

BIÓPSIA PULMONAR EM BEZERROS COM BRONCOPNEUMONIA INDUZIDA PELA *Mannheimia haemolytica*

DANIEL PESSOA GOMES DA SILVA,¹ JOSÉ PAES OLIVEIRA FILHO,² ADRIANA SOUZA COUTINHO,³ ANDREZA PIMENTA DE OLIVEIRA,⁴ NOEME SOUSA ROCHA⁵ E ROBERTO CALDERON GONÇALVES⁶

1. Mestre em Clínica Veterinária pelo Departamento de Clínica Veterinária da FMVZ-Unesp, bolsista da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pós-graduando (Doutorado) do Departamento de Clínica Veterinária – FMVZ/UNESP Botucatu
2. Bolsista da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP). E-mail: zep.filho@hotmail.com
3. Professor doutor do Departamento de Medicina Veterinária, UFLA
4. Pós-graduando (Mestrado) do Departamento de Clínica Veterinária, FMVZ/UNESP Botucatu
5. Professor adjunto do Departamento de Clínica Veterinária da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia de Botucatu, Unesp
6. Professor assistente, doutor do Departamento de Clínica Veterinária da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia de Botucatu, Unesp.

RESUMO

Com o propósito de avaliar a segurança, a eficácia diagnóstica da biópsia pulmonar e comparar a possível ocorrência de complicações decorrentes da técnica, entre bezerros sadios e com broncopneumonia induzida, utilizaram-se dez bezerros (G1) sadios e vinte bezerros portadores de broncopneumonia, divididos em quatro grupos de cinco bezerros (G2 a G5), os quais foram biopsiados 12, 24, 48 e 72 horas após a inoculação com *Mannheimia haemolytica*, respectivamente. A presença de crepitação grossa, som submáximo à percussão e as alterações radiográficas auxiliaram no diagnóstico da broncopneumonia e localizaram a área pulmonar a ser biopsiada nos grupos G2 a G5. As alterações

microscópicas, visualizadas nos animais do grupo G2 a G5, foram as de broncopneumonia fibrinopurulenta. Nos bezerros do grupo G1 as alterações relacionadas à técnica foram: tosse, epistaxe, dispneia mista, taquipneia e taquicardia. Cinco (25%) bezerros com broncopneumonia desenvolveram hemotórax após a biópsia e as alterações relacionadas à técnica foram: taquipneia, taquicardia, tosse, dispneia mista, apatia, mucosas pálidas e decúbito. Conclui-se que a biópsia pulmonar permite o diagnóstico de broncopneumonia em bezerros, contudo as complicações decorrentes da técnica limitam o seu uso apenas nas situações em que os métodos convencionais não tenham possibilitado o diagnóstico.

PALAVRAS-CHAVES: Bezerros, biópsia pulmonar, broncopneumonia, *Mannheimia haemolytica*.

ABSTRACT

PULMONAR BIOPSY IN CALVES WITH BRONCHOPNEUMONIA INDUCED BY *Mannheimia haemolytica*

The purpose of this study was to evaluate the safety and diagnostic efficacy of lung biopsy and to compare the possible occurrence of complications due to this technique in healthy calves and in calves with bronchopneumonia. Thirty Holstein calves were divided into a group of ten healthy animals (G1) and into four experimental groups (G2 to G5) of five calves each submitted to lung biopsy at 12, 24, 48 and 72 hours after intratracheal inoculation of *Mannheimia haemolytica*, respectively. Lung crackles, dull sound on percussion of the lung area, and radiographic abnormalities were helpful in localizing the site for biopsy in

group with bronchopneumonia. The microscopic abnormalities consisted of fibrinous bronchopneumonia these groups. In the calves of group G1, the alterations resulting from the procedure were cough, epistaxis, dyspnea, tachypnea, and tachycardia. Five calves (25%) with bronchopneumonia presented hemothorax after biopsy as well as tachypnea, tachycardia, cough, dyspnea, apathy, pale mucous, and decumbence. It was concluded that lung biopsy allowed to the diagnosis of bronchopneumonia in calves, however the severe complication of technical limit its use only when conventional methods have not enabled diagnosis.

KEY WORDS: Bronchopneumonia, calves, lung biopsy, *Mannheimia haemolytica*.

INTRODUÇÃO

O diagnóstico das doenças respiratórias nos bovinos pode ser realizado mediante técnicas não invasivas, como o exame físico, radiografia torácica, ultrassonografia, isolamento viral e testes sorológicos, ou por meio da aplicação de métodos invasivos, como a endoscopia, o lavado broncoalveolar e transtraqueal, a biópsia pulmonar e a toracocentese (ZAVALA & BEDELL, 1972; GONÇALVES et al., 2004; BERTAGNON et al., 2007).

Embora a compreensão da história clínica, o exame físico, a auscultação e as radiografias torácicas sejam considerados excelentes métodos de rotina para a detecção de anormalidades pulmonares, faltam-lhes a especificidade necessária para o diagnóstico etiológico e para o planejamento racional de um protocolo terapêutico. Para o diagnóstico específico geralmente é preciso realizar avaliações microbiológica, histológica ou citológica dos tecidos acometidos (ROUDEBUSH et al., 1981).

A biópsia pulmonar ajuda na caracterização de lesões superficiais e subpleurais e na diferenciação entre condições inflamatórias, alérgicas, enfisematosas, edematosas e neoplásicas (BRAUN et al., 1999), fornecendo evidências conclusivas para o diagnóstico (VIEL, 1985). Mediante a obtenção de amostras adequadas de tecidos que permitam o diagnóstico citológico ou histológico preciso, a biópsia pulmonar garante ao clínico a conclusão sobre o melhor tratamento e prognóstico (STONE, 1995).

Para RAPHEL & GUNSON (1981), a biópsia pulmonar transtorácica não é um procedimento comum, provavelmente em virtude da falta de descrição de técnicas. Embora seja uma técnica simples (DERKSEN, 1999), complicações raras podem ocorrer, restringindo-se à hemoptise transitória (WARNER, 1990; NAYLOR et al., 1992), pneumotórax ou hemotórax (ZAVALA & BEDELL, 1972; OLGIVIE & MOORE, 1995).

Com o advento das técnicas de imagem em tempo real, a biópsia pulmonar tornou-se um método rápido e efetivo para o diagnóstico de doenças pulmonares, representando um procedi-

mento com baixa morbidade, fácil realização com pouca ou nenhuma sedação do paciente (WOOD et al., 1998).

Dada a necessidade de melhoria das condições diagnósticas das afecções respiratórias em bovinos e de comprovação da validade de novas técnicas diagnósticas, complementares à propedêutica clínica, foram objetivos deste trabalho: avaliar a segurança e a eficácia diagnóstica da biópsia pulmonar em bezerros portadores de pneumonia induzida experimentalmente e comparar a ocorrência de complicações decorrentes da técnica de biópsia pulmonar entre bezerros clinicamente sadios e portadores de broncopneumonia experimental.

MATERIAL E MÉTODOS

Utilizaram-se trinta bezerros clinicamente sadios, da raça Holandesa, machos e com idade variando entre três e sete dias. Os cuidados com instalações, bezerros e os procedimentos experimentais foram previamente aprovados pela Câmara de Ética em Experimentação Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ), Unesp-Botucatu (063/2003).

Constituíram-se aleatoriamente cinco grupos experimentais, de acordo com a inoculação do agente etiológico *Mannheimia haemolytica* (*M. haemolytica*) e o momento da biópsia pulmonar. Com exceção dos bezerros do grupo G1 (grupo controle), a broncopneumonia foi induzida por *M. haemolytica* nos demais animais dos grupos G2 a G5. Formou-se o grupo G1 por dez bezerros, e os demais grupos experimentais (G2 a G5) por cinco bezerros cada.

Os bezerros passaram por um período de adaptação de 28 dias, durante o qual foram mantidos em baias individuais e alimentados diariamente com quantidade de leite integral equivalente a 10% do peso vivo, distribuída em duas mamadas, água fresca, feno e ração comercial *ad libitum*.

Terminada a fase de adaptação, induziu-se a broncopneumonia nos bezerros dos grupos G2 a G5, mediante a inoculação transtraqueal de inóculo de *M. haemolytica* (cepa D153), processado segundo SILVA (2005) e com concentração

estimada em torno de 1×10^9 UFC/ml por espectrofotometria (McCLENAHAN et al., 2000) e confirmada por contagem direta em esfregaço em placa pela técnica de Breed (QUINN et al., 1994). Conservou-se o inóculo em gelo e dentro de, no máximo, uma hora após a preparação foi introduzido pela via transtraqueal nos bezerros em decúbito lateral (VESTWEBER et al., 1990), utilizando-se cateter (I-Cath - Tecnobio[®]), 5 ml da cultura de *M. haemolytica* contendo 1×10^9 UFC/ml (McCLENAHAN et al., 2000), e, a seguir, mais 5 ml de BHI estéril.

Exames físicos foram realizados em todos os bezerros imediatamente antes e após a biópsia pulmonar, utilizando-se protocolo adotado por GONÇALVES et al. (2001), sendo os resultados anotados em fichas individuais.

Na fase seguinte, submetem-se os bezerros dos grupos G2 a G5 à biópsia pulmonar transtorácica 12, 24, 48 e 72 horas após a inoculação, respectivamente. O procedimento de biópsia foi precedido pelo exame físico e radiográfico da área pulmonar, com o propósito de determinar o local da biópsia. Após o procedimento de biópsia, todos os bezerros dos grupos G2 a G5 foram reexaminados e em seguida eutanasiados e submetidos ao exame *post mortem*.

Depois da definição do local da biópsia, realizaram-se tricotomia, antissepsia da pele e bloqueio anestésico local com solução de cloridrato de lidocaína 2%. Após a incisão da pele, com bisturi, a agulha de biópsia semiautomática (4 x 16G, Bauer Medical[®]) foi inserida no tórax, em ângulo reto à superfície corporal e com profundidade máxima de aproximadamente 5 cm. Objetivando evitar os vasos intercostais, inseriu-se a agulha no centro dos espaços intercostais. O número de tentativas para realização da biópsia e o tamanho dos fragmentos obtidos foram anotados em fichas individuais.

Os bezerros do grupo G1, que não sofreram a inoculação do agente etiológico, foram submetidos à biópsia pulmonar no sétimo espaço intercostal direito, aproximadamente 10 cm acima de uma linha horizontal imaginária traçada sobre

a articulação escapuloumeral, e após doze horas ao exame radiográfico para verificar a presença de complicações associadas à técnica. Em seguida, os bezerros desse grupo também foram sacrificados e submetidos ao exame *post mortem*.

As amostras colhidas foram conservadas em formalina tamponada a 10% até a realização do exame histopatológico.

Avaliaram-se possíveis complicações relacionadas à biópsia pulmonar no exame *post-mortem*. As hemorragias pleurais, atribuídas ao procedimento, foram analisadas de acordo com o escore de severidade segundo BRAUN et al. (1999), que determinam escore I para lesão pleural inferior a 5 mm sobre área inferior a 4 mm², escore II para lesão pleural entre 5 e 15 mm sobre área entre 4 e 25 mm² e escore III para lesão pleural superior a 15 mm sobre área superior a 25 mm² de superfície.

Os fragmentos pulmonares foram processados de maneira habitual e incluídos em parafina. Coraram-se seções histológicas dos blocos de parafina, entre quatro a cinco micrômetros, pelo método de hematoxilina e eosina (HE) para posterior exame sob microscopia óptica de luz.

Os dados obtidos foram submetidos à análise descritiva, sendo os resultados expressos em percentual.

RESULTADOS

A biópsia pulmonar transtorácica foi facilmente realizada nos bezerros do grupo G1. Neste grupo, 50% (5/10) não apresentaram alterações clínicas relacionadas ao procedimento de biópsia. As principais alterações evidenciadas imediatamente após o procedimento, nos demais animais deste grupo, foram: tosse, epistaxe, dispneia mista e elevação das frequências cardíaca e respiratória, sendo que estas últimas retornaram aos valores considerados normais para a espécie em aproximadamente quinze a vinte minutos (Tabela 1). Os exames físicos e radiográficos, realizados doze horas após biópsia, não revelaram a presença de hemotórax e pneumotórax.

TABELA 1. Alterações clínicas evidenciadas após o procedimento de biópsia pulmonar transtorácica nos bezerros sadios (grupo G1) e com broncopneumonia induzida por *Mannheimia haemolytica* (grupos G2, G3, G4 e G5)

| Alterações | Grupos | | | | | | | | | |
|---------------------|--------|----|----|----|----|----|----|----|----|----|
| | G1 | | G2 | | G3 | | G4 | | G5 | |
| | n | % | n | % | n | % | n | % | n | % |
| Taquipneia | 3 | 30 | 3 | 60 | 2 | 40 | 2 | 40 | 3 | 60 |
| Taquicardia | 3 | 30 | 2 | 40 | 1 | 20 | 1 | 20 | 2 | 40 |
| Dispneia | 1 | 10 | 1 | 20 | 1 | 20 | 1 | 20 | 1 | 20 |
| Tosse | 1 | 10 | 1 | 20 | | | 1 | 20 | 1 | 20 |
| Decúbito permanente | | | | | 1 | 20 | 1 | 20 | | |
| Apatia | | | | | 1 | 20 | | | | |
| Epistaxe | 1 | 10 | | | | | | | | |
| Mucosas pálidas | | | | | 1 | 20 | | | | |
| Sem alterações | 5 | 50 | 2 | 40 | 3 | 60 | 3 | 60 | 2 | 40 |

^a número de animais

Ainda no grupo controle, as lesões decorrentes da biópsia consistiram em hemorragias da musculatura intercostal e hemorragias subpleurais, tendo estas últimas áreas de lesão de 35 mm² em

média e predomínio do escore 3 (7/10, 70%), seguido do escore 2 (3/10, 30%) de severidade (Tabela 2).

TABELA 2. Parâmetros avaliados em relação ao procedimento de biópsia pulmonar transtorácica nos bezerros sadios (grupo G1) e com broncopneumonia induzida por *Mannheimia haemolytica* (grupos G2, G3, G4 e G5)

| Grupos | G1 | G2 | G3 | G4 | G5 |
|-------------------------------------|-----------------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| | (n ^a = 10) | (n = 5) | (n = 5) | (n = 5) | (n = 5) |
| Local da biópsia (El ^b) | 7° (10/10) | 3° (4/5) | 3° (4/5) | 3° (4/5) | 3° (4/5) |
| | | 4° (1/5) | 4° (2/5) | 4° (1/5) | 4° (1/5) |
| Número médio de tentativas | 1,5 (1 – 3) | 2,4 (2 – 3) | 2 | 2 | 1,8 (1 – 2) |
| Tamanho do fragmento (mm) | 4,3 (2 – 6) | 2,4 (2 – 3) | 3,0 (2 – 4) | 4,0 (2 – 5) | 3,6 (2 – 5) |
| Área lesionada (mm ²) | 35 (10 – 60) | 16 (10 – 40) | 20 (10 – 40) | 28 (10 – 60) | 35 (25 – 40) |
| Escore de severidade ^c | II | 30% | 80% | 60% | 40% |
| | III | 70% | 20% | 40% | 60% |
| Hemotórax | --- | 20% | 20% | 20% | 40% |

^a Número de amostras, ^b Espaço intercostal, ^c Segundo BRAUN et al. (1999).

Artefatos em decorrência da técnica de biópsia como áreas de colapso alveolar nas extremidades das amostras, observadas em todas as seções histológicas, e invaginação de brônquios e de bronquíolos, foram observados, respectivamente, em um e em dois bezerros do grupo controle.

A broncopneumonia foi induzida com sucesso nos grupos experimentais G2 a G5. Os achados dos exames físicos realizados imediatamente após

a inoculação consistiram, predominantemente, de alterações no padrão respiratório, com taquipneia, dispneia mista, respiração superficial e costoabdominal. A intensidade dessas anormalidades variou entre os bezerros de mesmo grupo e entre os grupos.

A área pulmonar a ser biopsiada nos animais desses grupos (Tabela 2) foi determinada pela presença de crepitação grossa, som submaciço à

percussão durante o exame físico, falta de campo pulmonar aerado e presença de broncogramas aéreos na região cranioventral visualizada nas radiografias torácicas.

As lesões atribuídas ao procedimento de biópsia, nos animais dos grupos G2 a G5, estão descritas na Tabela 2. Esses animais apresentaram hemorragias subpleurais com áreas de lesão variando entre 10 e 60 mm² e, em relação ao escore de severidade, observou-se predomínio dos escores 3 e 2, sendo respectivamente observados em 55% (11/20) e 45% (9/20) dos bezerros. Entre os animais inoculados com *M. haemolytica*, 25% (5/20) apresentaram hemotórax agudo após a biópsia, o que foi confirmado na necrópsia. Os sinais clínicos observados nesses casos consistiram em tosse, dispneia e decúbito prolongado; um dos bezerros apresentou palidez de mucosas de forma aguda (Tabela 1). Assim como no grupo controle, não foram observadas alterações clínicas decorrentes do procedimento em 50% (10/20) dos animais com broncopneumonia induzida.

Os fragmentos pulmonares obtidos foram adequados à avaliação histopatológica. As alterações microscópicas entre os grupos G2 a G5 foram semelhantes em aparência e severidade. Consistiram em broncopneumonia fibrinosa lobar aguda, sendo caracterizada por maciça exsudação de proteínas plasmáticas para o interior dos brônquios, bronquíolos e alvéolos, e consequente obliteração da maioria dos espaços aéreos com exsudato. Observaram-se, nas seções histológicas, edema, hemorragia perivascular, distensão de septo alveolar, presença de fibrina em quantidade moderada e em alguns casos áreas de necrose de coagulação envolvendo grupos de alvéolos, delineados por capilares congestos e repletos de fibrina, material proteináceo, colônias bacterianas, eritrócitos, neutrófilos e macrófagos. Próximo à margem da lesão, notou-se a presença de exsudato contendo neutrófilos e macrófagos formando uma transição abrupta entre o tecido lesionado e o sadio, sem cápsula de tecido fibroso. Amostras de biópsia colhidas de dois bezerros (2/20, 10%) apresentavam a arquitetura tecidual pulmonar normal.

DISCUSSÃO

Nos bezerros sadios a biópsia pulmonar transtorácica foi facilmente realizada, sendo obtidas amostras adequadas à avaliação histológica, o que confirma as observações de DERKSEN (1999), que considera a técnica simples e de fácil execução. Porém, cuidados devem ser tomados com relação à ocorrência de artefatos no exame histológico, em virtude da biópsia pulmonar, incluindo colapso alveolar e invaginação do epitélio bronquiolar para o lúmen. A ocorrência desses artefatos, nas seções histológicas obtidas dos bezerros do grupo controle, deve-se, provavelmente, à compressão tecidual provocada pelo acionamento do dispositivo de corte da agulha de biópsia. Contudo, a biópsia foi considerada representativa, pois permitiu visualizar unidades funcionais do tecido pulmonar, como brônquios, bronquíolos e alvéolos em todas as seções histológicas. Trata-se de resultados semelhantes aos obtidos em bovinos por DUNGWORTH & HOARE (1970) e BRAUN et al. (1999), em equinos por DUNGWORTH & HOARE (1970) e RAPHEL & GUNSON (1981) e em ovinos por BRAUN et al. (2000).

Outros autores também visualizaram as mesmas lesões atribuídas ao procedimento de biópsia realizado no presente estudo (BRAUN et al., 1999, 2000). Entretanto, BRAUN et al. (1999) observaram escores de lesão inferiores, provavelmente porque no presente estudo a determinação desse escore foi realizada doze horas após a biópsia, não havendo tempo para que ocorresse reparo do tecido lesionado.

As alterações clínicas, observadas em bezerros sadios, após a biópsia são equivalentes às descrições prévias da literatura (BRAUN et al., 1999, 2000). A elevação das frequências cardíaca e respiratória ocorreu, provavelmente, em consequência do estresse da contenção dos bezerros em decúbito lateral, uma vez que elas retornaram a valores considerados normais para a espécie instantes depois da realização da técnica. A ausência de pneumotórax e hemotórax nos bezerros sadios contradiz as observações de outros autores que apontam essas situações como comuns após os procedimentos de biópsia pul-

monar (ZAVALA & BEDELL, 1972; OLGIVIE & MOORE, 1995).

Assim como no experimento de FAGLIARI (2003), a administração intratraqueal de cultura pura de *M. haemolytica* em fase logarítmica resultou no desenvolvimento de broncopneumonia em todos os bezerros. A variação na severidade da doença clínica entre os grupos e dentro dos grupos, provavelmente, foi consequência de diferenças na eficácia dos mecanismos de defesa pulmonar. Outro ponto que pode ter contribuído para essas variações refere-se ao nível de transferência de imunidade passiva, via anticorpos colostrais (BERTAGNON et al., 2007), fator esse não pesquisado neste estudo.

A biópsia pulmonar transtorácica mostrou-se útil na avaliação da broncopneumonia, corroborando com descrições observadas em bovinos portadores de pneumonia intersticial (PRINGLE, 1992), em equinos portadores de doença pulmonar obstrutiva crônica (RAPHEL & GUNSON, 1981; NAYLOR et al., 1992) e de hemorragia pulmonar induzida pelo exercício (DOUCET & VIEL, 2002), cães portadores de lesões pulmonares (ROUDEBUSH et al., 1981; WOOD et al., 1998) e cães e gatos portadores de lesões torácicas (McMILLAN et al., 1988). Considere-se, para isso, o fato de a biópsia ter caracterizado o quadro histopatológico de broncopneumonia fibrinopurulenta, semelhante às descrições observadas em bezerros com manheimiose (PANCIERA & CORSTVET, 1984; VESTWEBER et al., 1990). Confirma-se, desse modo, a utilidade desse procedimento no diagnóstico de afecções pulmonares de natureza infecciosa e em condições focais. Contudo, a observação da arquitetura tecidual pulmonar normal em 10% (2/20) das amostras obtidas de animais portadores de broncopneumonia pode ser explicada pela falta de representatividade da área pulmonar amostrada. Outrossim, registrou-se uma eficácia diagnóstica de 90% nos animais biopsiados, valor similar aos de outras descrições da técnica (STANLEY et al., 1987; WANG et al., 1988) e superior ao observado por ZAVALA & BEDELL (1972) e BALSLOV et al. (1988).

A auscultação pulmonar associada ao exame radiográfico do tórax permitiu a localização precisa da área pulmonar a ser pesquisada.

Apesar de a técnica de lavado broncoalveolar ser considerada efetiva no diagnóstico de enfermidades pulmonares (FAGLIARI, 2003; GONÇALVES et al., 2004; BERTAGNON et al., 2007), a biópsia pulmonar apresenta o diferencial de permitir a análise direta do parênquima pulmonar, podendo se tornar um método diagnóstico superior em termos de eficácia. Contudo, a observação de hemotórax após a biópsia em 25% (5/20) dos animais com broncopneumonia limita o uso dessa técnica. Essa alta frequência provavelmente ocorreu pela falta de utilização de métodos de imagem em tempo real que pudessem guiar o trajeto da agulha, uma vez que a área de lesão foi localizada na região cranioventral direita, próxima a estruturas vasculares de grosso calibre que compõem o hilo pulmonar.

CONCLUSÃO

A biópsia pulmonar transtorácica permitiu a avaliação da arquitetura tecidual do pulmão em bezerros clinicamente sadios e foi eficaz no diagnóstico histopatológico da broncopneumonia experimentalmente induzida por *M. haemolytica*.

Os métodos utilizados para guiar a biópsia, como o exame físico e a radiografia torácica, permitiram localizar corretamente a área de lesão a ser explorada. Contudo, a ocorrência de hemotórax agudo, principal complicação observada após a biópsia em 25% dos bezerros com broncopneumonia, torna essa técnica eletiva apenas quando métodos convencionais não tenham possibilitado o diagnóstico.

Maiores estudos devem ser realizados para melhorar a segurança e permitir a difusão da referida técnica.

AGRADECIMENTOS

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pelo financiamento (bolsa de mestrado) deste experimento, e ao Dr. Samuel K. Maheswara, do Departamento de Patobiologia da Universidade de Minnesota (EUA), pela doação das cepas de *Mannheimia haemolytica*.

REFERÊNCIAS

- BALSLOV, S.; VESTBO, J.; VISKUM, K. Value of Tru-cut lung biopsy in focal and diffuse lung disease. **Thorax**, v. 43, p.147-150, 1998.
- BERTAGNON, H. G.; SILVA, P. E. G.; WACHHOLZ, L.; LEAL, M. L. R.; FERNANDES, W. R.; BENESI, F. J. Imunoglobulinas no trato respiratório de bezerros sadios durante o primeiro mês de vida. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 27, n.12, p.487-490, 2007.
- BRAUN, U.; ESTERMANN, U.; FEIGE, K.; SYDLER, T.; POSPISCHIL, A. Percutaneous lung biopsy in cattle. **Journal of American Veterinary Medical Association**, v. 215, n. 5, p. 679-681, 1999.
- BRAUN, U.; ESTERMANN, U.; FLÜCKIGER, M.; SYDLER, T.; POSPISCHIL, A. Ultrasound-guided percutaneous lung biopsy in sheep. **Veterinary Record**, v. 146, n.18, p. 525-528, 2000.
- CONFER, A. W.; PANCIERA, R. J.; MOSIER, D. A. Bovine pneumonic pasteurellosis: immunity to *Pasteurella haemolytica*. **Journal of American Veterinary Medical Association**, v.193, p. 30-36, 1988.
- DERKSEN, F. J. Ancillary diagnostic aids. In: COLAHAN, P. T.; MAYHEW, I. G.; MERRITT, A.M.; MOORE, J. N. **Equine medicine and surgery**. Mosby: St Louis, 1999. p. 446.
- DOUCET, M. Y.; VIEL, L. Clinical, radiographic, endoscopic, bronchoalveolar lavage and lung biopsy findings in horses with exercise-induced pulmonary hemorrhage. **Canadian Veterinary Journal**, v. 43, p.195-202, 2002.
- DUNGWORTH, D. L.; HOARE, M. N. Trephine lung biopsy in cattle and horses. **Research Veterinary Science**, v. 2, p. 244-246, 1970.
- FAGLIARI, J. J. Estudo clínico e laboratorial da pneumonia de bezerros induzida pela inoculação intrabronquial de *Mannheimia haemolytica*. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 55, n.1, p. 8-14, 2003.
- GONÇALVES, R. C.; KUCHEMUCK, M. R. G.; CURI, P. R.; CHIACCHIO, S. B.; ALMEIDA, C. T.; BORGES, A. S. Diferenciação clínica da broncopneumonia moderada e grave em bezerros. **Ciência Rural**, v. 31, p. 263-269, 2001.
- GONÇALVES, R.C.; MATTOS, M.C.F.I.; KUCHEMUCK, M.R.G.; LOPES, R.S.; BORGES, A.S. Lavagem traqueobrônquica por sondagem nasotraqueal em bezerros. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 56, n. 3, p. 307-311, 2004.
- McCLENAHAN, D. J.; FAGLIARI, J. J.; EVANSON, O. A.; WEISS, D. J. Role of platelet-activating factor in alveolar septal injury associated with experimentally induced pneumonic pasteurellosis in calves. **American Journal of Veterinary Research**, v. 61, n. 3, p. 248-254, 2000.
- McMILLAN, M. C.; KLEINE, L. J.; CARPENTER, J. L. Fluoroscopically guided percutaneous fine-needle aspiration biopsy of thoracic lesions in dogs and cats. **Veterinary Radiology**, v. 29, p.194-197, 1988.
- 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. **Canadian Veterinary Journal**, v. 33, p. 591-598, 1992.
- OLGIVIE, G. K.; MOORE, A. S. **Managing the veterinary cancer patient: a practice manual**. New Jersey: Veterinary Learning System Co., 1995. 542 p.
- PANCIERA, R. J.; CORSTVET, R. E. Bovine pneumonic pasteurellosis: model for *Pasteurella haemolytica* and *Pasteurella multocida*-induced pneumonia in cattle. **American Journal of Veterinary Research**, v. 45, p. 2532-2537, 1984.
- PRINGLE, J. K. Ancillary testing for the ruminant respiratory system. **Veterinary Clinics of North American**, v. 8, n. 2, p. 243-256, 1992.
- QUINN, P.J.; CARTER, M. E.; MARKEY, B.; CARTER, G. R. **Clinical Veterinary Microbiology**, London: Wolfe, 1994. 648p.
- RAPHEL, C. F.; GUNSON, D. E. Percutaneous lung biopsy in the horse. **Cornell Veterinary**, v.71, p. 439-448, 1981.
- ROUDEBUSH, P.; GREEN, R.A.; DIGILIO, K. M. Percutaneous fine-needle aspiration biopsy of the lung in disseminated pulmonary disease. **Journal American Animal Hospital Association**, v.17, p.109-116, 1981.
- SILVA, D. P. G. **Avaliação da técnica de biopsia pulmonar transtorácica em bezerros clinicamente sadios e com broncopneumonia induzida experimentalmente**. Botucatu, 2003. 76f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina, Universidade Estadual Paulista, 2003.
- STANLEY, J. H.; FISH, G. D.; ANDRIOLE, J. G.; GOBIEN, R. P.; BETSILL, W. L.; LADEN, S. A.; SCHABEL, S. I. Lung lesions: cytologic diagnosis by fine-needle biopsy. **Radiology**, v.162, n. 2, p. 389-391, 1987.

- STONE, E.A. Biopsy: principles, technical considerations and pitfalls. **Veterinary Clinics of North American: Small Animal Practice**, v. 25, n.1, p. 33-45, 1995.
- VESTWEBER, J. G.; KLEMM, R. D.; LEIPOLD, H. W.; JOHNSON, D. E. Pneumonic pasteurellosis induced experimentally in genotobiotic and conventional calves inoculated with *Pasteurella haemolytica*. **American Journal Veterinary Research**, v. 51, p.1799-1805, 1990.
- VIEL, L. Diagnostic procedures, prognosis and therapeutic approaches of chronic respiratory diseases in horses. **Canadian Veterinary Journal**, v. 26, p. 33-35, 1985.
- WANG, K. P.; KELLY, S. J.; BRITT, J.E. Percutaneous needle aspiration biopsy of chest lesions. **Chest**, v. 93, p. 993-997, 1988.
- WARNER, A. E. Diagnostic procedures for the respiratory system. In: SMITH, B. P. **Large animal internal medicine: diseases of horses, cattle, sheep, and goats**. St Louis: CV Mosby, 1990. p. 582-594.
- WOOD, E. F.; O'BRIEN, R. T.; YOUNG, K. M. Ultrasound-guided fine-needle aspiration of focal parenchymal lesions of the lung in dogs and cats. **Journal Veterinary Internal Medicine**, v.12, p. 338-342, 1998.
- ZAVALA, D.C.; BEDELL, G.N. Percutaneous lung biopsy with a cutting needle. **American Review Respiratory Disease**, v. 106, p.186-193, 1972.

Protocolado em: 13 jul. 2008. Aceito em: 22 abr. 2009