ 57,74	0,5476
PLAQ (plaq./ μ L)	514.333,33 $\pm$ 231.107,48	796.666,67 $\pm$ 491.740,11	0,381
LCT (leuc./ μ L)	11.410,33 $\pm$ 5.840,35	9.140,67 $\pm$ 2.082,89	0,7143
MI (%)	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	-
MT (%)	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	-
B (%)	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	-
S (%)	46,33 $\pm$ 10,03	26 $\pm$ 10,15	0,0476
LIN (%)	50,33 $\pm$ 10,58	71,67 $\pm$ 11,5	0,0476
E (%)	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	-
BS (%)	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	-
MO (%)	3,33 $\pm$ 3,44	2,33 $\pm$ 2,08	0,9048

TABELA 10. Valor médio, percentual médio, desvio padrão e valor de p das variáveis do hemograma nos grupos GCV e GSV no momento D21.

Variável	GCV	GSV	Valor de p
	Média $\pm$ dp	Média $\pm$ dp	
HEM (milhões/ μ L)	7961538,46 $\pm$ 1324347,93	7463076,92 $\pm$ 1517472,6	0,5114
HGM (pg)	11,18 $\pm$ 1,44	10,66 $\pm$ 1,72	0,3622
VG (%)	34,08 $\pm$ 4,63	32,08 $\pm$ 4,91	0,1857
FIB (mg/dL)	623,08 $\pm$ 265,06	630,77 $\pm$ 256,21	0,9598
PLAQ (plaq./ μ L)	428615,38 $\pm$ 193241,88	555000 $\pm$ 199749,84	0,0568
LCT (leuc./ μ L)	9764,46 $\pm$ 5144,25	8355,31 $\pm$ 5554,48	0,3358
MI (%)	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	-
MT (%)	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	-
B (%)	0 $\pm$ 0	0,23 $\pm$ 0,83	0,7623
S (%)	38,08 $\pm$ 17,76	27,46 $\pm$ 14,68	0,0811
LIN (%)	57,92 $\pm$ 18,46	69,92 $\pm$ 14,33	0,0908
E (%)	0,23 $\pm$ 0,83	0 $\pm$ 0	0,7623
BS (%)	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	-
MO (%)	3,92 $\pm$ 2,18	2,38 $\pm$ 1,76	0,0723

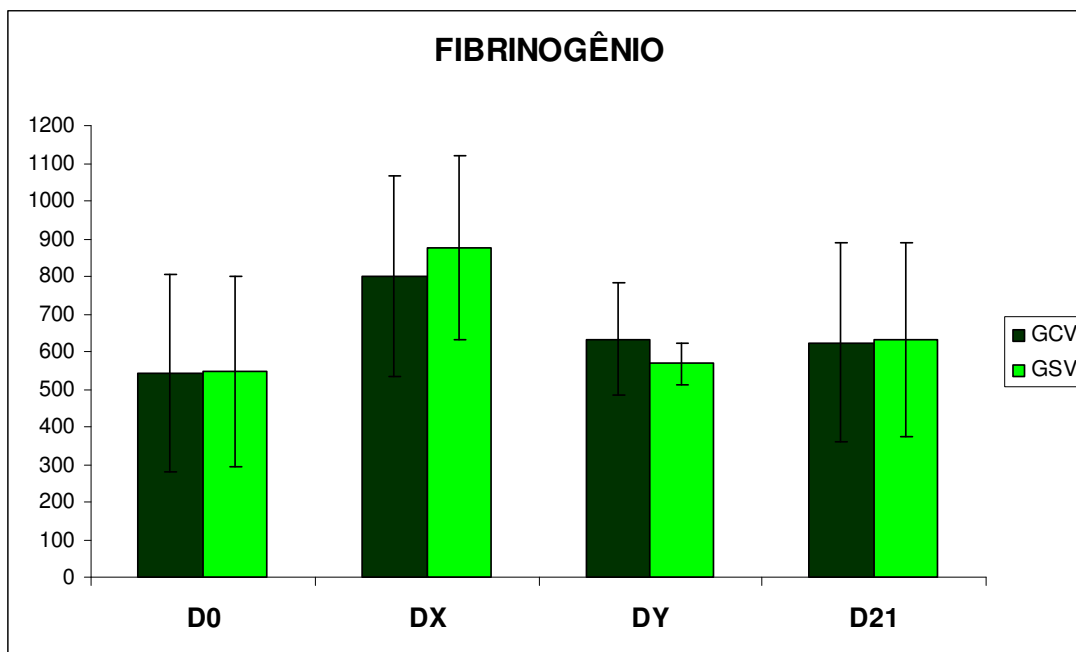


FIGURA 12. Valor médio e desvio padrão de fibrinogênio nos grupos GCV e GSV, nos momentos D0, DX, DY e D21.

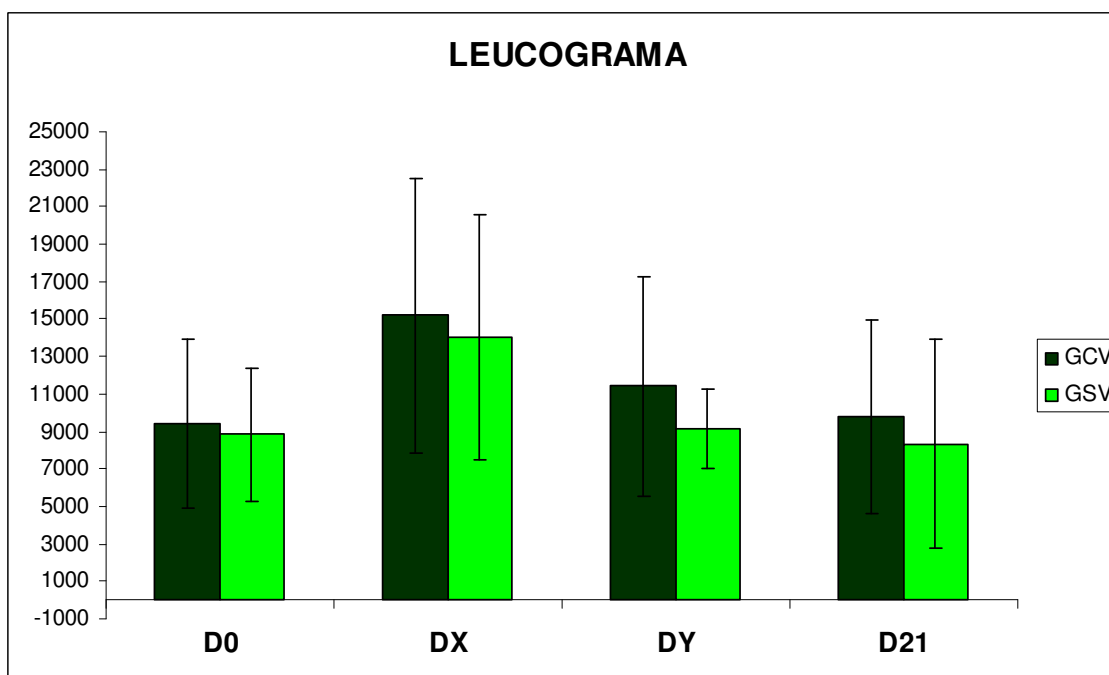


FIGURA 13. Valor médio e desvio padrão de leucócitos totais nos grupos GCV e GSV, nos momentos D0, DX, DY e D21.

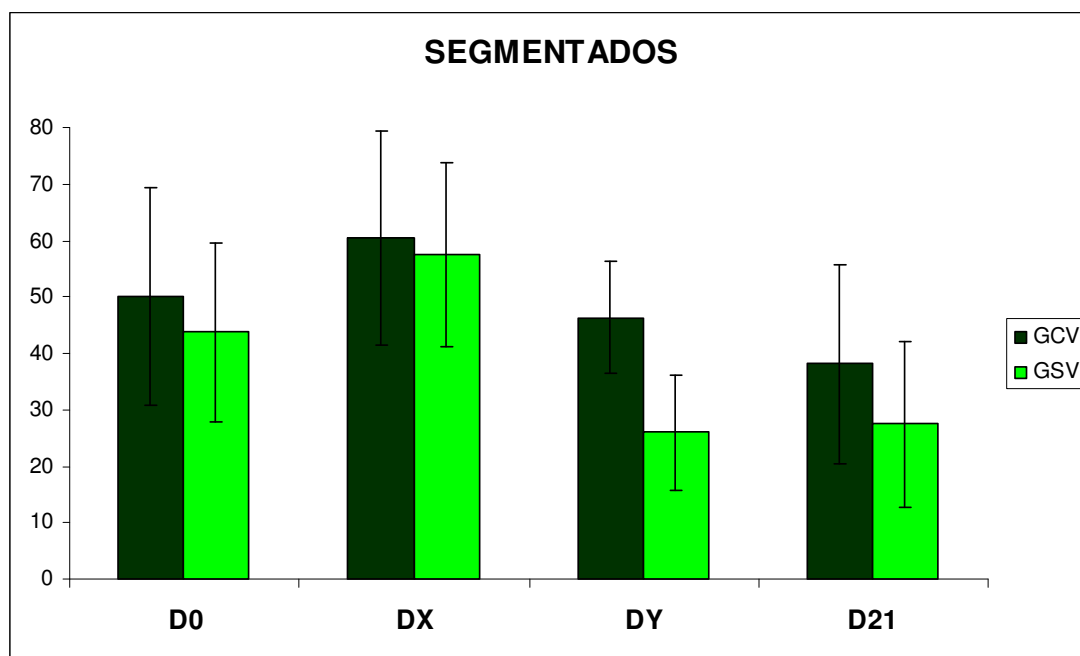


FIGURA 14. Percentual médio e desvio padrão de neutrófilos segmentados nos grupos GCV e GSV, nos momentos D0, DX, DY e D21.

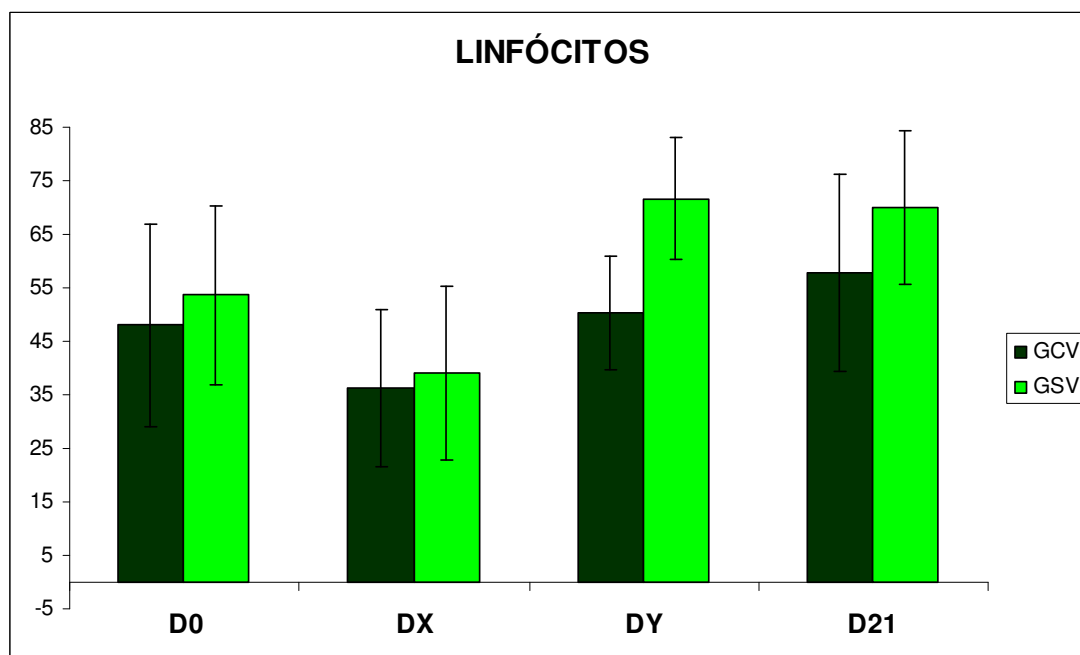


FIGURA 15. Percentual médio e desvio padrão de linfócitos nos grupos GCV e GSV, nos momentos D0, DX, DY e D21.

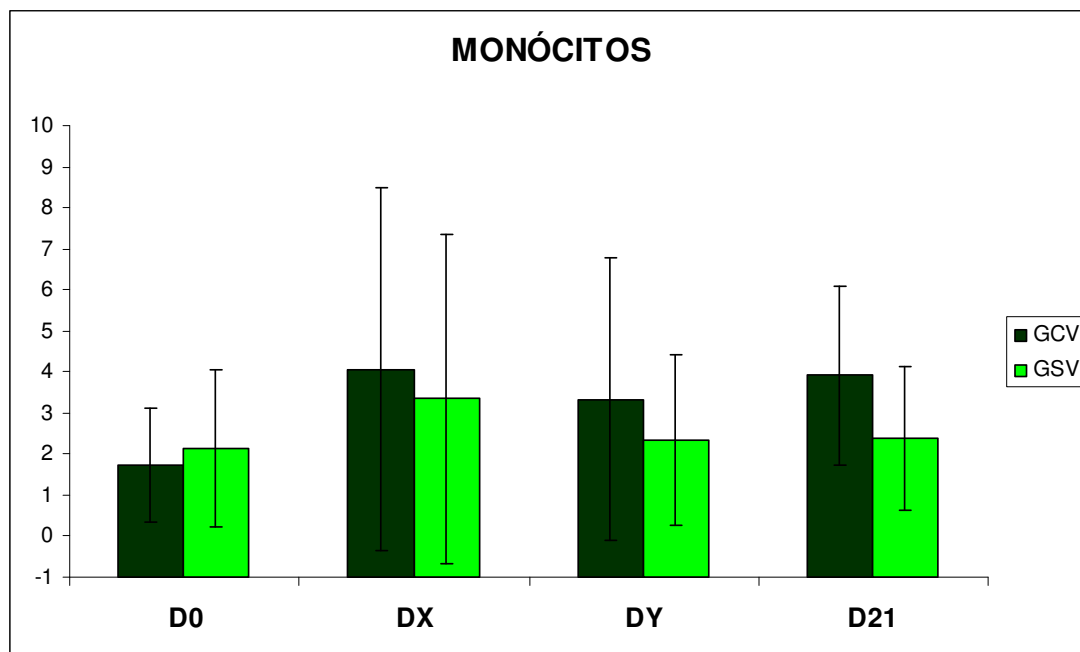


FIGURA 16. Percentuais médios e desvio padrão de monócitos, observados nos grupos GCV e GSV, nos momentos D0, DX, DY e D21.

5.4. Lavado Traqueobrônquico

Para cada variável, em cada momento, testou-se a hipótese nula de resultados iguais nos dois grupos, versus a hipótese alternativa de resultados diferentes.

Os percentuais médios de células do lavado traqueobrônquico dos bezerros dos grupos GCV e GSV, ao início do experimento (D0), quando é dado o diagnóstico de broncopneumonia (DX), uma semana após o término do tratamento (DY) e no último dia do experimento (D21) estão descritos na **Tabela 11**. Os percentuais de células do lavado traqueobrônquico de bezerros, discriminados de acordo com a idade dos animais, ao início do experimento (D0), estão descritos na **Tabela 12**.

Os percentuais médios, desvios padrão e valores de p encontrados para as células do lavado traqueobrônquico, nos animais dos grupos GCV e GSV, no momento inicial do experimento (D0), estão descritos na **Tabela 13**. Os percentuais médios encontrados no momento do diagnóstico de broncopneumonia (DX) estão descritos na **Tabela 14**, e separados de acordo com a intensidade de broncopneumonia nas **Tabelas 15 e 16**. Os percentuais médios encontrados uma semana após o término do tratamento (DY) estão descritos na **Tabela 17**, e os obtidos no último dia do experimento, nos animais que não adoeceram (D21), estão descritos na **Tabela 18**.

Os percentuais médios e desvios padrão das células epiteliais do lavado traqueobrônquico dos grupos GCV e GSV, em todos os momentos do experimento, estão ilustrados na **Figura 17**. Os percentuais obtidos para macrófagos alveolares estão ilustrados na **Figura 18**. Os percentuais obtidos para neutrófilos estão ilustrados na **Figura 19**. Os percentuais obtidos para linfócitos estão ilustrados na **Figura 20**.

A citologia do lavado traqueobrônquico não apresentou diferença significativa entre os grupos, em nenhum dos momentos estudados. Entretanto, deve-se considerar a variação celular intensa decorrente da idade dos bezerros, que pode ter alterado a interpretação dos resultados.

TABELA 11. Percentuais médios de células do lavado traqueobrônquico de bezerros nos momentos D0, DX e DY.

MOMENTO	Célula Epitelial (%)	Macrófago Alveolar (%)	Neutrófilo (%)	Linfócito (%)	Eosinófilo (%)
D0 (n=60)	15,42	45,48	34,88	0,83	0,03
DX (n=34)	9,32	46,68	43,76	0,24	0,00
DY (n=9)	2,78	71,33	25,78	0,11	0,00

TABELA 12. Percentuais médios de células do lavado traqueobrônquico de bezerros, de acordo com a idade dos animais no momento D0.

Idade (dias)	Célula Epitelial (%)	Macrófago Alveolar (%)	Neutrófilo (%)	Linfócito (%)	Eosinófilo (%)
Geral	15,42	45,48	34,88	0,83	0,03
1-2	12,80	32,13	54,47	0,53	0,07
3-4	8,85	45,92	43,62	1,62	0,00
5-7	18,35	45,24	23,53	1,00	0,06
8-10	20,40	58,73	20,60	0,27	0,00

TABELA 13. Percentuais médios, desvio padrão e valor de p de células do lavado traqueobrônquico, nos grupos GCV e GSV, no momento D0.

Variável	GCV (n=30)	GSV (n=30)	Valor de p
	Média $\pm$ dp	Média $\pm$ dp	
CE (%)	18,23 $\pm$ 21,28	12,6 $\pm$ 20,37	0,0514
MA (%)	42,3 $\pm$ 29,66	48,67 $\pm$ 25,58	0,3581
NE (%)	35,63 $\pm$ 29,36	34,13 $\pm$ 24,59	0,9824
LFT (%)	0,43 $\pm$ 0,68	1,2 $\pm$ 2,2	0,3581
EO (%)	0 $\pm$ 0	0,07 $\pm$ 0,25	0,665

TABELA 14. Percentuais médios, desvio padrão e valor de p de células do lavado traqueobrônquico, nos grupos GCV e GSV, no momento DX.

Variável	GCV (n=17)	GSV (n=17)	Valor de p
	Média $\pm$ dp	Média $\pm$ dp	
CE (%)	10,59 $\pm$ 11,48	8,06 $\pm$ 10,85	0,3753
MA (%)	44,47 $\pm$ 31,18	48,88 $\pm$ 26,78	0,4958
NE (%)	44,71 $\pm$ 28,26	42,82 $\pm$ 25,89	0,7857
LFT (%)	0,18 $\pm$ 0,53	0,24 $\pm$ 0,44	0,6098
EO (%)	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	---

TABELA 15. Percentuais médios, desvio padrão e valor de *p* de células do lavado traqueobrônquico, nos animais com broncopneumonia moderada dos grupos GCV e GSV, no momento DX.

Variável	GCV (n=11)	GSV (n=9)	Valor de <i>p</i>
	Média ± dp	Média ± dp	
CE (%)	8,36 ± 9,77	8,89 ± 11,83	0,8238
MA (%)	44,27 ± 31,21	40,22 ± 17,08	0,9408
NE (%)	47,18 ± 27,51	50,56 ± 15,76	0,7664
LFT (%)	0,09 ± 0,3	0,33 ± 0,5	0,3702
EO (%)	0 ± 0	0 ± 0	---

TABELA 16. Percentuais médios, desvio padrão e valor de *p* de células do lavado traqueobrônquico, nos animais com broncopneumonia grave dos grupos GCV e GSV, no momento DX.

Variável	GCV (n=6)	GSV (n=8)	Valor de <i>p</i>
	Média ± dp	Média ± dp	
CE (%)	14,67 ± 14,15	7,13 ± 10,37	0,2284
MA (%)	44,83 ± 34,1	58,63 ± 33,19	0,4136
NE (%)	40,17 ± 31,69	34,13 ± 32,94	0,4908
LFT (%)	0,33 ± 0,82	0,13 ± 0,35	0,8518
EO (%)	0 ± 0	0 ± 0	---

TABELA 17. Percentuais médios, desvio padrão e valor de p de células do lavado traqueobrônquico, nos grupos GCV e GSV, no momento DY.

Variável	GCV (n=6)	GSV (n=3)	Valor de p
	Média $\pm$ dp	Média $\pm$ dp	
CE (%)	2,5 $\pm$ 2,81	3,33 $\pm$ 3,06	0,7143
MA (%)	68,17 $\pm$ 21,38	77,67 $\pm$ 11,02	0,7143
NE (%)	29,33 $\pm$ 21,26	18,67 $\pm$ 12,34	0,5476
LFT (%)	0 $\pm$ 0	0,33 $\pm$ 0,58	0,5476
EO (%)	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	---

TABELA 18. Percentuais médios, desvio padrão e valor de p de células do lavado traqueobrônquico, nos grupos GCV e GSV, no momento D21.

Variável	GCV (n=13)	GSV (n=13)	Valor de p
	Média $\pm$ dp	Média $\pm$ dp	
CE (%)	11,08 $\pm$ 16,81	12,54 $\pm$ 24,52	0,5446
MA (%)	62,15 $\pm$ 26,51	62,69 $\pm$ 26,99	1
NE (%)	26,15 $\pm$ 20,88	24,38 $\pm$ 23,01	0,8010
LFT (%)	0,31 $\pm$ 1,11	0,31 $\pm$ 0,75	0,8010
EO (%)	0,08 $\pm$ 0,28	0,08 $\pm$ 0,28	1

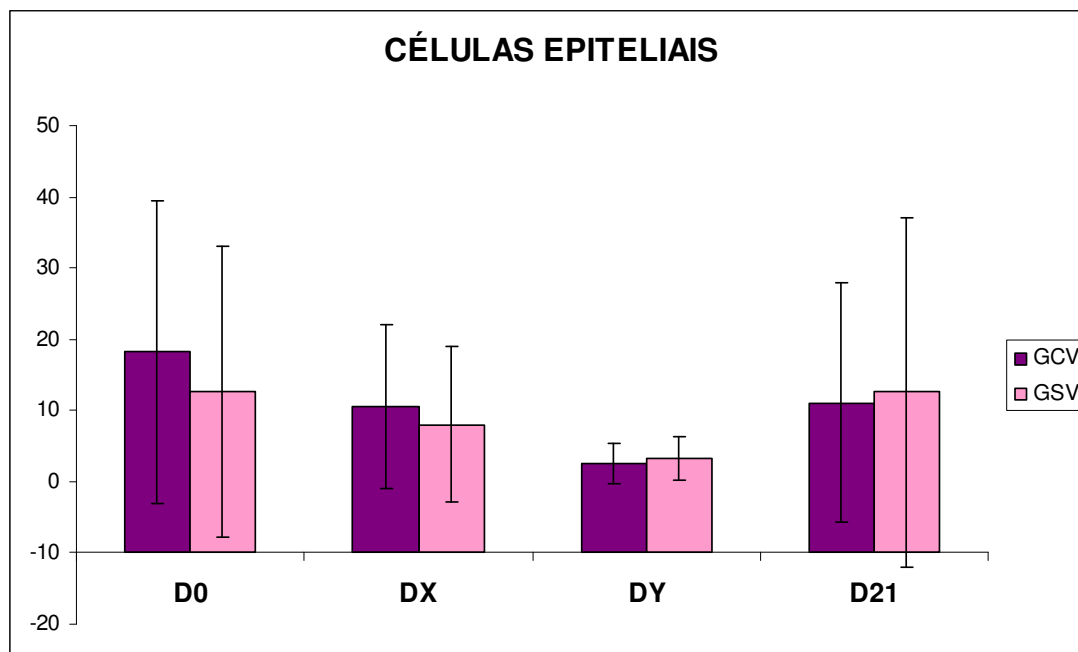


FIGURA 17. Percentuais médios e desvio padrão de células epiteliais do lavado traqueobrônquico, nos grupos GCV e GSV, nos momentos D0, DX, DY e D21.

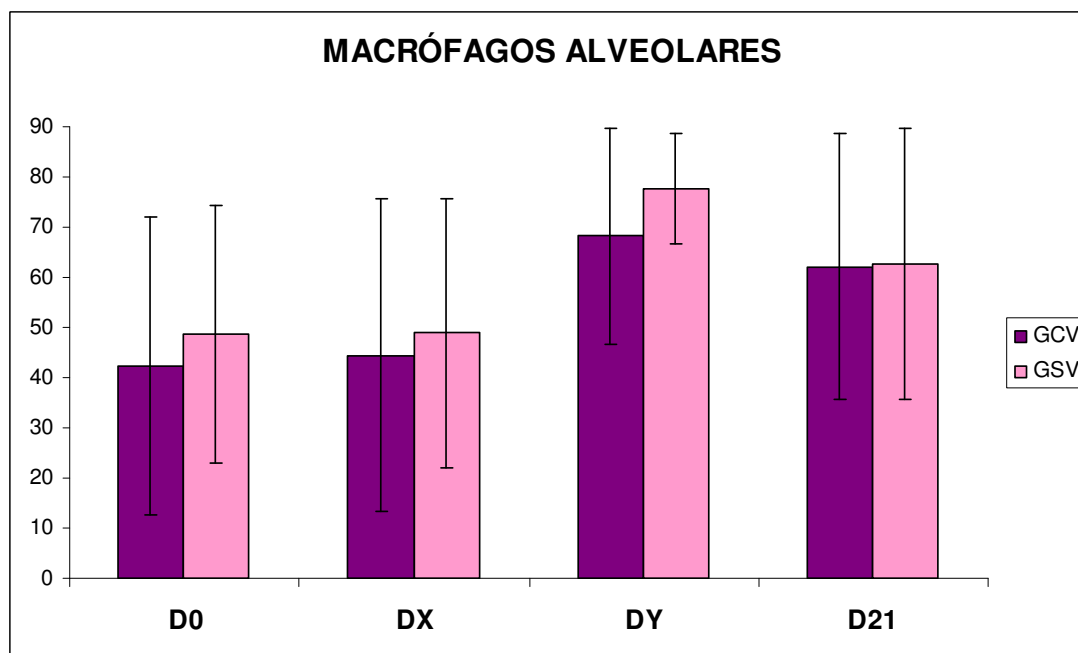


FIGURA 18. Percentuais médios e desvio padrão de macrófagos alveolares do lavado traqueobrônquico, nos grupos GCV e GSV, nos momentos D0, DX, DY e D21.

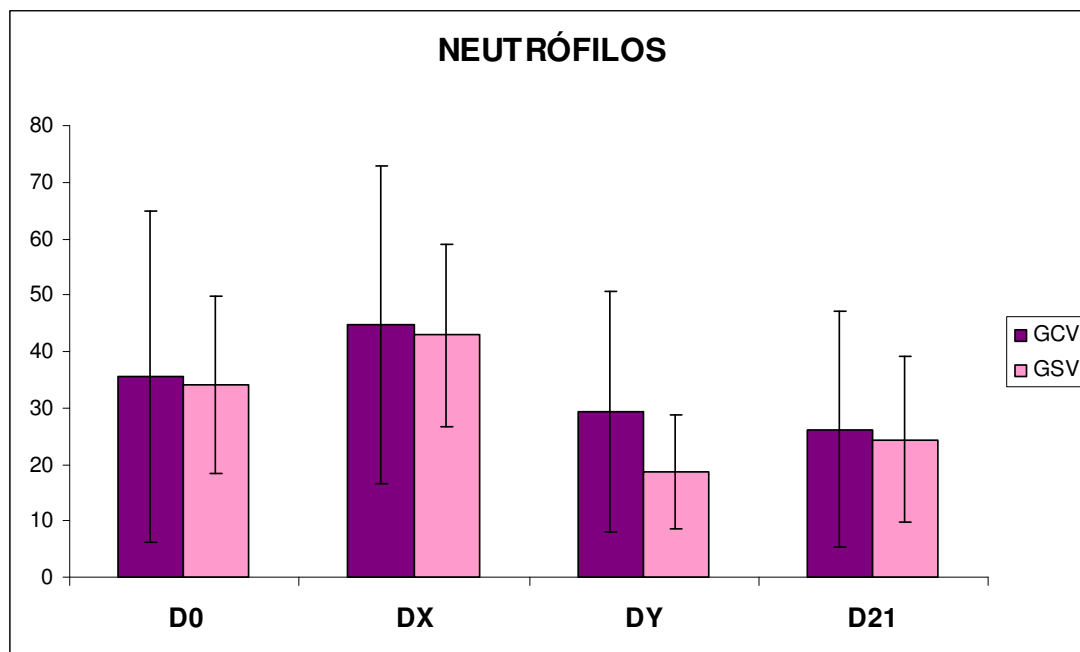


FIGURA 19. Percentuais médios e desvio padrão de neutrófilos do lavado traqueobrônquico, nos grupos GCV e GSV, nos momentos D0, DX, DY e D21.

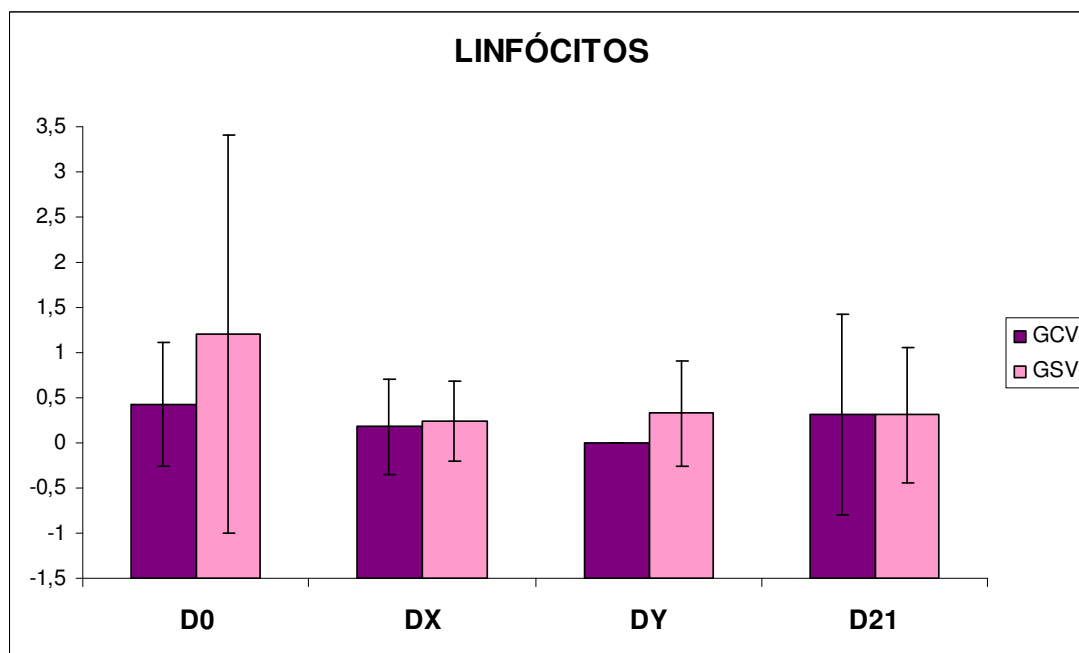


FIGURA 20. Percentuais médios e desvio padrão de linfócitos do lavado traqueobrônquico, nos grupos GCV e GSV, nos momentos D0, DX, DY e D21.

5.5. Comparação entre os grupos experimentais GCV e GSV

Inicialmente, testou-se a hipótese nula de que a probabilidade de um animal suplementado com vitamina E adoecer fosse igual à probabilidade de um animal não suplementado adoecer, versus a hipótese alternativa de probabilidades diferentes. Os resultados obtidos estão descritos na **Tabela 19** e ilustrados na **Figura 21**. Posteriormente, testou-se a hipótese nula de que o tempo até adoecer entre os animais suplementados fosse igual ao tempo até adoecer entre os animais não suplementados, versus a hipótese alternativa de tempos diferentes. Os resultados foram apresentados na **Tabela 20** e ilustrados na **Figura 22**.

Os resultados de frequência e percentuais de broncopneumonia (DX), de acordo com a intensidade, foram apresentados na **Tabela 21**, e ilustrados na **Figura 23**. Para verificar a taxa de sobrevivência dos bezerros após o tratamento, testou-se a hipótese nula de que a probabilidade de um animal suplementado estar vivo após o tratamento fosse igual à probabilidade de um animal não suplementado estar vivo após o tratamento, versus a hipótese alternativa de probabilidades diferentes. As frequências e percentuais de animais vivos e mortos, após o diagnóstico de broncopneumonia, nos grupos GCV e GSV, independentemente da gravidade, estão apresentadas na **Tabela 22**, e ilustradas na **Figura 24**. As frequências e percentuais de animais vivos e mortos, após o diagnóstico de broncopneumonia moderada ou grave, nos grupos GCV e GSV, estão apresentadas nas **Tabelas 23 e 24**. As frequências e percentuais de animais recuperados de broncopneumonia moderada e grave, nos grupos GCV e GSV, no momento DY, estão descritas na **Tabela 25**, e ilustradas na **Figura 25**. As frequências e percentuais de óbitos em animais acometidos por broncopneumonia moderada e grave, nos grupos GCV e GSV, estão descritas na **Tabela 26**. A comparação entre os grupos GCV e GSV em relação ao tempo que os bezerros levam para morrer está descrita na **Tabela 27**. A comparação entre os grupos em relação à causa mortis está descrita na **Tabela 28**. Não houve diferença significativa entre os grupos em nenhum dos momentos estudados.

TABELA 19. Frequências e percentuais de animais doentes nos grupos GCV e GSV, no momento DX.

Adoeceu	Grupo	
	GCV	GSV
Não	13 (43,33%)	13 (43,33%)
Sim	17 (56,67%)	17 (56,67%)
Total	30	30

Valor de p: 1

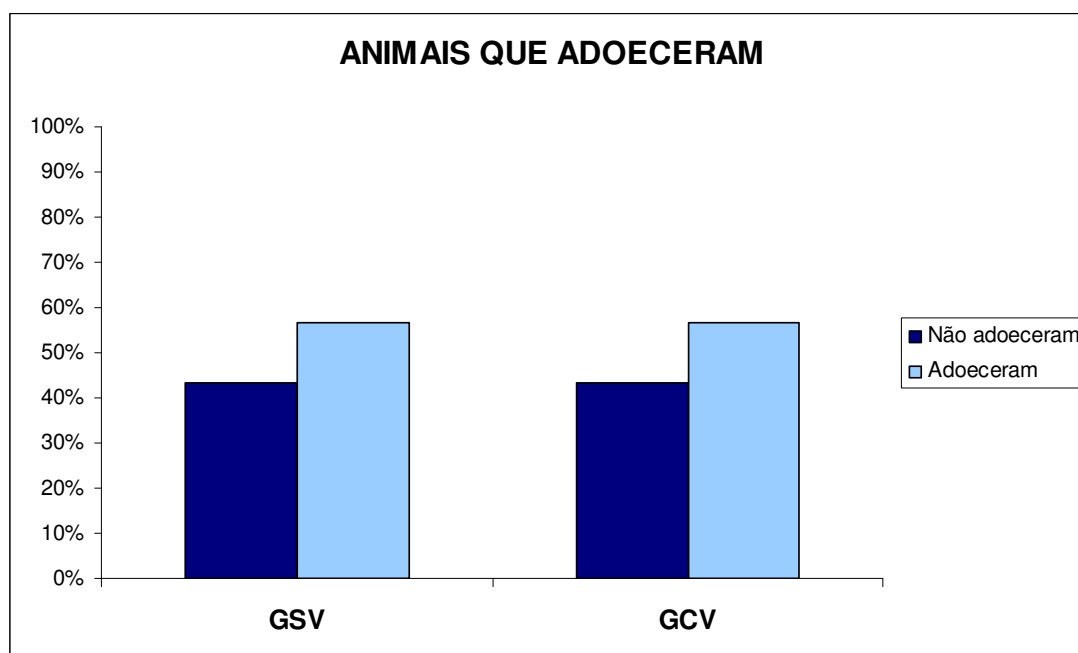


FIGURA 21. Incidência de animais com broncopneumonia nos grupos GCV e GSV, no momento DX.

TABELA 20. Comparação dos grupos GCC e GSV em relação ao tempo (dias) para adoecer.

Variável	Grupo	N	Média	Mediana	Desvio padrão	Valor de p
Tempo para adoecer (dias)	GCV	17	11,94	13	5,66	0,6832
	GSV	17	10,94	12	6,10	

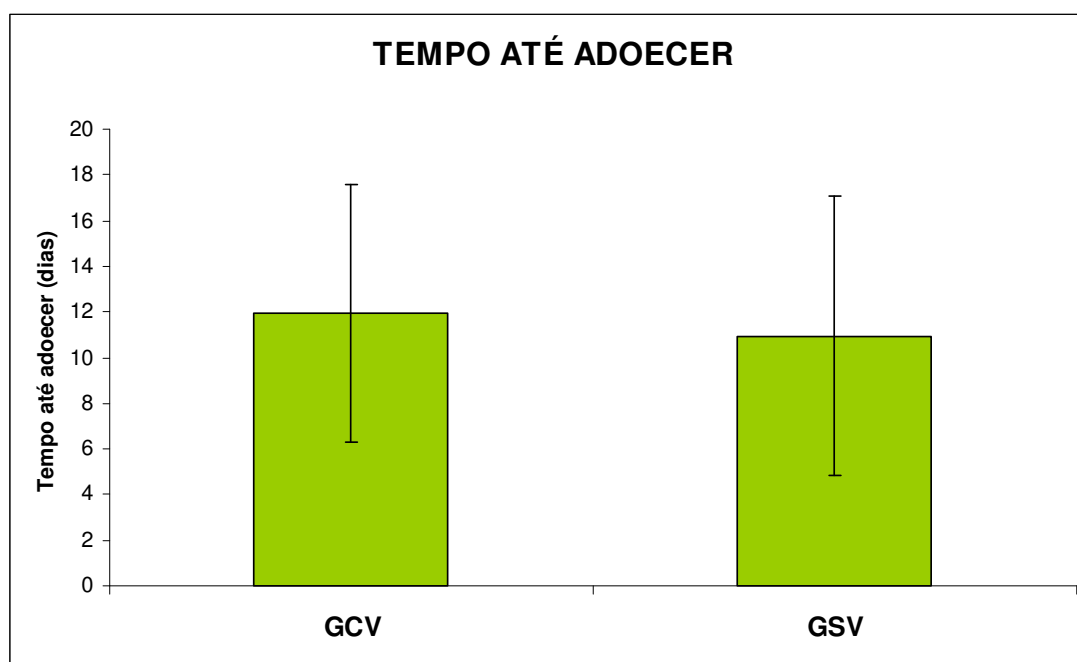


FIGURA 22. Comparação dos grupos GCC e GSV em relação ao tempo (dias) que levam para adoecer.

TABELA 21. Frequências e percentuais de broncopneumonia moderada e grave nos grupos GCV e GSV no momento DX.

Intensidade de BCP (DX)	Grupo	
	GCV	GSV
Moderada	11 (64,71%)	9 (52,94%)
Grave	6 (35,29%)	8 (47,06%)
Total (n)	17	17

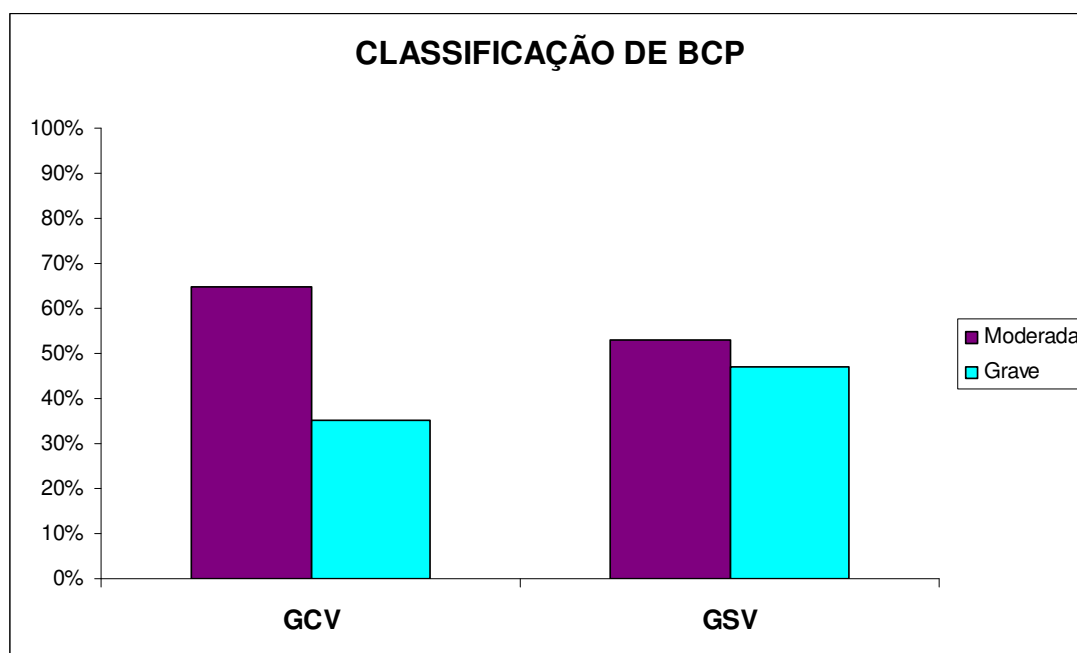


FIGURA 23. Percentual de animais com broncopneumonia moderada e grave nos grupos GCV e GSV, no momento DX.

TABELA 22. Frequências e percentuais de animais vivos e mortos, uma semana após o término do tratamento de broncopneumonia (DY) nos grupos GCV e GSV.

Status entre os animais que adoeceram	Grupo	
	GCV	GSV
Morto	11 (64,71%)	14 (82,35%)
Vivo	6 (35,29%)	3 (17,65%)
Total (n)	17	17

Valor de p: 0,4384

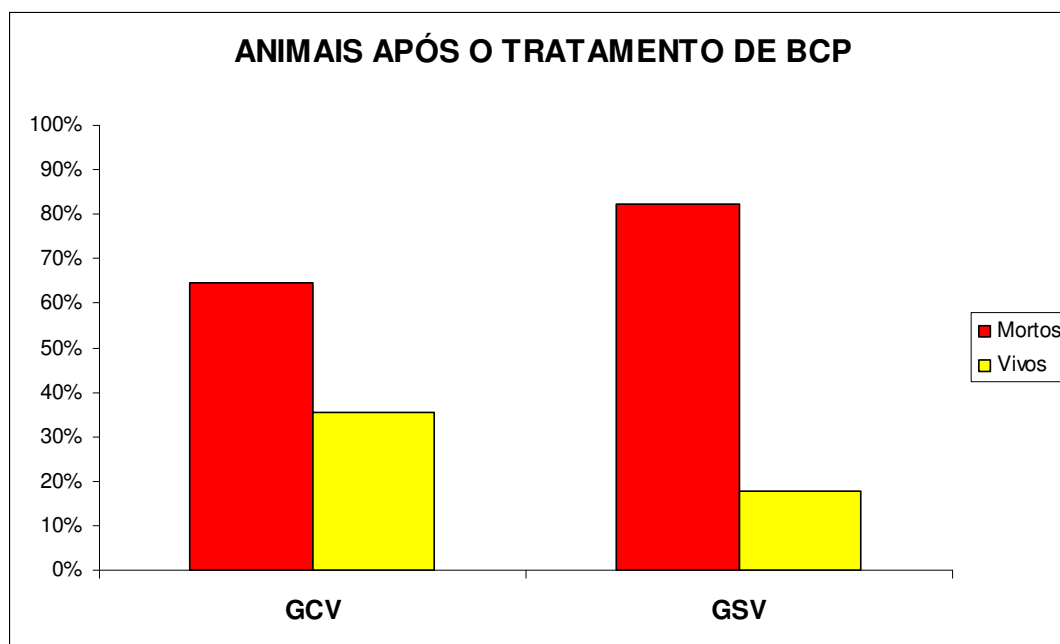


FIGURA 24. Comparação dos animais dos grupos GCV e GSV em relação à probabilidade de estarem vivos após o tratamento.

TABELA 23. Frequências e percentuais de animais vivos e mortos, acometidos por broncopneumonia moderada, nos grupos GCV e GSV.

Desfecho BCP moderada	Grupo	
	GCV	GSV
Morreram	7 (63,6%)	7 (77,8%)
Não morreram	4 (36,4%)	2 (22,2%)
Total (n)	11	9

Valor de p: 0,6424

TABELA 24. Frequências e percentuais de animais vivos e mortos, acometidos por broncopneumonia grave, nos grupos GCV e GSV.

Desfecho BCP grave	Grupo	
	GCV	GSV
Morreram	4 (66,7%)	7 (87,5%)
Não morreram	2 (33,3%)	1 (12,5%)
Total (n)	6	8

Valor de p: 0,5385

TABELA 25. Frequência e percentual de animais recuperados de broncopneumonia moderada e grave, nos grupos GCV e GSV, no momento DY.

Animais Recuperados Pós- Tratamento (DY)	Grupo	
	GCV	GSV
Moderada	4 (66,67%)	2 (66,67%)
Grave	2 (33,33%)	1 (33,33%)
Total (n)	6	3

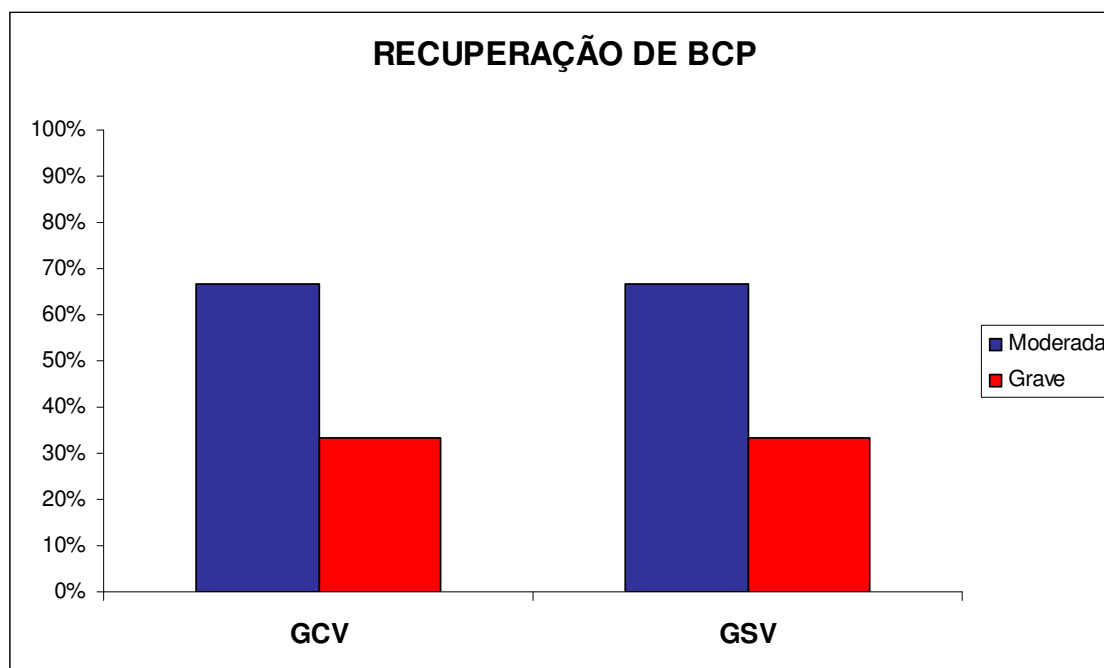


FIGURA 25. Percentual de recuperação de bezerros após o tratamento (DY), de acordo com a gravidade da broncopneumonia, nos grupos GCV e GSV.

TABELA 26. Frequência e percentual de óbitos em animais acometidos por broncopneumonia moderada e grave nos grupos GCV e GSV.

Óbitos decorrentes de Broncopneumonia	Grupo	
	GCV	GSV
Moderada	7 (63,6%)	7 (50%)
Grave	4 (36,4%)	7 (50%)
Total	11	14

Valor de p: 0,6887

TABELA 27. Comparação dos grupos GCV e GSV em relação ao tempo (dias) que os bezerros levam para morrer.

Grupo	N	Média	Mediana	1o. Quartil	3o. Quartil	Desvio padrão	Valor de p
GCV	11	14,91	14	13	17	5,75	0,4030
GSV	14	12,71	13	7	16	6,76	

Este resultado indica a não rejeição da hipótese nula no nível de significância de 5%.

TABELA 28. Comparação dos grupos GCV e GSV em relação à causa *mortis* dos bezerros acometidos por broncopneumonia.

Causa <i>mortis</i>	Grupo	
	GCV	GSV
IR	11 (100%)	13 (92,86%)
CHE	0 (0%)	1 (7,14%)
Total	11	14

CHE: choque endotoxêmico IR: insuficiência respiratória

6. DISCUSSÃO

6.1. Dosagem de GGT e Proteína Total Sérica

Sabendo-se da fragilidade dos bezerros ao nascimento, da susceptibilidade a infecções no período neonatal (RIBEIRO et al., 1983; WITTUM & PERINO, 1995; SANDERSON & DARGATZ, 2000) e, conseqüentemente, da importância da ingestão adequada de colostro nas primeiras horas pós-parto (MCGUIRE & ADAMS, 1982; LANGHOLZ et al., 1987; ANDREWS e LYONS, 1990; BESSER et al., 1991; WHITE, 1993), optou-se pela realização de exames que pudessem estimar a quantidade de imunoglobulinas ingeridas pelos bezerros no período neonatal.

Com base nos relatos de literatura em relação à dosagem de GGT e de proteínas totais séricas, e sua correlação na estimativa de ingestão de colostro pelos bezerros após o nascimento, realizou-se a dosagem desta enzima e das proteínas em todos os bezerros antes que fossem introduzidos no experimento. O objetivo foi minimizar possíveis interferências da falha de transferência passiva de imunoglobulinas no estado geral dos animais durante o período de confinamento.

Os valores médios obtidos para GGT dos animais do experimento ficaram abaixo dos valores obtidos por Borges (1997), que avaliou ingestão de colostro em bezerros da mesma faixa etária, e do valor mínimo estabelecido por Ogilvie (2000). Entretanto, os valores obtidos estiveram acima do valor mínimo estabelecido por Perino (1993) para determinar adequada ingestão de colostro no período neonatal.

Os valores médios obtidos na dosagem de proteínas totais séricas foram semelhantes aos valores mínimos obtidos por Borges (1997) em seu experimento e ficaram acima dos valores mínimos estabelecidos por Perino (1993) e Rea et al. (1996) para confirmação de ingestão de colostro.

A idade média dos animais no momento da colheita da amostra e os valores médios encontrados para GGT e proteína total sérica não diferiu entre os grupos GCV e GSV. Estes resultados foram úteis para confirmação da homogeneidade dos grupos no início do experimento, independentemente de terem recebido ou não colostro em quantidade e qualidade suficientes ao nascimento. O transporte de

bezerros de diversas propriedades ao hospital veterinário impossibilitou o acompanhamento no período pós-parto imediato, dificultando o monitoramento de administração de colostro de maneira uniforme a todos os animais. Os bezerros que chegaram ao Hospital Veterinário da FMVZ – UNESP – Botucatu e obtiveram valores de GGT e proteína sérica total abaixo dos valores mínimos recomendados em literatura (PERINO, 1993, REA et al., 1996; BORGES, 1997, OGILVIE, 2000), foram imediatamente descartados do experimento. Ao final do experimento, dez animais haviam sido descartados.

6.2. Exame Físico

A realização do exame físico foi fundamental na obtenção precoce do diagnóstico de broncopneumonia, confirmando a observação feita por Gonçalves & Barioni (2000b), de que o exame físico é insubstituível em relação aos demais para diagnosticar doenças respiratórias. No momento inicial do experimento (D0), observou-se taquipnéia e taquicardia em alguns animais dos grupos GCV e GSV. Embora os animais estivessem saudáveis, sabe-se que podem alterar a frequência cardíaca e respiratória em situações de excitabilidade (GONÇALVES et al., 2001), que neste caso pode ter decorrido de transporte e manejo recentes.

Os sinais clínicos como secreção nasal, reflexo de tosse exacerbado, aumento da frequência cardíaca e da frequência respiratória, que foram observados em todos os animais doentes, de ambos os grupos, não caracterizaram a intensidade da broncopneumonia, em conformidade com os resultados obtidos por Gonçalves et al. (2001). Nos animais que tiveram broncopneumonia moderada, observou-se tosse, secreção nasal, reflexo de tosse exacerbado, ruído traqueobrônquico aumentado, ruído broncobronquiolar rude, inspiração interrompida, crepitação grossa, hipertermia, taquicardia e taquipnéia em animais de ambos os grupos. Embora tenham sido observados sinais clínicos comuns na broncopneumonia grave, deve-se considerar a importância da avaliação dos sinais clínicos associados, e não apenas isoladamente, para definir corretamente a intensidade da doença. Nos animais que tiveram broncopneumonia grave, observou-se, além dos sinais clínicos observados nos casos de broncopneumonia moderada, dispnéia mista, submacicez, crepitação

fina e ronco em ambos os grupos, e roce pleural no grupo GSV. Em contrapartida, frêmito traqueal, frêmito torácico, área de silêncio, sibilo e odor expiratório fétido, sinais que caracterizam a gravidade da broncopneumonia (GONÇALVES, 1997; GONÇALVES et al., 2001), não foram observados nos animais durante o experimento. Destes sinais, apenas área de silêncio foi observada por Gonçalves (1997), sendo que os demais também não foram observados em seu experimento.

No grupo GSV, de 17 animais doentes, 9 tiveram broncopneumonia moderada e 8 tiveram broncopneumonia grave. No grupo GCV, obteve-se 11 animais com broncopneumonia moderada e 6 animais com broncopneumonia grave. Sinais clínicos como tosse, ruído traqueobrônquico aumentado e inspiração interrompida, observados predominantemente no grupo GCV, são relacionados com maior frequência a casos de broncopneumonia moderada, enquanto dispnéia mista, submacicez, crepitação fina e ronco, observados predominantemente no grupo GSV, são relacionados com maior frequência a casos de broncopneumonia grave. Roce pleural, sinal clínico característico de doença grave, só foi observado no grupo GSV. Os sinais clínicos: hipertermia, ruído broncobronquiolar rude e crepitação grossa foram observados com a mesma frequência nos grupos GCV e GSV.

Os resultados confirmaram que a presença isolada, e principalmente associada de determinados sinais clínicos, caracterizam a intensidade da broncopneumonia (GONÇALVES et al., 2001), tendo em vista que o grupo GSV, que apresentou com maior frequência sinais clínicos isolados e associados de broncopneumonia grave, foi também o grupo que teve a maior incidência de animais com diagnóstico de broncopneumonia grave. Apesar dos resultados obtidos terem sido favoráveis ao grupo GCV, que apresentou menor incidência de broncopneumonia grave, não houve diferença significativa entre os grupos.

Uma semana após o término do tratamento de broncopneumonia (DY), observou-se tosse em 1 animal do GCV, taquicardia em 2 animais de cada grupo, taquipnéia em 1 animal de cada grupo, e reflexo de tosse aumentado em 4 animais do GCV e em 2 animais do GSV. Conforme descrito anteriormente, taquipnéia e taquicardia são sinais clínicos comumente observados em animais estressados, ou manipulados recentemente. Os bezerros eram retirados do bezerreiro para realização do exame físico, e esta manipulação dos animais pode ter interferido na avaliação destes sinais clínicos. Entretanto, tosse e reflexo de tosse aumentado refletem alterações no trato respiratório, especialmente na traquéia (PRINGLE,

1992). Os animais do grupo GCV tiveram maior incidência destes sinais clínicos. Pode-se deduzir que os animais deste grupo ainda não estavam completamente recuperados de broncopneumonia na semana seguinte ao término do tratamento.

Os treze animais de cada grupo que não adoeceram até o último dia de avaliação em confinamento (D21), manifestaram sinais clínicos como taquipnéia e taquicardia. Taquipnéia foi observada em 5 animais do grupo GSV e em 2 animais do grupo GCV. A observação de taquipnéia e taquicardia novamente podem ser atribuídas ao estresse por manejo.

6.3. Hemograma

A realização do hemograma foi útil para confirmação da homogeneidade dos grupos GCV e GSV e higidez dos bezerros no momento D0, por indicar presença de processo infeccioso nos animais acometidos por broncopneumonia (DX), por indicar a recuperação dos animais no momento DY, e por fornecer dados compatíveis com o estado geral dos bezerros no momento D21.

Não foram observadas variações significativas no eritrograma dos bezerros em nenhum dos momentos estudados. Os resultados foram compatíveis com os dados obtidos por Peixoto (2002), que não observou variação significativa no eritrograma de bezerros até os 90 dias de idade.

Os valores iniciais de fibrinogênio não diferiram significativamente entre os grupos, e estiveram dentro dos valores fisiológicos indicados, que variam de 300 a 700 mg/dL (JAIN, 1986). Observou-se elevação do fibrinogênio quando os animais adoeceram, e a hiperfibrinogenemia foi ainda mais acentuada em animais que tiveram broncopneumonia grave. Após o tratamento dos bezerros, observou-se retorno dos valores de fibrinogênio próximo aos valores fisiológicos. Nos animais avaliados no momento D21 observou-se discreta elevação do fibrinogênio em relação ao D0, mas não ultrapassou os valores fisiológicos para a espécie.

A contagem total de leucócitos aumentou conforme os animais adoeceram, sendo acentuada principalmente nos animais que tiveram broncopneumonia grave, quando os valores observados estiveram acima dos valores máximos aceitos como fisiológicos (PEIXOTO, 2002). O número total de leucócitos retornou aos valores fisiológicos após o tratamento dos bezerros com enrofloxacin e não sofreu

alterações significativas no momento D21. As variações observadas em relação ao fibrinogênio e contagem total de leucócitos reforçaram as conclusões de Smith (1993) e Taylor (2000), quando afirmaram que as concentrações aumentadas das proteínas de fase aguda em ruminantes são indicadores mais sensíveis de inflamação aguda ou crônica do que alterações na contagem de leucócitos. A variação do fibrinogênio foi mais acentuada, quando comparada à variação da contagem leucócitos, e caracterizou os quadros de broncopneumonia moderada e grave, que não puderam ser claramente caracterizados somente pela contagem total dos leucócitos.

Os resultados obtidos para contagem diferencial de leucócitos foram compatíveis com os resultados obtidos por Costa (2001). Comparando-se o momento D0 e D21, observou-se a inversão de proporção entre neutrófilos e linfócitos. No momento D21 os linfócitos já haviam superado o percentual de neutrófilos. Costa (2001) relatou que esta inversão ocorreria a partir dos 15 dias de vida do bezerro, e assim permaneceria em animais adultos saudáveis. No momento DX, observou-se maior proporção de neutrófilos em relação aos linfócitos, devido à ocorrência de broncopneumonia. Os neutrófilos retornaram aos níveis normais, e no momento DY já haviam sido superados pelo número de linfócitos, caracterizando o leucograma de bovinos desta faixa etária, já semelhantes ao leucograma de bovinos adultos. O percentual de neutrófilos e linfócitos diferiram significativamente entre os grupos no momento DY. Observou-se que, comparativamente, a proporção entre neutrófilos e linfócitos dos animais do grupo GCV não foi restabelecida com a mesma eficiência dos animais do grupo GSV. Associado aos resultados obtidos no exame físico, pode-se suspeitar de uma recuperação mais lenta de broncopneumonia nos animais do grupo GCV. Entretanto, para sustentar esta hipótese, serão necessários novos estudos que correlacionem suplementação da vitamina E com atividade de neutrófilos e linfócitos na recuperação de doenças respiratórias. Deve-se considerar que a variação celular dos bezerros nesta idade e o pequeno número de animais avaliados neste momento podem ter interferido na interpretação dos resultados.

No momento D21 todos os animais apresentaram variáveis do hemograma dentro dos valores fisiológicos.

6.4. Citologia do Lavado Traqueobrônquico

A citologia do lavado traqueobrônquico, embora tenha confirmado comprometimento das vias aéreas posteriores, não foi útil na classificação da broncopneumonia neste estudo. De modo geral, observou-se predominância de macrófagos alveolares, seguidos de neutrófilos, células epiteliais, linfócitos e eosinófilos no início do experimento (D0). Estes dados foram compatíveis com as descrições feitas por Gonçalves (1997) e Kimman et. al. (1986) em relação à celularidade do lavado traqueobrônquico de bovinos sadios. Entretanto, separando-se os bezerros por idade, observou-se alteração nas proporções celulares. Bezerros com até dois dias de vida apresentaram maior proporção de neutrófilos em relação aos macrófagos alveolares, com variação na proporção de células epiteliais, linfócitos e eosinófilos. Bezerros com idade entre 3 e 10 dias apresentaram inversão nesta proporção, fazendo com que a proporção de macrófagos alveolares fosse aumentando gradativamente em relação à de neutrófilos.

No momento em que os bezerros adoeceram (DX) as proporções foram mantidas, diferindo dos resultados obtidos por Gonçalves (1997), que observou maior proporção de neutrófilos no lavado traqueobrônquico de bezerros doentes. Uma semana após o término do tratamento dos animais (DY), observou-se maior proporção de macrófagos alveolares, redução na proporção de neutrófilos e células epiteliais, e manutenção na proporção de eosinófilos, em relação aos momentos D0 e DX. No último dia de avaliação dos animais que não adoeceram (D21), observou-se maior proporção de macrófagos alveolares em relação ao D0, com redução na proporção de neutrófilos, células epiteliais e linfócitos, e discreto aumento na proporção de eosinófilos.

Comparando-se individualmente cada tipo celular em relação aos momentos D0, DX, DY e D21, observou-se que as células epiteliais e os linfócitos tiveram maior proporção no momento D0, os neutrófilos no momento DX, os macrófagos alveolares no momento DY e os eosinófilos no momento D21. A citologia do lavado traqueobrônquico não apresentou diferença significativa entre os grupos, em nenhum dos momentos estudados. Acredita-se que as alterações celulares decorrentes do desenvolvimento etário possam ter interferido consideravelmente nos resultados obtidos neste trabalho. Para confirmação desta hipótese, deverão ser

realizadas novas pesquisas em relação à celularidade do lavado traqueobrônquico de bezerros, pois não foram encontrados valores de referência para este exame em bezerros recém-nascidos.

6.5. Comparação entre os grupos experimentais GCV e GSV

Comparando-se os grupos GCV e GSV quanto à incidência de broncopneumonia, verificou-se que não houve diferença significativa entre os grupos. Broncopneumonia foi observada em 57% dos animais de ambos os grupos. A morbidade elevada ocorreu pela permanência dos animais em sistema de confinamento, diferindo dos casos clínicos estudados por Barros et al. (1996), Rabello et al. (1996) e Gonçalves et al. (2000a), onde os animais permaneciam em regime extensivo.

Comparando-se os grupos em relação ao tempo médio que os animais levaram para adoecer, verificou-se que não houve diferença significativa entre GCV e GSV. Os animais do grupo GSV levaram aproximadamente 11 dias para adoecer, e os animais do grupo GCV levaram 12 dias para adoecer.

Dos animais que adoeceram no grupo GSV, 53% tiveram broncopneumonia moderada e 47% tiveram broncopneumonia grave. No grupo GCV 65% dos animais que adoeceram tiveram broncopneumonia moderada e 35% tiveram broncopneumonia grave. Observou-se menor incidência de broncopneumonia grave no grupo GCV, embora esta diferença entre os grupos não tenha sido significativa.

Observou-se que apenas 18% (3/17) dos animais do grupo GSV e 35% (6/17) do grupo GCV sobreviveram após o tratamento de broncopneumonia. Dos animais que tiveram broncopneumonia moderada, 22% (2/9) do grupo GSV e 36% (4/11) do grupo GCV sobreviveram após o tratamento. Dentre animais que tiveram broncopneumonia grave, sobreviveram 12% (1/8) no grupo GSV e 33% (2/6) no grupo GCV após o tratamento. Considerando-se os bezerros recuperados (DY), observou-se que 33% se recuperaram de broncopneumonia grave em ambos os grupos, e 67% se recuperaram de broncopneumonia moderada, não havendo diferença significativa entre os grupos.

Verificou-se maior incidência de óbitos nos animais do grupo GSV. De 25 animais que foram a óbito, 14 pertenciam ao grupo GSV e 11 ao grupo GCV. O percentual de óbitos em relação aos animais que adoeceram foi de 65% no grupo GCV e de 82 % no grupo GSV. Considerando-se a gravidade da doença, observou-se que a broncopneumonia grave foi responsável por 36% dos óbitos no GCV e 50% no grupo GSV. Não houve diferença significativa entre os grupos GCV e GSV em relação ao tempo que os bezerros levaram para morrer. Insuficiência respiratória foi observada em praticamente todos os animais que foram a óbito durante o experimento, independentemente do grupo.

7. CONCLUSÃO

A suplementação com vitamina E na forma de acetato de DL- α -tocoferol em bezerros recém nascidos não exerceu influência na profilaxia da broncopneumonia.

A incidência de broncopneumonia foi semelhante em animais suplementados ou não com acetato de DL- α -tocoferol.

Embora se tenha observado menor incidência de broncopneumonia grave e menor número de óbitos no grupo suplementado, os resultados não foram significativos.

A recuperação de bezerros após o término da antibioticoterapia foi semelhante nos dois grupos estudados.

Embora se tenha observado recuperação mais rápida em animais não suplementados com acetato de DL- α -tocoferol, os resultados não foram estatisticamente significativos.

A citologia do lavado traqueobrônquico de bezerros saudáveis com idade inferior a dois dias deve ser alvo de novas pesquisas, para que se possa determinar o padrão citológico do lavado traqueobrônquico de bezerros desta faixa etária.

8. REFERÊNCIAS:

ALLEN, J.W.; VIEL, L.; BATEMAN, K.G.; ROSENDAL, S.; SHEWEN, P. Cytological findings in bronchoalveolar lavage fluid from feedlot calves: associations with pulmonary microbial flora. **Can. J. Vet. Res.**, v.56, p.122-126, 1992.

ANDRADE, S.F. **Manual de terapêutica veterinária**. 2º ed. São Paulo: Roca, 2002. 697p.

ANDREWS, A.H., READ, D.J. A comparison of disease in calves. I. A method of disease recording and its use under different system of feeding. II. Effect of different management and feeding system on one farm. **Brit. Vet. J.**, v.139, p.423-439, 1983.

ANDREWS, A. H.; LYONS, T. P. Colostrum - part of nature's survival kit. Biotechnology in the feed industry. In: SYMPOSIUM OF ALTECH, 6., 1990, Nicholasville. **Proceedings...** Nicholasville: Altech Technical Publication, p. 277-293, 1990.

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.

BARROS, H.M., LAMOUNIER, R.D., ARAÚJO, L.M., BENINTENDI, R.P. "Causa mortis" em bezerros *Bos indicus*, em regime de criação extensiva. **Bol. Indústr. 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 fluido bronco-alveolar de bezerros através de traqueocentece transcutânea. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v.6, p.41-49, 1994.

BESSER, T. E.; GAY, C. C.; PRITCHETT, L. Comparison of three methods of feeding colostrum to dairy calves. **J. Am. Vet. Med. Assoc.**, v. 198, n. 3, p. 419-422, 1991.

BORGES, A. S. **Avaliação da eficácia da administração de plasma, por via intravenosa, como tratamento da falência de transferência de imunidade passiva em bezerros da raça Holandesa**. 1997. 100 f. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo.

BREAZILE, J.E. The physiology of stress and its relationship to mechanisms of disease and therapeutics. **Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.**, v.4, n.3, p.441-480, 1988.

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

CHIRASE, N.K.; GREENE, L.W.; PURDY, C.W.; LOAN, R.W.; AUVERMANN, B.W.; PARKER, D.B.; WALBORG, E.F.JR.; STEVENSON, D.E.; XU, Y.; KLAUNIG, J.E. Effect of transport stress on respiratory disease, serum antioxidant status, and serum concentrations of lipid peroxidation biomarkers in beef cattle. **Am. J. Vet. Res.**, v.65, n.6, p.860-864, 2004.

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.

CORSTVET R.E., RUMMAGE J.A., HOMER J.T. Recovery of pulmonary alveolar macrophages from nonanesthetized calves. **Am. J. Vet. Res.**, v.43, p. 2253-4, 1982.

COSTA, J.N. **Leucograma, metabolismo oxidativo dos neutrófilos, proteinograma e imunoglobulinas de bovinos da raça Holandesa (Bos taurus taurus): influência da idade e da suplementação com vitamina E (acetato de DL- α -tocoferol).** 2001. 192 f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu.

COSTA, J.N.; CASSETARI, M.L.; KOHAYAGAWA, A.; PEIXOTO, A.P. Biodisponibilidade sérica da vitamina E em bezerros após a aplicação intra-muscular do DL- α -tocoferol. **Arq. Inst. Biol.**, v.66, supl., p.149, 1999.

CRISMAN M.V.; HODGSON D.R.; BAYLY W.M.; LIGGITT H.D. Effects of transport on constituents of bronchoalveolar lavage fluid from horses. **Cornell Vet.**, v.82, p.233-246, 1992.

CURI, P.R. **Metodologia e análise da pesquisa em ciências biológicas.** Botucatu:Tipomic, 1997. 263p.

CURRE, M. **Endoskopische, tracheobronchiale kretzytologische und arterielle Blutgasuntersuchungen bei bronchopneumonie-kranken Rinder.** 1985. 179 f. Tese (Doutorado) – Hannover.

DAVIDSON, J.N.; YANCEY, S. P.; CAMPBELL, S. G.; WARNER, R. G. Relationship between serum immunoglobulin values and incidence of respiratory disease in calves. **J. Vet. Med. Assoc.**, v. 179, n. 7, p. 708-710, 1981.

DERKSEN, F.J.; BROWN, C.M.; SONEA, I.; DARIEN, B.J; ROBINSON, N.E. Comparison of transtracheal aspirate and bronchoalveolar lavage cytology in 50 horses with chronic lung disease. **Equine Vet. J.**, v.21, p.23-26, 1989.

DIRKSEN, G., GRÜNDER, H.D., STÖBER, M. **Exame clínico dos bovinos**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1993, 419p.

EICHER, S.D.; MORRIL, J.L.; BLECHA, F.; CHITKO-MCKOW, C.G.; ANDERSON, N.V.; HIGGINS, J.J. Leucocyte functions of young dairy calves fed milk replacers supplemented with vitamin A and E. **J. Dairy Sci.**, v.77, p.1399-1407, 1994.

FOGARTY, U.; QUINN, P.J; HANNAN, J. Bronchopulmonary lavage in the calf - a new technique. **Ir. Vet. J.**, v.37, p.35-38, 1983.

GARDNER, B.A.; DOLEZAL, H.G.; BRYANT, L.K.; OWENS, F.N.; NELSON, J.L.; SCHUTTE, B.R.; SMITH, R.A. Health of finishing steers: effects, on performance, carcass traits and meat tenderness. **Anim. Sci. Res. Rep.**, p.37-45, 1998.

GOLUB, M.S.; GERSHWIN, M.E. Stress – induced immunomodulation: what is it, if it is? In: MOBERG, G.P. **Animal Stress**. Bethesda: American Physiological Society, 1985.

GONÇALVES, R.C. **Estudo da flora traqueobrônquica em bezerros clinicamente sadios e portadores de pneumonia, na região de Botucatu - SP**.1987. 44f. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu.

GONÇALVES, R.C.; KUCHEMBUCK, M.R.; ALMEIDA,C.T. Lavagem traqueobrônquica por traqueocentese em bovinos. **Vet. Zootec.**, v.2, p.17-25, 1990.

GONÇALVES, R.C. **Estudo clínico e citológico em bezerros clinicamente sadios e portadores de broncopneumonia moderada a grave**. 1997. 144f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina, Universidade Estadual Paulista, Botucatu.

GONÇALVES, R.C., LISBOA, J.A.N., SOUZA, M.V., ALMEIDA, C.T, KUCHEMBUCK, M.R.G., CHIACCHIO, S.B. Aspectos clínicos e epidemiológicos da

broncopneumonia dos bezerros em Botucatu, SP. **Rev. Bras. Ciência Vet.**, v.7, p.144-147, 2000a.

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.; CURI, P.R.; CHIACCHIO, S.B., ALMEIDA, C.T., BORGES, A.S. Diferenciação clínica da broncopneumonia moderada e grave em bezerros / Clinical differentiation of bronchopneumonia severity in calves. **Rev. Ciênc. Rural**, v. 31, p.263-269, 2001.

GORMAN, N. T.; HALLIWELL, R. E. W. **Veterinary Clinical Immunology**. W. B. Saunders, 1989. 548p.

GRIFFIN, D. Feedlot disease losses. **Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.**, Philadelphia, v.1, n.2, p. 289-310, 1985.

HADEN, J.W. Neuroendocrin modulation of the thymus-dependent immune system. **Ann. NY Acad. Sci.**, v.496, p.39, 1987.

HAN, H.; STOVALL, T.C.; WAGNER, J.T.; GILL, D.R. Impact of AgradoTM on tocopherol metabolism by transport-stressed heifers. **Anim. Sci. Res. Rep.**, p.119-125, 1999.

HIDIROGLOU, M.; HOFFMANN, I.; JENKINS, K.J. Selenium distribution and radiotocopherol metabolism in the pregnant ewe and fetal lamb. **Can. J. Physiol. Pharmacol.**, v.47, p.953, 1969.

HIDIROGLOU, N.; FLAME, L.A.; MCDOWELL, L.F. Blood plasma and tissue concentration of vitamin E in beef cattle influenced by supplementation of various tocopherol compounds. **J. Anim. Sci.**, v. 66, p.3227, 1988.

HOGAN, J.S.; SMITH, K.L.; WEISS, W.P.; TODHUNTER, D.A.; SHOCKEY, W.L. Relationships among vitamin E, selenium and bovine neutrophils. **J. Dairy Sci.**, v.73, p.2372-2378, 1990.

INGOLD, K.U.; WEBB, A.C.; WITTER, D. **Arch. Biochem. Biophys.** v. 259, p. 224-225, 1987.

JAIN, N.C. **Schalm's veterinary hematology**. 4 ed. Philadelphia: Lea & Febinger, 1986. 1221p.

JAIN, N.C. **Essentials of veterinary hematology**. Philadelphia: Lea & Febinger, 1993. 417p.

JONES, T.C.; HUNT, R.D.; KING, N.W. **Veterinary pathology**. 6.ed. Baltimore: Lipping Willians e Wilkins, 1997.

KIMMAN, T.G.; ZIMMER, G.M.; STRAVER, P.J.; LEEUW, P.W. Diagnosis of bovine respiratory syncytial virus infections improved by virus detection in lung lavage samples. **Am. J. Vet. Res.**, v.47, p.143-147, 1986.

KOIVUNEN A.L.; MAISI, P.; FANG, W.; SANDHOLM, M. Inhibition of the protease activity in tracheobronchial aspirates of horses with chronic obstructive pulmonary disease. **Am. J. Vet. Res.**, v.57 , p.603-607, 1996.

LANGHOLZ, H. J.; SCHMIDT, F. W.; DERENBACH, J.; KIM, J. W. Suckling behaviour, immunoglobulin status and weaning performance in suckler cows. **World Rev. Anim. Prod.**, v. 23, n. 2, p. 33-38, 1987.

LAPOINTE, J.M.; LAVOIE, J.P.; VRINS, A.A. Effects of triamcinolone acetone on pulmonary function and bronchoalveolar lavage cytologic features in horses with chronic obstructive pulmonary disease. **Am. J Vet. Res.**, v.54, p.1310-1316, 1993.

LAY, J.C.; SLAUSON, D.O.; CASTLEMAN, W.L. Volume-controlled bronchopulmonary lavage of normal and pneumonic calves. **Vet. Pathol.**, v.23, p. 673-680, 1986.

LE JAN, C.; EL AZHARY, M.; GALLINA, M. Characterization of cells from the respiratory tract of calves. **Ann. Rech. Vet.**, v.11, n.3, p. 301-306, 1980.

LEDWOZYW, A.; STOLARCZYK, H. The involvement of polymorphonuclear leukocytes in the pathogenesis of bronchopneumonia in calves II. Granulocyte-induced changes in erythrocyte membrane phospholipid topology. **Acta Vet. Hung.**, v.39 , n.3-4, p.187-195, 1991a.

LEDWOZYW, A.; STOLARCZYK, H. The involvement of polymorphonuclear leukocytes in the pathogenesis of bronchopneumonia in calves IV. Myeloperoxidase activity. **Acta Vet. Hung.**, v.39, n.3-4, p.203-213, 1991b.

LEKEUX, P. Effect of enrofloxacin therapy on shipping fever pneumonia in feedlot cattle. **Vet. Rec.**, v.123, p.205-207, 1988.

LEKEUX, P. Síndrome respiratória bovina: uma perspectiva européia. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE DOENÇA RESPIRATÓRIA BOVINA: NOVAS DESCOBERTAS TERAPÊUTICAS. CONGRESSO MUNDIAL DE BUIATRIA, 18., 1994. Bolonha. **Resumos...** Bolonha: Schering Plough, 1994, p. 7-13.

LIGGITT, H. D. Defense mechanisms in the bovine lung. **Vet. Clin. North Am.**, v.1, p.347-366, 1985.

LOPES, S.T. **Perfil leucocitário, atividade funcional neutrofílica, medula óssea, fibrinogênio e proteínas plasmáticas totais em cabras com mastite induzida experimentalmente por *Staphylococcus aureus* e suplementadas com vitamina E (acetato DL- α -tocoferol).** 2001. 159f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu.

MACHLIN, L.F. Vitamin E. In: MACHLIN, L.J. (Ed). **Handbook of vitamins.** New York: Marcel Dekker, 1991. p. 99-144.

MCCOY, G.C.; RENEAU, J.K.; HUNTER, A.G.; WILLIAMS, J.B. Effects of diet and time on blood serum proteins in the newborn calf. **J. Dairy Sci.**, v.53, n.3, p.358-362, 1970.

MCGUIRE, T. C.; ADAMS, D. S. Failure of colostral immunoglobulin transfer to calves: prevalence and diagnosis. **Compend. Contin. Educ. Vet. Pract.**, v. 4, n. 1, p. S35-S40, 1982.

MAIR, T.S.; STOKES, C.R.; BOURNE, F.J. Cellular content of secretions obtained by lavage from different levels of the equine respiratory tract. **Equine Vet. J.**, v.19, p.458-462, 1987.

MANSMANN, R.A.; KNIGHT, H.D. Transtracheal aspiration in the horse. **J. Am. Vet. Med. Assoc.**, v.160, p.1527, 1972.

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.

MEYDANI, S.N.; HAYEK, M.G. Vitamin E and the aging immune response. In: ANIMAL VETERINARY MEDICAL FORUM, 15., 1197, Florida. **Proceedings...**Florida: American College of Veterinary, 1997. p.114 -115.

NAYLOR, J.M.; CLARK, E.G.; CLAYTON, H.M., Chronic obstructive pulmonary disease: usefulness of clinical signs, bronchoalveolar lavage, and lung biopsy as diagnostic and prognostic aids. **Can. Vet. J.**, v.33, p.591-598, 1992.

NJERU, C.A.; MCDOWELL, L.R.; WILKINSON, N.S.; LINDA, S.B.; WILLIAMS, S.N. Pre and postpartum supplemental DL- α -tocopheryl acetate effects on placental and mammary vitamin E transfer in sheep. **J. Anim. Sci.**, v.72, p.1636, 1994.

NOCKELS, C.F. Antioxidants improve cattle immunity following stress. **Anim. Feed Sci. Tech.**, v.62, p.59-68, 1991.

NRC. **Nutrient requirements of beef cattle**. 6 ed. rev. Washington: National Academy Press, 1984.

OGILVIE, T.H. **Medicina interna de grandes animais**. Porto Alegre: Artmed, 2000. 528p.

PEIXOTO, A.P. **Eritrograma, metabolismo oxidativo, fragilidade osmótica de eritrócitos e níveis séricos da vitamina E de bovinos da raça holandesa (*Bos taurus taurus*), do nascimento até um ano de idade, tratado e não tratados com acetato de DL- α -tocoferol**. 2000. 117f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu.

PEIXOTO, A.P.C.; COSTA, J.N.; KOHAYAGAWA, A.; TAKAHIRA, R.K.; SAITO, M.E. Hemograma e metabolismo oxidativo de neutrófilos de bovinos da raça holandesa preta e branca – Influência dos valores etários. **Rev. Bras. Saúde Prod. Anim.**, v.3, n.1, p.16-20, 2002.

PERINO, L. J.; SUTHERLAND, R. L.; WOOLLEN, N. E. Serum gamma-glutamyltransferase activity and protein concentration at birth and after suckling in calves with adequate and inadequate passive transfer of immunoglobulin G. **Am. J. Vet. Res.**, v. 54, n. 1, p. 56-59. 1993.

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.

PRINGLE, J.K.; VIEL, L.; SHEWEN, P.E.; WILLOUGHBY, R.A.; MARTIN, S.W.; VALLI, V.E.O. Bronchoalveolar lavage of cranial and caudal lung regions in selected normal calves: cellular, microbiological, immunoglobulin, serological and histological variables. **Can. J. Vet. Res.**, v.52, p.239-248, 1988.

RABELING, B., REHAGE, J., DÖPFER, D., SCHOLZ, H.. Ultrasonografic findings in calves with respiratory disease. **Vet. Record**, v.143, p.468-71, 1998.

RABELLO, S.S.A.; LIMA JUNIOR, A.D.; CASTRO, R.S.; TABOSA, J.H.C. Sazonalidade da broncopneumonia em bezerros da microregião de Garanhuns, Pernambuco (1983-1991). **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v.48, p.19-26, 1996.

RADOSTITIS, M.; GAY, C.C.; BLOOD, D.C. **Veterinary medicine: a textbook of diseases of cattle, sheep, pigs, goats and horses**. Londres: Saunders Company, 2000. 1877p.

RADOSTITIS, O.M.; BLOOD, D.C.; GAY, C.C.; ARUNDEL, J.H.; IKEDE, B.O.; MCKENZIE, R.; TREMBLAY, R.R.M. **Veterinary medicine: a textbook of diseases of cattle, sheep, pigs, goats and horses**. 8. ed. London: Baillière Tindall, 1995. 1763 p.

REA, D. E.; TYLER, J. W.; HANCOCK, D. D.; BESSER, T. E.; WILSON, L.; KRYTENBERG, D. S.; SANDERS, S. G. Prediction of calf mortality by use of tests for passive transfer of colostral immunoglobulin. **J. Am. Vet. Med. Assoc.**, v. 208, n. 12, p. 2047-2049, 1996.

REBAR, A.H.; HAWKINS, E.C.; DENICOLA, D.B. Cytologic evaluation of the respiratory tract. **Vet. Clin. North Am.: Small Anim. Pract.**, v.22, p.1065-1085, 1992.

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

REBHUN, W.C. **Doenças do gado leiteiro**. Roca: São Paulo, 2000. p.86-110.

REDDY, P.G.; MORRIL, J.L.; DAYTON, A.; FREY, R.A. Effect of supplemental vitamin E on the immune system of calves. **J. Dairy Sci.**, v.69, p.164-171, 1986.

REDDY, P.G.; MORRIL, J.L.; DAYTON, A.; FREY, R.A.; MORRIL, M.B.; MINOCHA, H.C.; GALITZER, S.J.; DAYTON, A. Effect of supplemental vitamin E on the performance metabolic profiles of dairy calves. **J. Dairy Sci.**, v.68, p.2259-2266, 1985.

RIBEIRO, M.F.B.; BELÉM, P.A.D.; PARARROYO, J.H.; DE FARIA, J.E. Hipogamaglobulinemia em bezerros. **Arq. Bras. Med. Vet. e Zootec**, v.35, n.4, p.537-546, 1983.

RICE, D.; KENNEDY, S. Vitamin E: function and effects of deficiency. **Br. Vet. J.**, v.144, p.482-495, 1988.

RIDDERSTRÅLE, Y.; PERSSON, E.; DANTZER, V.; LEISER, R. Carbonic anhydrase activity in different placenta types: a comparative study of pig, horse, cow, mink, rat and human. **Microsc. Res. Tech.**, v.38, n.1-2, p.115-124, 1997.

ROSSIER, Y.; SWEENEY, C.R.; ZIEMER, E.L. Bronchoalveolar lavage fluid cytologic findings in horses with pneumonia or pleuropneumonia. **J. Am. Vet. Med. Assoc.**, v.198, p.1001-1004, 1991.

ROSZEL, J.F.; FREEMAN, K.P.; SLUSHER, S.H. Equine pulmonary cytology. In: ANNUAL CONVENTION OF THE AMERICAN ASSOCIATION OF EQUINE PRACTITIONERS. 31., 1985, Toronto. **Proceedings... American Association of Equine Practitioners**, 1986. p.171-181,.

SANDERSON, M.W.; DARGATZ, D.A. Risk factors for high herd calf morbidity risk from birth to weaning in beef herds in the U.S.A. **Prevent. Vet. Med.**, v.44, n.1-2, p.97-106, 2000.

SANTRA, A.K.; PACHALAG,S.V. Mortality pattern in crossbreed calves. **Indian J. Anim. Sci.**, v.66, n. 3, p.237-238, 1996.

SCHEER,M. Studies on the antibacterial activity of Baytril. **Vet. Med. Rev.**, v.2, p.90-9, 1987.

SCOTT, P.R. Field study of undifferentiated respiratory disease in housed beef calves. **Vet. Rec.**, v.134, p.325-327, 1994.

SELIM, A. S.; SMITH. B. P.; CULLOR, J. S.; BLANCHARD, P.; FARVER, T. B.; HOFFMAN, R.; DILLING, G.; RODEN, L.; WILGENBURG, B. Serum immunoglobulins in calves: Their effects and two easy, reliable means of measurement. **Vet.. Med.**, v. 90, n. 4, p. 387-404, 1995.

SERBINOVA, E.A.; TSUCHIYA, M.; GOTH, S. Antioxidant action of α -tocopherol and α -tocotrienol in membranes. In: PACKER, L., FUCHS, J(Eds.) **Vitamin E in health and disease**. New York: Marcel Dekker, 1993. p.235-43.

SMITH, B.P. **Tratado de medicina interna de grandes animais**: moléstias de eqüinos, bovinos, ovinos e caprinos. São Paulo: Manole, 1993.

SMITH, J.A. Ruminant respiratory system. In: SMITH, B.P. (Ed.). **Large Animal Internal Medicine**. St. Louis: CV Mosby, 2002. p.560-618.

STÖBER, M. Aparelho respiratório. In: DIRKSEN, G., GRÜNDER, H.D., STÖBER, M. **Exame clínico dos bovinos**. 3.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1993. p.139-165.

STOCKHAM, S.L. Anemia associated with bacterial and viral infections In: FELDMAN, B.; ZINKL, J.; JAIN, N.C. **Schalm's veterinary hematology**. 5.ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2000. cap.28, p.163-168.

STOVALL, T.C.; GILL, G.R.; HAN, H.; WAGNER, J.T.; BALL, R.L. Effect of Agradado on the health and performance of transport-stressed heifer calves. **Anim. Sci. Res. Rep.** v.11, p. 176-181, 1999.

STOVALL, T.C.; GILL, D.R.; SMITH, R.A.; BALL, R.L. Impact of bovine respiratory disease during the receiving period on feedlot performance and carcass traits. **Anim. Sci. Res. Rep.**, p.82-86, 2000.

SUARNA, C.; FOOD, R.L.; DEAN, R.T. **Biochem. Biophys. Acta**, 1993. 1166:163-70.

SWEENEY, C.R.; SMITH, J.A. Diseases of the respiratory system. In: SMITH, B.P. **Large animal internal medicine**. St Louis: CV Mosby, 1990. cap. 29. p.489.

SWEENEY, C.R.; ROSSIER, Y.; ZIEMER, E.L.; LINDBORG, S. Effects of lung site and fluid volume on results of bronchoalveolar lavage fluid analysis in horses. **Am. J. Vet. Res.**, v.53, p.1376-1379, 1992.

TAPPEL, A.L. **Vitamin horm.** v.20, p.493-510, 1962.

TAYLOR, J.A. Leukocyte responses in ruminants. In: FELDMAN, B., ZINKL, J., JAIN, N.C. **Schalm's veterinary hematology**. 5. ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2000. cap.57, p.391-404.

TIZZARD, I.R. **Imunologia veterinária**: uma introdução. 5. ed. São Paulo: Rocca, 1998. 545p.

VAN SAUM, R.J.; HERDT, T.H.; STOWE, H.D. Maternal and fetal selenium concentrations and their interrelationships in dairy cattle. **J. Nutr.** v.119, p.1156- , 1989.

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., LEIPOLD, H.O.W. Chronic bronchopneumonia in cattle. **Bov. Pract.**, v.55, p.55-62, 1977.

VIRTALA, A.K. Epidemiologic and pathologic characteristics of respiratory tract disease in dairy heifers during the first three months of life. **J. Med. Assoc.**, v.208, p.2035, 1996.

WALKER, R.D.; HOPKINS, F.M.; SCHULTZ, T.W.; MCCracken, M.D.; MOORE, R.N. Changes in leukocyte populations in pulmonary lavage fluids of calves after inhalation of *Pasteurella haemolytica*. **Am. J. Vet. Res.**, v.46, p.2429-2433, 1985.

WANER, T.; HARRUS, S. Anemia of inflammatory disease In: FELDMAN, B., ZINKL, J.; JAIN, N.C. **Schalm's veterinary hematology**. 5. ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2000. cap.35, p. 205-209.

WELKER, B. Acquired diseases of the heart. In: HOWARD, S. **Current Veterinary Therapy: food animal Practice**. 4 ed. London: Saunders Company, 1999. p.478-82.

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.47-99.

WILSON, J.H. The art of physical diagnosis. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.*, v.8, p.169-176, 1992.

WHITE, D. G. Colostral supplementation in ruminants. **Compend. Contin. Educ. Vet. Pract.**, v. 15, n. 2, p. 335-342, 1993.

WILKIE, B.N.; MARKHAN, R.J.F. Bronchoalveolar washings cells and immunoglobulins of clinically normal calves. **Am. J. Vet. Res.**, v.42, p.241-243, 1981.

WILLIAMS, M.R.; MAXWELL, D. A. G.; SPOONER, R. L. Quantitative studies on bovine immunoglobulins, normal plasma levels of IgG₂, IgG₁, IgM e IgA. **Res. Vet. Sci.**, v.18, n. 3, p. 314-321, 1975.

WITTUM, T.E.; PERINO, L.J. Passive immune status at postpartum hour 24 and long-term health and performance of calves. **Am. J. Vet. Res.**, v.56, n.9, p.1149-1154, 1995.

WITTUM, T.E.; YOUNG, C.R.; STANKER, L.H.; GRIFFIN, D.D.; PERINO, L.J.; LITTLEDIKE, E.T. Haptoglobin response to clinical respiratory tract disease in feedlot cattle. **Am. J. Vet. Res.**, v.57, p.646-649, 1996.

WOODING, F.B. Current topic: the synepitheliochorial placenta of ruminants: binucleate cell fusions and hormone production. **Placenta**, v.13, n.2, p.101-113, 1992.

ZINKL, J.G. The Lower respiratory tract. In: COWELL, R.L., TYLER, R.D. **Cytology and hematology of the horse**. California: American Veterinary Publications, 1992. cap.5, p.242.