

## Influência da suplementação de vitamina E na profilaxia e tratamento da broncopneumonia moderada e grave em bezerros<sup>1</sup>

Roberto C. Gonçalves<sup>2</sup>, Ana E.A. Rocha<sup>2</sup>, Andreza A. da Silva<sup>2\*</sup>,  
Regina K. Takahira<sup>2</sup> e Simone B. Chiacchio<sup>2</sup>

**ABSTRACT.-** Gonçalves R.C., Rocha A.E.A., Silva A.A., Takahira R.K. & Chiacchio S.B. 2011. [Influence of vitamin E on prophylaxis and treatment of moderate and severe bronchopneumonia in calves.] Influência da suplementação de vitamina E na profilaxia e tratamento da broncopneumonia moderada e grave em bezerros. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 31(2):127-135. Departamento de Clínica Veterinária, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho (Unesp), Rubião Júnior s/n, Botucatu, SP 18618-000, Brazil. E-mail: [andrezamedvet@yahoo.com.br](mailto:andrezamedvet@yahoo.com.br)

The natural occurrence of bronchopneumonia in calves and the effect of DL- $\alpha$ -tocopherol in the prophylaxis and treatment of this disease is studied. We evaluated 60 male calves, aged up to 10 days, divided into two groups: GSV (group without vitamin) and GCV (group with vitamin). Supplementation with a single dose of 4,500 IU of DL- $\alpha$ -tocopherol administered intramuscularly (IM) was preceded by clinical examination, complete blood count (CBC), determination of serum proteins, globulins, gammaglutamyltransferase and tracheobronchial lavage cytology (D0) to check sanity and homogenization of the groups. The animals were kept two by two in individual 2.40 m<sup>2</sup> stalls, where they remained until day 21 (D0 to D21). The animals were examined daily and, in the presence of clinical signs of bronchopneumonia (DX), taken from stalls, evaluated by CBC and tracheobronchial lavage cytology, and treated with enrofloxacin (5 mg/kg, IM). During the treatment, clinical examination was performed daily by the CBC and tracheobronchial lavage cytology repeated one week after the end of treatment (DY). In healthy animals, CBC and tracheobronchial lavage cytology were repeated on the last day of the experiment (D21). No significant difference for the blood variables gammaglutamyltransferase (p=0.09), serum protein (p=0.27) and globulin (p=0.10) and the age of animals (p=0.15) were observed in both of groups. Animals in group GSV and GCV took an average of 11 and 12 days for get sick, respectively. However, no statistical difference between was observed in both groups (p=0.68). In 34 (56.66%) animals were diagnosed bronchopneumonia, and 17 of these calves (50%) belonged to group GCV and 17 (50%) to group GSV. With respect to clinical signs, there was no significant difference between groups in any of the times studied. Out of 34 animals which were affected, 73.52% died of the disease, 64.7% were from GCV group and 82.35% were from GSV group. Cytology of tracheobronchial lavage showed no difference between groups in any of the times studied (D0, DX, DY and D21). We conclude that supplementation with vitamin E had no influence in the prophylaxis and Treatment of bronchopneumonia in calves.

INDEX TERMS: Bronchopneumonia, vitamin E, tracheobronchial wash, clinical examination, calves.

<sup>1</sup> Recebido em 17 de maio de 2010.

Aceito para publicação em 14 de setembro de 2010.

<sup>2</sup> Departamento de Clínica Veterinária, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ), Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho (Unesp), Campus de Botucatu, Distrito de Rubião Júnior s/n, Botucatu, SP 18618-000, Brasil. \*Autor para correspondência: [andrezamedvet@yahoo.com.br](mailto:andrezamedvet@yahoo.com.br)

**RESUMO.-** Estudou-se a broncopneumonia de ocorrência natural em bezerros e a influência da administração de acetato de DL- $\alpha$ -tocoferol na profilaxia e tratamento desta enfermidade. Foram avaliados 60 bezerros machos, com idade máxima de 10 dias, divididos em dois grupos experimentais: **GSV** (grupo sem vitamina) e **GCV** (grupo com vitamina). A suplementação com dose única de 4.500 UI de acetato de DL- $\alpha$ -

tocoferol por via intramuscular (IM) foi precedida por exame físico, perfil hematológico, determinação de proteínas séricas, globulinas, gamaglutamiltransferase e citologia do lavado traqueobrônquico (D0) para verificar a sanidade e homogeneização dos grupos. Os bezerros foram mantidos em bezerreiro e distribuídos aleatoriamente, 2 a 2 em baias individuais de 2,40m<sup>2</sup>, onde permaneceram até o 21<sup>o</sup> dia (D0 ao D21). Foram avaliados por exame físico diário e, na presença de sinais clínicos indicativos de broncopneumonia (DX), retirados do bezerreiro, avaliados por hemograma e citologia do lavado traqueobrônquico, e tratados com enrofloxacin (5mg/kg, IM). Durante o tratamento, o exame físico foi realizado diariamente, e o hemograma e a citologia do lavado traqueobrônquico repetidos uma semana após seu término (DY). Nos bezerros sadios foram repetidos hemograma e citologia do lavado traqueobrônquico, no último dia (D21) do experimento. Não houve diferença significativa quanto às variáveis gamaglutamiltransferase ( $p=0,09$ ), proteínas séricas ( $p=0,27$ ) e globulinas ( $p=0,10$ ) e a idade dos bezerros ( $p=0,15$ ) entre os grupos. Os bezerros do grupo GSV e GCV levaram em média 11 e 12 dias para adoecerem, respectivamente. Contudo, não houve diferença estatística significativa entre os grupos ( $p=0,68$ ). Em 34 bezerros (56,66%) foi diagnosticado broncopneumonia, sendo que 17 destes bezerros (50%) pertenciam ao grupo GCV e 17 (50%) ao grupo GSV. Com relação aos sinais clínicos, não houve diferença significativa entre os grupos em nenhum dos momentos estudados. Dos 34 bezerros que adoeceram 73,52% morreram pela doença, sendo 64,7% do GCV e 82,35% do GSV. A citologia do lavado traqueobrônquico não apresentou diferença significativa entre os grupos em nenhum dos momentos estudados (D0, DX, DY e D21). A suplementação com vitamina E não teve influência na profilaxia e no tratamento de broncopneumonia de bezerros.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Broncopneumonia, vitamina E, lavado traqueobrônquico, exame clínico bezerros.

## INTRODUÇÃO

O sistema imunológico do neonato bovino responde de maneira pouco eficaz às agressões do meio ambiente (Tizzard 2002, Costa et al. 2004). Esta espécie apresenta particularidades anatômicas e fisiológicas no trato respiratório que a torna especialmente sensível às doenças pulmonares (Mosier 1997, Radostits et al. 2002). Os microorganismos patogênicos podem atingir os pulmões principalmente pelos brônquios e pela corrente sanguínea (Radostits et al. 2002).

Doença de causa multifatorial, a broncopneumonia em bezerros requer a combinação ativa de um ou mais agentes infecciosos e do meio ambiente com o hospedeiro para que possa se desenvolver (Bowland & Shewen 2000). 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 bovinos com falha na transferência passiva de imunidade (Davidson et al. 1981, Borges 1997) e é responsável por grandes perdas econômicas em bezerros confinados (Smith 2002). Durante o processo inflamató-

rio 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 sanguíneos (Ledwozyw & Stolarczyk 1991a,b, Ledwozyw & Stolarczyk 1992, Mills & Higgins 1997, Chirase et al. 2004, Al-Qudah 2009). 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- $\alpha$ -tocoferol, correlacionado com o seu potencial de prevenção de moléstias degenerativas, revertendo ou prevenindo deficiências específicas (Machlin 1991). Ela 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 ela raramente apresenta efeitos tóxicos (Rice & Kennedy 1988, Comhair & Erzurum 2002).

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, preveni-la desde a fase de bezerros (Shahriar et al. 2002, Snowden et al. 2006). 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 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.

Neste contexto, o objetivo deste estudo foi avaliar a influência da suplementação de vitamina E, na forma de acetato de DL- $\alpha$ -tocoferol, em bezerros recém-nascidos, criados em condições ambientais de risco para broncopneumonia, na profilaxia, gravidade do processo clínico e tratamento desta enfermidade.

## MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados 60 bezerros recém-nascidos, machos e saudáveis, nascidos de parto normal, com idade máxima de 10 dias, que receberam colostro nas primeiras 12 horas pós-parto e provenientes de propriedades rurais da região de Botucatu-SP. Este trabalho foi autorizado pelo Conselho de Ética em Experimentação Animal da FMVZ-Unesp, Botucatu (Protocolo nº 022/2003, CEEA).

Para que não fossem incluídos no estudo animais doentes ou com suspeita de falha na transferência passiva, foi realizado em todos os bezerros exame físico de rotina e colheita de 5 mL de sangue, por venopunção da jugular, em tubos de colheita a vácuo com gel retrator de coágulo. As amostras de sangue foram encaminhadas ao laboratório de Patologia Clínica Veteri-

nária da FMVZ-Unesp/Botucatu para dosagem sérica de gamaglutamil tranferase (GGT), proteínas totais (PT), albumina (ALB) e globulinas (GB) (Feldman et al. 2000). Os animais que apresentaram resultados indicativos de ingestão de colostro e adequada transferência de imunoglobulinas, conforme valores propostos por Perino et al. (1993), foram incluídos no estudo. Estes animais foram então encaminhados ao Hospital Veterinário da FMVZ-Unesp/Botucatu, identificados, pesados, submetidos à desinfecção umbilical com solução de iodo a 2% e desverminados (200mcg/kg de ivermectina, Ivomec<sup>®</sup>, Merial).

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 3m<sup>2</sup> cada. Os bezerros foram distribuídos aleatoriamente, dois a dois, em baias individuais de 1,20m de largura por 2,00m de comprimento. Desta maneira, extrapolou-se a capacidade do bezerreiro, de seis para doze animais, condição de risco para broncopneumonia. As baias eram forradas com feno, lavadas diariamente com água sob 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 bezerros (Terneron<sup>®</sup>, Avesul). O aleitamento era realizado duas vezes por dia sendo fornecidos 2 litros do alimento, em mamadeira, a cada período. A quantidade de leite fornecida aumentava gradualmente, de acordo com a idade e peso do bezerro. Água, ração inicial e capim triturado foram oferecidos *ad libitum* aos animais durante todo o período de confinamento.

Foram constituídos dois grupos de 30 bezerros, distribuídos aleatoriamente por sorteio, sendo o grupo GSV formado pelos animais que não receberam suplementação de vitamina E e o grupo GCV pelos animais que receberam suplementação de vitamina E (acetato de DL-a-tocoferol, Monovin E<sup>®</sup>, Bravet) na dose de 4.500 UI, por via intramuscular, em dose única no primeiro dia de experimento (D0). A dose administrada foi baseada no estudo realizado por Hidiroglou e colaboradores (1988).

O período experimental teve duração de 21 dias. Independentemente do grupo ao qual pertenciam, todos os animais foram avaliados no primeiro dia (D0) por exame físico, hemograma e citologia do lavado traqueobrônquico. A avaliação dos animais por exame físico prosseguiu diariamente e, na presença de sinais clínicos indicativos de broncopneumonia (DX), os bezerros foram imediatamente retirados do confinamento, avaliados novamente por hemograma e citologia do lavado traqueobrônquico e passaram a receber antibioticoterapia, com administração de enrofloxacin a 10% na dose de 5mg/kg via intramuscular por um período de cinco dias (Enrofloxacin a 10%, Flotril<sup>®</sup>, Schering-Plough). 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 morreram no decorrer do estudo (DZ) foram submetidos à necropsia no Serviço de Anatomia Patológica do Departamento de Clínica Veterinária da FMVZ-Unesp/Botucatu, para avaliação macroscópica das lesões pulmonares e confirmação do diagnóstico de broncopneumonia.

O exame físico foi realizado utilizando-se protocolo adota-

do por Viana (2003) e critério clínico de Gonçalves (2004) e os resultados anotados em fichas individuais. Os casos de broncopneumonia foram classificados em moderada e grave de acordo com a presença da associação dos sinais clínicos proposta por Gonçalves et al. (2001).

Para o hemograma foram colhidos por punção da veia jugular, 5mL de sangue em tubos de colheita a vácuo contendo EDTA. Após a colheita, os tubos foram homogeneizados e encaminhados ao laboratório de Patologia Clínica Veterinária da FMVZ-Unesp/Botucatu. As variáveis avaliadas no hemograma foram: hemácias, hemoglobina, volume globular, fibrinogênio, plaquetas, leucócitos totais, mielócitos, metamielócitos, bastonetes, neutrófilos segmentados, linfócitos, eosinófilos, basófilos e monócitos (Feldman et al. 2000).

Para a obtenção do lavado traqueobrônquico a sondagem nasotraqueal seguiu o preconizado por Gonçalves et al. (2004) e a colheita da amostra foi realizada segundo Gonçalves et al. (1990). Para a contagem total de células, o lavado traqueobrônquico foi homogeneizado em agitador de tubos (Modelo AT 56, Phoenix). 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 descrita por Jain (1986) para contagem total de leucócitos. Para a contagem diferencial, as amostras de lavado traqueobrônquico foram submetidas à citocentrifugação (Modelo 2000D, Revan) por 5 minutos a 189 x G, e coradas pelos métodos de Panótico e Rosenfeld. As células avaliadas foram: células epiteliais, macrófagos alveolares, neutrófilos, linfócitos e eosinófilos. 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.

Para a análise estatística dos resultados 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.

## RESULTADOS

Com o objetivo de avaliar a homogeneidade dos animais no dia inicial do experimento (D0), as variáveis hematológicas utilizadas para determinar a eficiência da transferência passiva de imunidade, acrescido da idade dos animais, foram comparadas entre os grupos GCV e GSV. Os resultados revelaram não haver diferença estatisticamente significativa quanto às variáveis hematológicas GGT ( $p=0,09$ ), PTS ( $p=0,27$ ), ALB ( $p=0,11$ ) e GB ( $p=0,10$ ) e a idade dos animais ( $p=0,15$ ) entre os grupos.

Os animais do grupo GSV levaram em média 11 dias para adoecerem, enquanto que os bezerros do grupo GCV levaram em média 12 dias até ficarem doentes. Apesar disso, não houve diferença estatística significativa entre os grupos com relação ao tempo que os animais demoraram para apresentar broncopneumonia ( $p=0,683$ ).

Dos 60 animais incluídos neste estudo 34 (34/60, 56,66%) foram diagnosticados como portadores de broncopneumonia, sendo que 17 destes bezerros (17/30, 56,66%) pertenciam ao grupo GCV e 17 (17/30, 56,66%) ao grupo GSV

( $p=1$ ). Dos 34 casos de broncopneumonia diagnosticados 20 (20/34, 58,82%) foram considerados de intensidade moderada, com 11 (11/20, 55%) episódios da doença ocorrendo no grupo GCV e 9 (9/20 - 45%) no grupo GSV. A broncopneumonia de intensidade grave foi observada em 14 casos da doença, sendo 6 (6/14, 42,85%) episódios no grupo GCV e 8 (8/14, 57,14%) casos no grupo GSV.

Os percentuais médios, desvios padrão e valores de  $p$  dos sinais clínicos observados nos animais com broncopneumonia moderada e grave, nos grupos GCV e GSV, no momento DX, estão descritos no Quadro 1. Com relação aos sinais clínicos, não houve diferença significativa entre os grupos em nenhum dos momentos estudados (DX, DY e D21) ( $p>0,05$ ). Entretanto, os sinais clínicos observados exclusivamente em animais com broncopneumonia grave foram mais freqüentes em bezerros do grupo GSV.

Dos 34 animais que adoeceram 25 (25/34, 73,52%) morreram devido à complicações decorrentes da broncopneumonia. O percentual de óbitos em relação aos animais que adoeceram em cada um dos grupos foi de 64,7% (11/17, 64,7%) no grupo GCV e de 82,35% (14/17, 82,35%) no grupo GSV ( $p=0,4384$ ). Entre os animais que morreram 14 (14/25, 56%) bezerros estavam acometidos por broncopneumonia de intensidade moderada, com 7 (7/14, 50%) episódios da doença ocorrendo no grupo GCV e 7 (7/14, 50%) casos no grupo GSV ( $p=0,6424$ ). Entre os animais acometidos por broncopneumonia de intensidade grave ocorreram, no total, 11 (11/25, 44%) mortes, sendo 4 (4/11, 36,36%) dessas mortes ocorridas no grupo GCV e 7 (7/11, 63,63%) no grupo GSV ( $p=0,5385$ ).

De acordo com os achados necroscópicos a principal *causa mortis* dos animais foi a insuficiência respiratória

(24/25, 96%), com 13 (13/24, 54,16%) casos ocorridos no grupo GSV e 11 (11/24, 45,83%) no grupo GCV. Apenas um (1/25, 4%) animal pertencente ao grupo GSV morreu devido a choque endotoxêmico.

Seis (6/34, 17,6%) e três (3/34, 8,82%) animais doentes se recuperaram após o tratamento com enrofloxacin no grupo GCV e GSV, respectivamente ( $p=0,4384$ ). Dos bezerros que sobreviveram após o tratamento no grupo GCV, quatro (4/6, 66,67%) eram portadores de broncopneumonia moderada e dois (2/6, 33,33%) estavam acometidos com broncopneumonia grave. Com relação ao grupo GSV, dois (2/37%) dos animais que se recuperaram após o tratamento apresentaram broncopneumonia moderada, enquanto que apenas um (1/3, 33,33%) foi acometido por broncopneumonia de intensidade grave.

A análise estatística do hemograma não revelou diferença significativa entre os grupos GCV e GSV para as variáveis hemácias, hemoglobina, volume globular, fibrinogênio, leucócitos totais, mielócitos, metamielócitos, bastonetes, eosinófilos, basófilos e monócitos em nenhum dos momentos avaliados (D0, DX, DY e D21). Houve diferença significativa entre os grupos no momento DY, avaliando-se percentual de neutrófilos segmentados ( $p=0,047$ ) e linfócitos ( $p=0,047$ ). Houve maior percentual de neutrófilo e menor de linfócitos no grupo GCV. Os percentuais médios, desvios padrão e valores de  $p$  encontrados para as variáveis do hemograma nos animais dos grupos GCV e GSV nos momentos D0 e D21 estão resumidos no Quadro 2. Os percentuais médios, desvios padrão e valores de  $p$  encontrados para as variáveis do hemograma nos animais dos grupos GCV e GSV com broncopneumonia moderada e grave, no momento DX, estão descritas no Quadro 3.

**Quadro 1. Freqüências, percentuais e valores de  $p$  dos sinais clínicos nos animais com broncopneumonia moderada e grave nos grupos GCV<sup>a</sup> e GSV<sup>b</sup> no momento DX<sup>c</sup>**

Sinal clínico	Broncopneumonia moderada			Broncopneumonia grave		
	GSV(n=9)	GCV (n=11)	Valor de $p^e$	GSV (n=8)	GCV (n=6)	Valor de $p$
	Méd ± dp <sup>d</sup>	Méd ± dp		Méd ± dp	Méd ± dp	
Tosse	7 (77,8%)	10 (90,9%)	0,56	7 (87,5%)	5 (83,3%)	1
Secreção nasal	9 (100%)	11 (100%)	-	8 (100%)	6 (100%)	-
Dispnéia mista	0	0	-	5 (62,5%)	2 (33,3%)	0,59
Frêmito traqueal	0	0	-	0	0	-
Frêmito torácico	0	0	-	0	0	-
Reflexo da tosse ↑	9 (100%)	11 (100%)	-	8 (100%)	6 (100%)	-
Submacicez pulmonar	0	0	-	3 (37,5%)	1 (16,7%)	0,58
Ruído traqueobrônquico ↑	8 (88,9%)	11 (100%)	0,45	8 (100%)	6 (100%)	-
Ruído broncobronquiolar rude ↑	1 (11,1%)	2 (18,2%)	1	7 (87,5%)	6 (100%)	1
Área de silêncio pulmonar	0	0	-	0	0	-
Inspiração interrompida	7 (77,8%)	9 (81,8%)	1	1 (12,5%)	1 (16,7%)	1
Creptação grossa	2 (22,2%)	3 (27,3%)	1	7 (87,5%)	6 (100%)	1
Creptação fina	0	0	-	5 (62,5%)	4 (66,7%)	1
Ronco	0	0	-	5 (62,5%)	2 (33,3%)	0,59
Sibilo	0	0	-	0	0	-
Roce pleural	0	0	-	2 (25%)	0	0,47
Odor expiratório fétido	0	0	-	0	0	-
Hipertermia	8 (88,9%)	10 (90,9%)	1	8 (100%)	6 (100%)	-
Freqüência respiratória ↑	9 (100%)	11 (100%)	-	8 (100%)	6 (100%)	-
Freqüência cardíaca ↑	9 (100%)	11 (100%)	-	8 (100%)	6 (100%)	-

<sup>a</sup> GCV: Grupo com suplementação com vitamina E. <sup>b</sup> GSV: grupo sem suplementação com vitamina E. <sup>c</sup> DX: momento do diagnóstico da broncopneumonia. <sup>d</sup> Méd ± dp: média e desvio padrão. <sup>e</sup> Significância estatística para  $p<0,05$ .

**Quadro 2. Frequências, percentuais e valores de *p* das variáveis do hemograma nos animais dos grupos GCV<sup>a</sup> e GSV<sup>b</sup> no momento D0<sup>c</sup> e D21<sup>d</sup>**

Variáveis	D0			D21		
	GSV(n=30) Méd ± dp <sup>e</sup>	GCV (n=30) Méd ± dp	Valor de <i>p</i> <sup>f</sup>	GSV(n=30) Méd ± dp	GCV(n=30) Méd ± dp	Valor de <i>p</i>
Hemácias (x10 <sup>6</sup> /μl)	7,37±1,53	6,93±1,63	0,41	7,46±1,51	7,96±1,32	0,51
Hemoglobina (g/dL)	10,8±2,22	13,32±16,56	0,80	10,66±1,72	11,18±1,44	0,36
VG <sup>g</sup> (%)	33,13±6,73	31,27±7,17	0,55	32,08±4,91	34,08±4,63	0,18
Fibrinogênio (mg/dL)	546,67±252,89	543,33±262,2	0,87	630,77±256,21	623,08±265,06	0,95
Plaquetas (x10 <sup>3</sup> /μl)	534,03±253,55	488,03±251,71	0,49	555,00±199,74	428,61±193,24	0,058
Leucócitos totais (x10 <sup>3</sup> /μl)	8,82±3,54	9,45±4,51	0,70	8,35±5,55	9,76±5,14	0,33
Mielócitos/μl	0±0	0±0	-	0±0	0±0	-
Metamielócitos/μl	0,03±0,18	0±0	0,83	0±0	0±0	-
Bastonetes/μl	0,3±1,21	0±0	0,66	0,23±0,83	0±0	0,76
Segmentados/μl	43,73±15,77	50±19,24	0,26	27,46±14,68	38,08±17,76	0,08
Linfócito/μl	53,6±16,67	47,97±19,01	0,28	69,92±14,33	57,92±18,46	0,09
Eosinófilos/μl	0,03±0,18	0,27±0,52	0,18	0±0	0,23±0,83	0,76
Basófilos/μl	0,07±0,25	0±0	0,66	0±0	0±0	-
Monócitos/μl	2,13±1,91	1,73±1,39	0,56	2,38±1,76	3,92±2,18	0,07

<sup>a</sup> GCV: Grupo com suplementação com vitamina E. <sup>b</sup> GSV: grupo sem suplementação com vitamina E. <sup>c</sup> D0: data do início do experimento. <sup>d</sup> D21: data do final do experimento. <sup>e</sup> Méd ± dp: média e desvio padrão. <sup>f</sup> Significância estatística para *p*<0,05. <sup>g</sup> VG: volume globular.

**Quadro 3. Frequências, percentuais e valores de *p* das variáveis do hemograma nos animais com broncopneumonia moderada e grave nos grupos GCV<sup>a</sup> e GSV<sup>b</sup> no momento DX<sup>c</sup>**

Variáveis	Broncopneumonia moderada			Broncopneumonia grave		
	GSV(n=9) Méd ± dp <sup>d</sup>	GCV (n=11) Méd ± dp	Valor de <i>p</i> <sup>e</sup>	GSV (n=8) Méd ± dp	GCV (n=6) Méd ± dp	Valor de <i>p</i>
Hemácias (x10 <sup>6</sup> /μl)	7 (77,8%)	10 (90,9%)	0,56	7 (87,5%)	5 (83,3%)	1
Hemoglobina (g/dL)	9 (100%)	11 (100%)	-	8 (100%)	6 (100%)	-
VG <sup>f</sup> (%)	0	0	-	5 (62,5%)	2 (33,3%)	0,59
Fibrinogênio (mg/dL)	0	0	-	0	0	-
Plaquetas (x10 <sup>3</sup> /μl)	0	0	-	0	0	-
Leucócitos totais(x10 <sup>3</sup> /μl)	9 (100%)	11 (100%)	-	8 (100%)	6 (100%)	-
Mielócitos/μl	0	0	-	3 (37,5%)	1 (16,7%)	0,58
Metamielócitos/μl	8 (88,9%)	11 (100%)	0,45	8 (100%)	6 (100%)	-
Bastonetes/μl	1 (11,1%)	2 (18,2%)	1	7 (87,5%)	6 (100%)	1
Segmentados/μl	0	0	-	0	0	-
Linfócito/μl	7 (77,8%)	9 (81,8%)	1	1 (12,5%)	1 (16,7%)	1
Eosinófilos/μl	2 (22,2%)	3 (27,3%)	1	7 (87,5%)	6 (100%)	1
Basófilos/μl	0	0	-	5 (62,5%)	4 (66,7%)	1
Monócitos/μl	0	0	-	5 (62,5%)	2 (33,3%)	0,59

<sup>a</sup> GCV: Grupo com suplementação com vitamina E. <sup>b</sup> GSV: grupo sem suplementação com vitamina E. <sup>c</sup> DX: momento do diagnóstico da pneumonia. <sup>d</sup> Méd ± dp: média e desvio padrão. <sup>e</sup> Significância estatística para *p*<0,05. <sup>f</sup> VG: volume globular.

**Quadro 4. Médias, desvios padrões e valores de *p* das células do lavado traqueobrônquico nos animais com broncopneumonia moderada e grave nos grupos GCV<sup>a</sup> e GSV<sup>b</sup> no momento DX<sup>c</sup>**

Variável	Broncopneumonia moderada			Broncopneumonia grave		
	GSV(n=9) Méd ± dp <sup>d</sup>	GCV(n=11) Méd ± dp	Valor de <i>p</i> <sup>e</sup>	GSV(n=8) Méd ± dp	GCV(n=6) Méd ± dp	Valor de <i>p</i> <sup>f</sup>
Células Epiteliais(%)	8,89±11,83	8,36±9,77	0,82	7,13±10,37	14,67±14,15	0,24
Macrófagos (%)	40,22±17,08	44,27±31,21	0,94	58,63±33,19	44,83±34,1	0,41
Nutrófilos (%)	50,56±15,76	47,18±27,51	0,76	34,13±32,94	40,17±31,69	0,49
Linfócitos (%)	0,33±0,5	0,09±0,3	0,37	0,13±0,35	0,33±0,82	0,85
Eosinófilos (%)	0±0	0±0	-	0±0	0±0	-

<sup>a</sup> GCV: Grupo com suplementação com vitamina E. <sup>b</sup> GSV: grupo sem suplementação com vitamina E. <sup>c</sup> DX: momento do diagnóstico da pneumonia. <sup>d</sup> Méd ± dp: média e desvio padrão. <sup>e</sup> Significância estatística para *p*<0,05.

**Quadro 5. Percentuais médios de células do lavado traqueobrônquico de bezerros, de acordo com a idade dos animais no momento D0<sup>a</sup>**

Idade (em 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 %

<sup>a</sup> D0: Data do início do experimento.

A citologia do lavado traqueobrônquico não apresentou diferença significativa entre os grupos, em nenhum dos momentos estudados (D0, DX, DY e D21). Os valores e percentuais médios, desvios padrão e valores de *p* encontrados para as células do lavado traqueobrônquico nos animais dos grupos GCV e GSV com broncopneumonia moderada e grave, no momento DX, estão descritas no Quadro 4. A variação celular do lavado traqueobrônquico em função da idade dos animais está resumida no Quadro 5.

## DISCUSSÃO

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

A broncopneumonia é caracterizada por alteração inflamatória de brônquios, bronquíolos e parênquima pulmonar (Radostits et al. 2002). No Brasil, registraram-se índices de 12,7% de broncopneumonia em bezerros criados em regime extensivo (Barros et al. 1966) e de 12,27% nos atendidos no Hospital Veterinário da FMVZ, Unesp-Botucatu (Gonçalves et al. 1993). Conforme o preconizado na literatura, os animais desse estudo considerados doentes foram caracterizados pela maior ocorrência de sinais clínicos compatíveis com distúrbio respiratório de comprometimento broncopulmonar (Gonçalves et al. 2001, Radostits et al. 2002). A elevada morbidade observada entre os animais estudados ( $\approx$  57% em ambos os grupos) ocorreu pela permanência dos animais em sistema de confinamento, diferindo dos casos clínicos estudados por Barros et al. (1966), Rabello et al. (1996) e Gonçalves et al. (2000), onde os animais permaneciam em regime extensivo. Embora a ação antioxidante da vitamina E seja, provavelmente, o mecanismo mais importante no reforço à resposta imune, ela também reduz a síntese de certas prostaglandinas (Lawrence et al. 1985) e diminui a concentração sérica de cortisol em bezerros (Reddy et al. 1987). Ambos, o cortisol e algumas prostaglandinas, são potentes inibidores da resposta imune (Baehner et al. 1982, Blecha & Baker 1986). O ambiente e o manejo preconizado para os animais deste estudo, além de favorecer a ocorrência da broncopneumonia, atuaram também como fatores de estresse. A suplementação com vitamina E deveria compensar, em parte, os maus

efeitos desses fatores sobre a função imunológica. Contudo, a alta morbidade em ambos os grupos sugere que a vitamina E não teve efeito preventivo na ocorrência da enfermidade nos bezerros estudados.

A realização do exame físico foi fundamental na obtenção precoce do diagnóstico de broncopneumonia, confirmando a observação feita por Gonçalves & Barioni (2000), de que o exame físico é insubstituível em relação aos demais para diagnosticar doenças respiratórias. Sinais clínicos como secreção nasal, reflexo de tosse aumentado, aumento da frequência cardíaca e da frequência respiratória, observados em todos os animais doentes de ambos os grupos, podem ser considerados manifestações iniciais da doença (Hinchcliff & Byrne 1991, Pringle 1992). Contudo, esses sinais clínicos não caracterizaram a intensidade da broncopneumonia (Gonçalves et al. 2001). Para a diferenciação da intensidade do processo broncopneumônico, foram classificados como portadores de broncopneumonia moderada, em ambos os grupos, os bezerros que apresentaram tosse, secreção nasal, reflexo de tosse aumentado, ruído traqueobrônquico aumentado, ruído broncobronquiolar rude, inspiração interrompida, crepitação grossa, hipertermia, taquicardia e taquipnéia. Nos animais que tiveram broncopneumonia grave, observou-se, além dos sinais clínicos comuns também aos casos de broncopneumonia moderada, dispnéia mista, submacicez, crepitação fina e ronco em ambos os grupos e, ainda, roce pleural no grupo GSV.

Os resultados deste estudo confirmam que a presença isolada, e principalmente associada de determinados sinais clínicos caracterizam a intensidade da broncopneumonia (Gonçalves et al. 2001, Radostits et al. 2002). Apesar dos resultados obtidos terem sido favoráveis ao grupo GCV, que apresentou menor incidência de broncopneumonia grave, não houve diferença significativa entre os grupos, o que sugere que a vitamina E não teve influência sobre a gravidade da doença manifestada.

A realização do hemograma foi útil para confirmação da homogeneidade dos grupos e da higidez dos bezerros no momento D0, por indicar presença de processo infeccioso nos animais acometidos por broncopneumonia (DX) e por fornecer dados compatíveis com o estado geral dos bezerros no momento D21. Os resultados observados neste estudo foram compatíveis com os dados obtidos por Reddy et al. (1987), que não observou variação significativa no eritrograma de bezerros suplementados com vitamina E. As variações observadas em relação ao fibrinogênio e contagem total de leucócitos reforçaram as conclusões de Taylor (2000) e Smith (2002), 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.

Comparando-se o momento D0 e D21, observou-se a

inversão de proporção entre neutrófilos e linfócitos, no momento inicial. 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 sadios. A recuperação dos bezerros após o término da antibioticoterapia (DY) foi semelhante nos dois grupos estudados. Embora se tenha observado recuperação mais rápida nos animais pertencentes ao grupo GCV, os resultados não foram estatisticamente significativos, sugerindo que a vitamina E não teve efeito sobre o tratamento preconizado para os animais. Contudo, cabe ressaltar que a variação celular sanguínea dos bezerros nesta idade e o pequeno número de animais avaliados neste momento podem ter interferido na interpretação dos resultados. À semelhança do ocorrido nesse experimento, Meydani et al. (2004) demonstraram que a suplementação de 200 UI por dia de vitamina E não teve efeito significativo no tratamento de doenças do trato respiratório inferior em idosos, embora os autores tenham atribuído à auto-medicação e ao uso excessivo de antimicrobianos pelos indivíduos que participaram do estudo os prejuízos na demonstração do efeito da vitamina E sobre o uso de antimicrobianos.

A citologia do lavado traqueobrônquico, embora tenha confirmado comprometimento das vias aéreas posteriores, não foi útil na classificação da intensidade da broncopneumonia neste estudo. Ao separar os bezerros por idade, observou-se alteração nas proporções celulares do lavado. 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. Acredita-se que as alterações celulares decorrentes do desenvolvimento etário possam ter interferido consideravelmente nos resultados obtidos nesse 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.

A vitamina E é talvez um dos nutrientes mais estudados em relação aos seus efeitos imunológicos protetores (Meydani et al. 2004). Com poucas exceções, a maioria dos estudos tem demonstrado que a suplementação com vitamina E melhora a resposta imunológica e a resistência às infecções (Hidiroglou et al. 1990, Hidiroglou & Charmley 1991). Embora no presente trabalho tenha-se observado menor incidência de broncopneumonia grave, melhor recuperação dos animais doentes e menor número de óbitos no grupo suplementado, os resultados não foram estatisticamente significativos, demonstrando que a vitamina E não teve efeitos benéficos na profilaxia e tratamento da broncopneumonia em bezerros. Os autores atribuem esses resultados insatisfatórios às peculiaridades no metabolismo e distribuição da vitamina E no organismo e à faixa etária em

que se encontravam os bezerros estudados, especialmente no que diz respeito à maturidade do sistema imune.

Com relação às particularidades no metabolismo e distribuição da vitamina E, a concentração desse elemento no sangue e em determinados tecidos do organismo é influenciada pela dose, duração da suplementação e, principalmente, pela via de administração e formulação química do composto (Hidiroglou & McDowell 1987, Hidiroglou et al. 1988, 1990, Hidiroglou & Charmley 1991, Charmley et al. 1992, Njeru et al. 1994). Pesquisas realizadas em ovinos e bovinos demonstraram que a forma "natural" da vitamina E, o D- $\alpha$ -tocoferol, resultou em maiores concentrações do elemento no soro e determinados tecidos dos animais que a forma sintética, o DL- $\alpha$ -tocoferol, quando administrados na mesma dose e via (Hidiroglou & McDowell 1987, Hidiroglou et al. 1988). Gibaldi & Perrier (1982) relataram que a via de administração da vitamina E tem efeito significativo sobre a taxa de absorção e eficiência de utilização deste elemento. Nesse contexto, Marusich et al. (1968) e Hidiroglou & Karpinski (1991) demonstraram que a vitamina E, quando administrada por via intramuscular em ovinos, proporcionou concentrações plasmáticas do composto maiores e mais duradouras do que quantidades equivalentes de vitamina E administradas em dose oral única. A suplementação dos bezerros desse estudo foi realizada com o DL- $\alpha$ -tocoferol, que é forma sintética da vitamina E mais comumente utilizada pela indústria, inclusive a farmacêutica e a alimentícia. Segundo Hidiroglou et al. (1988) doses superiores a 1000 UI de DL- $\alpha$ -tocoferol diários garantem níveis de vitamina E acima dos considerados fisiológicos para a espécie bovina. Apesar da utilização da forma sintética da vitamina E, que é menos eficiente que a "natural", a administração do DL- $\alpha$ -tocoferol nesse estudo foi feita por via intramuscular e em dose muito superior a necessidade mínima diária para os bovinos, justamente para garantir que concentrações adequadas do elemento atingissem a corrente sanguínea. No entanto, apesar dos relatos da boa absorção da vitamina E quando administrada por via intramuscular, a hidrólise do DL- $\alpha$ -tocoferol em sua forma ativa no fígado é bastante lenta (Newmark et al. 1975), retardando a viabilização de grandes quantidades da forma ativa desse elemento para o organismo, o que pode ter contribuído para os resultados insatisfatórios observados nesse estudo. Cabe ressaltar também que existe a possibilidade de precipitação da suspensão de DL- $\alpha$ -tocoferol no local da injeção (Hidiroglou 1996), relacionada principalmente com a variação da vascularização no local das inoculações, o que afetaria o fluxo de sangue, ou a taxa de difusão da vitamina E administrada por via intramuscular (Bederka et al. 1971).

Ao contrário do que se acredita, o sistema imunológico dos bezerros encontra-se completamente desenvolvido ao nascimento. Contudo, só funcionará de forma eficiente após algumas semanas de vida (Tizard 2002). Segundo Hauser et al. (1986), os bezerros possuem um número total de neutrófilos maior do que os adultos nos primeiros dez dias de vida, mas o seu funcionamento não é completo até os 150 dias de idade. A atividade debilitada dos neutrófilos não quer

dizer que os bezerros não possam responder aos antígenos, porém a resposta será fraca, lenta e facilmente revertida, originando a moderação da doença, mas, não prevenindo, no entanto, a ocorrência da infecção (Cortese et al. 1999). Costa et al. (2004) não observaram efeito significativo da administração do acetato de DL- $\alpha$ -tocoferol sobre o metabolismo oxidativo de neutrófilos de bezerros da raça holandesa, no período do nascimento até os 150 dias de idade, comprovando a incapacidade de resposta neutrofílica dos neonatos e maior susceptibilidade às infecções nesse período. Dentro desse contexto, é provável que a ação imunomoduladora da vitamina E tenha sido prejudicada pela imaturidade do sistema imune dos bezerros utilizados nesse estudo, com destaque à baixa eficiência da atividade neutrofílica. Cabe ressaltar também que concentrações mais elevadas de vitamina E no plasma podem não resultar em maiores concentrações desse elemento nos neutrófilos e consequente melhoria na função dessas células, pois a concentração de  $\alpha$ -tocoferol no plasma e nos neutrófilos é apenas ligeiramente correlacionada (Weiss et al. 1992).

Outro ponto a se considerar para adequada interpretação dos dados obtidos é que os resultados insatisfatórios da suplementação com vitamina E podem refletir uma dificuldade do organismo em distribuir os antioxidantes para regiões pulmonares afetadas pelos radicais livres em tempo hábil, conforme já sugerido por outros autores (Welty et al. 2001). Assim, novas pesquisas são necessárias para determinar a natureza e a localização dos eventos oxidativos que levam às lesões pulmonares. Dessa forma, abordagens terapêuticas mais específicas e adequadas poderão ser planejadas com maiores chances de sucesso.

Os resultados do presente estudo demonstram que a suplementação de bezerros com 4.500 UI de acetato de DL- $\alpha$ -tocoferol por via intramuscular, em dose única, não foi eficiente na profilaxia e tratamento da broncopneumonia nesses animais. Contudo, não é possível assegurar que a vitamina E não possua efeitos imunológicos protetores sobre a broncopneumonia, uma vez que imaturidade do sistema imune em bezerros da faixa etária dos animais utilizados nesse estudo pode ter comprometido a qualidade dos resultados. Dentro deste contexto, seria extremamente interessante a indução da broncopneumonia também em bezerros mais velhos e o estudo da vitamina E como agente profilático nesses animais. Cabe ressaltar também que a citologia do lavado traqueobrônquico de bezerros sadios 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 que ainda é desconhecido.

**Agradecimentos.** - À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pela concessão de bolsa de mestrado e auxílio financeiro para a execução deste trabalho (Proc. 2003/04481-1 e 2004/01047-1, respectivamente).

## REFERÊNCIAS

Al-Qudah K.M. 2009. Oxidative stress in calves with acute chronic bronchopneumonia. *Revta Med. Vet.* 160(5):231-236.

- Baehner R.L., Boxer L.A. & Ingraham L.M. 1982. The influence of vitamin E on human polymorphonuclear cell metabolism and function. *Ann. New York Acad. Sci.* 393:237-250.
- Barros H.M., Lamounier R.D., Araújo L.M. & Benintendi R.P. 1966. "Causa mortis" em bezerros *Bos indicus*, em regime de criação extensiva. *Bolm Indústr. Anim.* 23:199.
- Bederka Jr J., Takemori A.E. & Miller J.W. 1971. Absorption rates of various substances administered intramuscularly. *Eur. J. Pharmacol.* 15(1):132-136.
- Blecha F. & Baker P.E. 1986. Effect of cortisol in vitro and in vivo on production of bovine interleukin-2. *Am. J. Vet. Res.* 47(4):841-845.
- Borges A.S. 1997. Avaliação da eficácia da administração de plasma, por via intravenosa, como tratamento da falência de transferência de imunidade passiva em bezerros da raça Holandesa. Dissertação de Mestrado em Medicina Veterinária, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, SP. 100p.
- Bowland S.L. & Shewen P.E. 2000. Bovine respiratory disease: Commercial vaccines currently available in Canada. *Can. Vet. J.* 41(1):33-48.
- Charnley E., Hidioglou N., Ochoa L., McDowell L.R. & Hidioglou M. 1992. Plasma and hepatic  $\alpha$ -tocopherol in cattle following oral or intramuscular supplementation. *J. Dairy Sci.* 75(3):804-810.
- Chirase N.K., Greene L.W., Purdy C.W., Loan R.W., Auvermann B.W., Parker D.B., Walborg E.F.J., Stevenson D.E., Xu Y. & Klaunig J.E. 2004. Effect of transport stress on respiratory disease, serum antioxidant status, and serum concentrations of lipid peroxidation biomarkers in beef cattle. *Am. J. Vet. Res.* 65(6):860-864.
- Comhair S.A.A. & Erzurum S.C. 2002. Antioxidant responses to oxidant-mediated lung diseases. *Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol.* 283(2):L246-L255.
- Cortese S.V. 1999. Neonatal immunology, p.51-56. In: Howard S. (Ed.), *Current Veterinary Therapy: Food animal practice*. 4<sup>th</sup> ed. Saunders Company, London.
- Costa J.N. 2001. Leucograma, metabolismo oxidativo dos neutrófilos, proteinograma e imunoglobulinas de bovinos da raça Holandesa (*Bos taurus*): influência da idade e da suplementação com vitamina E (acetato de DL- $\alpha$ -tocoferol). Tese de Doutorado em Medicina Veterinária, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, SP. 192p.
- Costa J.N., Peixoto A.P.C., Kohayagawa A., Ferreira A.F.M.S.C., Cassetari M.L. & Croci A.J. 2004. Influência do desenvolvimento etário e da suplementação com vitamina E (acetato de DL- $\alpha$ -tocoferol) no metabolismo oxidativo dos neutrófilos de bovinos da raça Holandesa (*Bos taurus*). *Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.* 41(5):293-298.
- Curi P.R. 1997. Metodologia e Análise da Pesquisa em Ciências Biológicas. Tipomic, Botucatu, p.97-106.
- Davidson J.N., Yancey S.P., Campbell S.G. & Warner R.G. 1981. Relationship between serum immunoglobulin values and incidence of respiratory disease in calves. *J. Vet. Med. Assoc.* 179(7):708-710.
- Feldman B.F., Zinkl J.G. & Jain N.C. 2000. *Schalm's Veterinary Hematology*. 5<sup>th</sup> ed. Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia. 787p.
- Gibaldi M. & Perrier D. 1982. *Pharmacokinetics*. 2<sup>nd</sup> ed. Marcel Dekker, New York, p.205-229.
- Gonçalves R.C. 2004. Semiologia do sistema respiratório, p.313-331. In: Feitosa F.L. (Ed.), *Semiologia Veterinária*. Roca, São Paulo.
- Gonçalves R.C. & Barioni G. 2000. Exame clínico do aparelho respiratório de bezerros. *Revta Educ. Cont. CRMV-SP* 3:4-13.
- Gonçalves R.C., Kuchembuck M.R. & Almeida C.T. 1990. Lavagem traqueobrônquica por traqueocentese em bovinos. *Vet. Zootec.* 2:17-25.
- Gonçalves R.C., Peixoto A.P.C., Kuchembuck M.R.G., Chiacchio S.B., Kohayagawa A. & Castro A.A.P. 1993. Doenças de bezerros. II.

- Pneumonia: aspectos clínicos e epidemiológicos na região de Botucatu, SP. Anais Congr. Int. Med. Vet. Língua Port., Salvador/BA, p.289. (Resumo)
- Gonçalves R.C., Lisboa J.A.N., Souza M.V., Almeida C.T., Kuchembuck M.R.G. & Chiacchio S.B. 2000. Aspectos clínicos e epidemiológicos da broncopneumonia dos bezerros em Botucatu, SP. Revta Bras. Ciênc. Vet. 7:144-147.
- Gonçalves R.C., Kuchembuck M.R., Curi P.R., Chiacchio S.B., Almeida C.T. & Borges A.S. 2001. Diferenciação clínica da broncopneumonia moderada e grave em bezerros. Ciência Rural 31(2):263-269.
- Gonçalves R.C., Mattos M.C.F.I., Kuchembuck M.R.G., Lopes R.S., Borges A.S. & Gonçalves R.C. 2004. Lavagem traqueobrônquica por sondagem nasotraqueal em bezerros. Arq. Bras. Med. Vet. Zootec. 56(3):307-311.
- Griffin D. 1985. Feedlot disease losses. Vet. Clin. North Am., Food Anim. Pract. 1(2):289-310.
- Hauser M.A., Koob B.S. & James A.R. 1986. Variation of neutrophil function with age in calves. Am. J. Vet. Res. 47:152-153.
- Hidiroglou M. 1996. Pharmacokinetic Profile of Plasma tocopherol following intramuscular administration of acetylated  $\alpha$ -tocopherol to sheep. J. Dairy Sci. 79(6):1027-1020.
- Hidiroglou M. & Charmley E. 1991. Comparative studies on bioavailability and tissue uptake of two intraruminally or intraperitoneally administered esters of  $\alpha$ -tocopherol in sheep. Am. J. Vet. Res. 52:640-642.
- Hidiroglou M. & Karpinski K. 1991. Disposition kinetics and dosage regimen of vitamin E administered intramuscularly to sheep. Brit. J. Nutr. 65(3):465-473.
- Hidiroglou N. & McDowell L. 1987. Plasma and tissue levels of vitamin E in sheep following intramuscular administration in an oil carrier. Int. J. Vitam. Nutr. Res. 57(3):261-266.
- Hidiroglou N., Laflamme L.F. & McDowell L.R. 1988. Blood plasma and tissue concentrations of vitamin E in beef cattle as influenced by supplementation of various tocopherol compounds. J. Anim. Sci. 66(12):3227-3234.
- Hidiroglou N., Butler G. & McDowell L.R. 1990. Plasma and tissue vitamin E concentrations in sheep after administration of a single intraperitoneal dose of dl- $\alpha$ -tocopherol. J. Anim. Sci. 68(3):782-787.
- Hinchcliff K.W. & Byrne B. 1991. Clinical examination of the respiratory system. Vet. Clin. North Am., Food Anim. Pract. 7:1-26.
- Jain N.C. 1986. Schalm's Veterinary Hematology. Lea and Febinger, Philadelphia, p.829-835.
- Lawrence L.M., Mathias M.M., Nockles C.F. & Tengerdy R.P. 1985. The effect of vitamin E on prostaglandin levels in the immune organs of chicks during the course of an *E. coli* infection. Nutr. Res. 5(5):947-509.
- Ledwozyw A. & Stolarczyk H. 1991a. The involvement of polymorphonuclear leukocytes in the pathogenesis of bronchopneumonia in calves. II. Granulocyte-induced changes in erythrocyte membrane phospholipid topology. Acta Vet. Hung. 39(3/4):187-195.
- Ledwozyw A. & Stolarczyk H. 1991b. The involvement of polymorphonuclear leukocytes in the pathogenesis of bronchopneumonia in calves. IV. Myeloperoxidase activity. Acta Vet. Hung. 39(3/4):203-213.
- Ledwozyw A. & Stolarczyk H. 1992. The involvement of polymorphonuclear leukocytes in the pathogenesis of bronchopneumonia in calves. VI. Superoxide dismutase and lipoprotein lipase activities. Acta Vet. Hung. 40(4):267-77.
- Machlin L.F. 1991. Vitamin E, p.99-144. In: Machlin L.J. (Ed.), Handbook of Vitamins. 2<sup>nd</sup> ed. Marcel Dekker, New York.
- Marusich W.L., Ackerman G., Reese W.C. & Bauernfeind J.C. 1968. Relative activity of d- and dl- $\alpha$ -tocopherol acetate based on plasma levels. J. Anim. Sci. 27:58-67.
- Meydani S.N., Han K.S.N. & Hamer D.H. 2004. Vitamin E and respiratory infection in the elderly. Ann. N.Y. Acad. Sci. 1031:214-222.
- Meydani S.N., Leka L.S., Fine B.C., Dallal G.E., Keusch G.T., Singh M.F. & Hamer D.H. 2004. Vitamin E and respiratory tract infections in elderly nursing home residents: A randomized controlled trial. J. Am. Med. Assoc. 292(7):828-836.
- Mills P.C. & Higgins A.J. 1997. Oxidant injury, nitric oxide and pulmonary vascular function: Implications for the exercising horse. Vet. J. 135(2):125-148.
- Moiser D.A. 1997. Bacterial pneumonia. Vet. Clin. North Am., Food Anim. Pract. 13(3):483-493.
- Newmark H.L., Pool W., Bauerfeind J.C. & Ritter E. 1975. Bio-pharmaceutical factors in parenteral administration in vitamin E. J. Pharm. Sci. 64(4):655-657.
- Njeru C.A., McDowell L.R., Wilkinson N.S., Linda S.B., Rojas L.X. & Williams S.N. 1994. Serum and tissue tocopherol in sheep after intramuscular injection and (or) dietary vitamin E supplementation. J. Anim. Sci. 72(3):739-745.
- Perino L.J., Sutherland R.L. & Woollen N.E. 1993. 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. 54(1):56-59.
- Pringle J.K. 1992. Assessment of the ruminant respiratory system. Vet. Clin. North Am., Food Anim. Pract. 8(20):233-241.
- Rabello S.S.A., Lima Junior A.D., Castro R.S. & Tabosa J.H.C. 1996. Sazonalidade da broncopneumonia em bezerros da microregião de Garanhuns, Pernambuco (1983-1991). Arq. Bras. Med. Vet. Zootec. 48(1):19-26.
- Radostits O.M., Blood D.C. & Gay C.C. 2002. Veterinary Medicine: A textbook of diseases of cattle, sheep, pigs, goats and horses. 9<sup>th</sup> ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, p.377-427.
- Reddy P.G., Momill J.L., Minocha H.C. & Stevenson J.S. 1987. Vitamin E is immunostimulatory in calves. J. Dairy Sci. 70(5):993-999.
- Rice D. & Kennedy S. 1988. Vitamin E: Function and effects of deficiency. Brit. Vet. J. 144:482-495.
- Shahriar F.M., Clark E.G., Janzen E., West K. & Wobeser G. 2002. Coinfection with bovine viral diarrhoea virus and Mycoplasma bovis in feedlot cattle with chronic pneumonia. Can. Vet. J. 43(11):863-868.
- Smith J.A. 2002. Ruminant respiratory system, p.560-618. In: Smith B.P. (Ed.), Large Animal Internal Medicine. 3<sup>rd</sup> ed. Mosby, St Louis.
- Snowder G.D., Van Vleck L.D., Cundiff L.V. & Bennett G.L. 2006. Bovine respiratory disease in feedlot cattle: Environmental, genetic, and economic factors. J. Anim. Sci. 84:1999-2008.
- Stovall T.C., Gill G.R., Han H., Wagner J.T. & Ball R.L. 1999. Effect of Agrado on the health and performance of transport-stressed heifer calves. Anim. Sci. Res. Rep. 11:176-181.
- Taylor J.A. 2000. Leukocyte responses in ruminants, p.391-404. In: Feldman B., Zinkl J. & Jain N.C. (Eds), Schalm's Veterinary Hematology. 5<sup>th</sup> ed. Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia.
- Tizard I.R. 2002. Imunologia Veterinária: uma introdução. 6<sup>a</sup> ed. Rocca, São Paulo. 532p.
- Viana L. 2003. Pesquisa de *Mannheimia (Pasteurella) haemolytica* e *Pasteurella multocida* em ovinos clinicamente sadios e portadores de afecções respiratórias na região de Botucatu-SP. Dissertação de Mestrado em Medicina Veterinária, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Unesp-Botucatu, SP. 76p.
- Weiss W.P., Hogan J.S., Smith D.A., Todhunter D.A. & Williams S.N. 1992. Effect of supplementing periparturient cows with vitamin E on distribution of  $\alpha$ -tocopherol in blood. J. Dairy Sci. 75(2):3479-3485.