

## IMPORTÂNCIA DO LAVADO BRONCOALVEOLAR PARA O DIAGNÓSTICO E TRATAMENTO DAS AFECÇÕES RESPIRATÓRIAS

Prof. Dr. Daniel Augusto Barroso Lessa  
M.V., MSc., DSc.  
Clínica Médica de Grandes Animais  
Faculdade de Veterinária/UFRJ  
lessadab@vm.uff.br

### Introdução:

A obtenção de material do trato respiratório posterior por meio de aspirações traqueais ou traqueobrônquicas com vistas ao diagnóstico de enfermidades não é recente e veterinários brasileiros como os professores Ivan Deconto, Wilson Roberto Fernandes, Roberto Calderón, Pedro Michelotto e outros, estão envolvidos nisto há bastante tempo, trazendo contribuições importantes e que não podem deixar de ser assinaladas.

O lavado broncoalveolar (LBA) é um método pelo qual se obtém amostras (células, secreções e moléculas) provenientes das porções mais distais do trato respiratório por meio da infusão de fluido isotônico e imediata aspiração do mesmo (FERNANDES et al., 2000). É um procedimento importante, pois permite obter amostras para estudo citológico, estudos de função ou de atividade celular além de determinações bioquímicas como, por exemplo, dosagens de imunoglobulinas, enzimas e surfactante (SWEENEY & BEECH, 1991).

A técnica de LBA foi primeiramente adaptada por Viel (1983) e quando comparada aos aspirados traqueais ou traqueobrônquicos, permite obter amostras muito representativas da população celular pulmonar. Além disso, é considerado um método sensível para o diagnóstico de enfermidades inflamatórias não-infecciosas pulmonares (HOFFMAN, 1999), tais como: obstrução recorrente das vias aéreas (ORVA) e doença inflamatória das vias aéreas (DIVA). Também é útil para diagnóstico de hemorragia pulmonar por esforço (MCKANE & ROSE, 1993).

Embora esta técnica de diagnóstico seja bastante utilizada em outros países, ainda é pouco difundida em nosso meio. Apesar disso, verificamos que alguns colegas já fazem uso desta importante ferramenta.

### Generalidades:

O LBA pode ser realizado de duas formas: (1) por meio de endoscópios com comprimento maior que 2 metros e 8 mm de diâmetro externo, permitindo selecionar o local desejado para a coleta, (2) por meio de sondas com "cuff" (Veterinary Bronco-Alveolar Catheter, SURGIVET®) ou sem "cuff" (FOGARTY®).

É importante saber as vantagens de cada técnica de coleta, de forma a poder optar pela que pode ser mais útil, dependendo da ocasião ou disponibilidade de material e equipamento. Segundo MCGorum & Dixon (1994) as coletas com endoscópio apresentam alto índice de sucesso, permitem selecionar o local desejado para obtenção da amostra e determinam baixa incidência de hemorragia pulmonar iatrogênica. Acreditamos que para a nossa realidade esta técnica seja muito dispendiosa e de pouca praticidade no campo, uma vez que necessita-se inclusive de anestesia geral. Com relação à coleta através de sondas, estas são mais baratas e mais apropriadas para animais maiores e permitindo a lavagem dos lobos caudais pulmonares, por serem mais longas. Isto é importante para a detecção de hemorragias induzidas pelo exercício (HPIE), uma vez que geralmente ocorrem nas zonas mais profundas do pulmão e nem sempre ocorre transposição do sangue para porções mais craniais.

### Indicações clínicas:

As principais indicações para a execução de LBA são para o diagnóstico das doenças pulmonares difusas ou multifocais não infecciosas tais como: ORVA, HPIE e DIVA (MANSMANN & KING, 1998; HOFFMAN, 1999).

Nos quadros infecciosos localizados tais como broncopneumonias e pleuropneumonias, é recomendável colher amostras das secreções respiratórias por meio de aspiração traqueal, uma vez que através do LBA pode-se inadvertidamente colher amostras de segmentos pulmonares não afetados (MCGORUM & DIXON, 1994). Ratificando esta informação, Rossier et al. (1991) observaram que praticamente metade dos resultados das citologias broncoalveolares em animais portadores de processos infecciosos bacterianos, como os acima citados, apresentaram-se normais.

Pode-se também utilizar esse método para o monitoramento terapêutico e como mais um teste auxiliar na investigação de mau desempenho atlético (MANSMANN & KING, 1998).

### Reações adversas:

É do nosso conhecimento que alguns colegas, treinadores e proprietários têm medo de executarem ou permitirem o procedimento por medo de afogamento. Isto não acontece, pois o volume infundido é pequeno com relação à área total da luz pulmonar. Além disso, a presença do "cuff" inflado limita a infusão a uma pequena área e a capacidade de absorção da mucosa respiratória faz com que em pouco tempo fluido seja absorvido.

A execução do LBA pode desencadear discreta inflamação, leve hiperemia da mucosa e hemorragia pulmonar, tosse transitória, piroxia e infiltrado neutrofílico pulmonar (MCGORUM & DIXON, 1994). Hipoxemia transitória e bradicardia foram problemas relatados somente em humanos (HOFFMAN & VIEL, 1997), talvez em função do diâmetro das vias respiratórias e da consciência como fator determinante de estresse.

Devido ao LBA induzir um infiltrado neutrofílico pulmonar local ou generalizado com duração de pelo menos 48 horas, o intervalo entre lavados seriados deve ser de pelo menos 72 horas (MCGORUM & DIXON, 1994).

Apesar destas possíveis complicações, em nossa rotina não temos verificado problemas clínicos decorrentes das coletas de LBA.

### Contra-indicações:

Para seres humanos a técnica é contra-indicada em pacientes com débito cardíaco diminuído, hipovolemia, arritmias, cianose e qualquer sinal de dispnéia (COSTABEL et al<sup>1</sup> *apud* HOFFMAN & VIEL, 1997). Cavalos com problemas de hemostasia ou que não foram devidamente contidos após a sedação não devem ser submetidos à coleta devido à possibilidade de dilaceração da mucosa nasal, lesões etmoidais ou bronquiais (HOFFMAN & VIEL, 1997).

---

<sup>1</sup> Costabel, U.; Danel C.; Haslam P.; et al: Technical recommendations and guidelines for bronchoalveolar lavage (BAL). Report of the European Society of Pneumology Task Group on BAL. Eur Respir J 2:561-585, 1989.

## Técnica de coleta:

Independente da técnica utilizada há a necessidade de uma boa higienização das narinas, contenção física com cachimbo, tronco ou brete (opcional) e contenção química. MCGorum & Dixon (1994) recomendam 50 $\mu$ g de cloridrato de romifidina<sup>2</sup>/kg ou 10 $\mu$ g de cloridrato de detomidina<sup>3</sup>/kg associada com 10 $\mu$ g de tartarato de butorfanol<sup>4</sup>/kg. Hoffman & Viel (1997) recomendam a utilização de cloridrato de xilazina<sup>5</sup> (0,5-1,1 mg/kg IV), cloridrato de detomidina (3-6 mg IV) ou associação destes com tartarato de butorfanol. Os dois 2 agonistas citados apresentam propriedades broncodilatadoras e podem diminuir a tosse e o broncospasmo (HOFFMAN, 1999). A anestesia geral para coleta de LBA foi empregada por Dyer et al. (1983), mas não é prática para a rotina diagnóstica.

Para animais com hiperreatividade da vias aéreas (tosse e broscosmasmo) Hoffman & Viel (1997) e Hoffman (1999) recomendam a utilização prévia de broncodilatadores.

Descreveremos em seguida a rotina de coleta adotada por Lessa (2003) que é baseada na técnica descrita Hoffman (1999), com pequenas adaptações.

Os animais são contidos com cachimbo e sedados com cloridrato de romifidina na dosagem de 0,04 mg/kg, ou cloridrato de xilazina na dosagem de 0,5mg/kg, ambas administradas por via IV. Podemos ainda colocar os animais num tronco ou brete. Executa-se a higienização das narinas com água destilada e sabão neutro. Uma sonda de silicone (Veterinary Bronco-Alveolar Catheter, SURGIVET<sup>®</sup>) apresentando um balão inflável em uma das extremidades<sup>6</sup>, previamente esterilizada em autoclave (120°C/20 min) ou desinfetado por imersão em solução de glutaraldeído a 4%<sup>7</sup> por 30 minutos e lavada com água destilada, é inserida até a faringe através do meato nasal inferior. Instila-se uma pequena quantidade da solução de cloridrato de lidocaína a 0,5% sem vaso constritor aquecida a 37°C na glote e traquéia. Espera-se 1 a 2 minutos para diminuir o reflexo de tosse.

Com a cabeça do eqüino posicionada em extensão da articulação atlanto-occipital, o mais horizontal possível, insere-se a sonda na traquéia. Uma vez neste local, instila-se mais 20-30 mL da solução de lidocaína. Quando da passagem desta pela carina, normalmente o reflexo de tosse é desencadeado. A instilação do anestésico prossegue à medida que este fenômeno ocorre, normalmente não ultrapassando um volume total de 60 mL. Avança-se com a sonda lentamente até encontrar resistência. Neste ponto infla-se o balão com até 10 mL de ar e fixa-se a extremidade posterior da sonda à narina.

O perfeito acoplamento entre a sonda e a luz brônquica é fundamental para o sucesso da técnica. Hoffman (1999) cita que os métodos de lavagem das vias aéreas nos quais a sonda não fica perfeitamente ajustada à luz brônquica é considerada uma lavagem bronquial. O fluido recuperado é tipicamente diluído, as células são escassas e os valores de referência variam para a contagem diferencial podendo não ser um bom material para análise e auxílio no diagnóstico.

Um frasco de 250mL de solução salina aquecida a 37°C é acoplado a um equipo, o qual é conectado à sonda por meio de uma conexão (três saídas em "T"). Por meio da insuflação do frasco de solução salina com pêra de borracha, infunde-se todo o volume, sob pressão. Em seguida o registro da conexão em "T" é reposicionado abrindo para uma outra saída onde está conectada uma seringa de 60 mL para aspiração do lavado. O fluido é então aspirado e acondicionado em frasco de vidro, plástico ou tubo siliconizado e mantido em gelo até a hora do processamento.

---

<sup>2</sup> Sedivet<sup>®</sup>, Boehringer Ingelheim, Divisão Vetmédica, Itapecerica da Serra – SP.

<sup>3</sup> Dormium V<sup>®</sup>, Agener.

<sup>4</sup> Torbugesic<sup>®</sup>, Fort Dodge Saúde Animal, Campinas – SP.

<sup>5</sup> Sedazine<sup>®</sup>, Fort Dodge Saúde Animal, São Paulo – SP.

<sup>6</sup> Veterinary Broncho-Alveolar Catheter, Surgivet<sup>®</sup>, U.S.A.

<sup>7</sup> Glutacid<sup>®</sup>, Ceras Jhonson, Rio de Janeiro – RJ.

O silicone e o resfriamento da amostra evitam a aderência dos macrófagos à superfície interna do recipiente de coleta, assim como o frio também retarda o crescimento bacteriano e as alterações morfológicas celulares. Todos estes fatores podem interferir na interpretação dos resultados. Pickles et al. (2002) observaram que amostras de LBA não fixadas apresentaram crescimento bacteriano significativo com 24h a 4°C e 8h a 18 e 38°C. Alterações morfológicas à citologia também foram observadas nas amostras coletadas mantidas por 48h a 4°C, 24h a 18°C e ainda por 8h a 38°C.

MCGorum & Dixon (1994) recomendam que a amostra deva ser analisada com no máximo 4 horas a partir da coleta para prevenir a deterioração da morfologia celular. Se não puder ser analisada até 24 h após a coleta, a deterioração e o crescimento bacteriano podem ser minimizados com a adição em partes iguais de uma substância fixadora (por exemplo, etanol a 40% ou um fixador específico para citocentrifugação). Porém, muitos fixadores afetam a morfologia celular ou a preparação para a citocentrifugação, tornando difícil a identificação das mesmas. Desta forma é importante submeter amostras de LBA com e sem fixador para análises laboratoriais. Ao contrário disso, Pickles et al. (2002) observaram que amostras de LBA apresentaram deterioração da morfologia celular após 4h fixadas com produto à base de álcool (fixador de Saccamanno).

### Características macroscópicas:

É importante observar as características do material obtido. Deve-se anotar o volume recuperado, a coloração, o aspecto, a presença de surfactante (espuma) e de partículas mucóides em suspensão. Existem na literatura alguns escores para esta avaliação macroscópica (por exemplo: MCKANE et al., 1993 e MORI 2000), porém em linhas gerais uma amostra representativa deve ter um volume recuperado de 50 a 150 mL/250 mL infundido, devendo ser incolor, discretamente turva, com presença de surfactante e com partículas em suspensão ou em pequenas quantidades caso existam.

Presença de surfactante (espuma) significa que efetivamente foi coletada amostra da porção distal do trato respiratório e a amostra deve ser adequada. A ausência de espuma pode significar falha na lavagem ou animal com enfermidade que cause prejuízo na produção do surfactante, freqüentemente visto em animais com ORVA (HOFFMAN, 1999).

### Avaliação citológica:

As contagens totais são executadas em Câmara hematómica de Neubauer modificada, contudo são consideradas de pouco valor diagnóstico em virtude da alta variabilidade de recuperação das células no pulmão do equino (MCGORUM & DIXON, 1994). Apesar disso, os mesmos autores relatam, para oito eqüinos saudáveis, valores medianos de 235 células./ $\mu$ L com variação de 120-640 células/ $\mu$ L. No quadro encontram-se mais valores para contagens totais em animais saudáveis.

Quadro – Autores com respectivos volumes infundidos, contagens celulares total ( $\times 10^5$  células/mL) e diferencial (%) do LBA, segundo os tipos celulares, para eqüinos considerados saudáveis.

Referência	Volume (mL)	Total ( $\times 10^5$ /mL)	Macrófago (%)	Hemosideróforo (%)	Linfócito (%)	Neutrófilo (%)	Mastócito (%)	Eosinófilo (%)	Célula epitelial (%)
------------	----------------	-------------------------------	------------------	-----------------------	------------------	-------------------	------------------	-------------------	-------------------------

SWEENEY BEECH (1991)	200-500	< 5	40 - 45	...	40 - 45	<5	MINORIA	MINORIA	...
SWEENEY et al. (1992b)	300	3,35 ± 1,36*	44,7 ± 9,4*	...	46,5 ± 11,4*	2,4 ± 1,9*	4,8 ± 3,4*	1,6 ± 3,6*	...
MCGORUM et al. (1993) LDD	300	0,9 (0,5-1,4) <sup>¶</sup>	49,7 (36,0-74,3) <sup>¶</sup>	...	39,7 (20,0-51,3) <sup>¶</sup>	1,0 (0,7-4,0) <sup>¶</sup>	9,3 (0,7-12,3) <sup>¶</sup>	0 (0,0-0,7) <sup>¶</sup>	0,3 (0,0-1,7) <sup>¶</sup>
MCGORUM et al. (1993) LDE	300	0,8 (0,35-2,0) <sup>¶</sup>	61,7 (29,3-75,7) <sup>¶</sup>	...	24,3 (17,0-56,7) <sup>¶</sup>	1,3 (0,0-2,3) <sup>¶</sup>	9,3 (4,3-13,7) <sup>¶</sup>	0 (0,0-0,7) <sup>¶</sup>	1,0 (0,0-3,3) <sup>¶</sup>
HARE et al. (1994)	2 x 250	5,3 ± 1,7*	60,1 ± 4,8*	...	36,7 ± 5,4*	2,2 ± 1,4*	0,4 ± 0,4*	0,03 ± 0,1*	0,4 ± 0,5*
LAPOINTE et al. (1994)	2 x 250	7,17 ± 1,09*	39,2 ± 6,6*	...	55,4 ± 7,1*	4,2 ± 3,0*	1,3 ± 1,4*	-	...
MOORE et al. (1995)	300	1,53 ± 0,17 ⌘	64,8 ± 4,6 ⌘	...	28,3 ± 2,9 ⌘	3,8 ± 0,3 ⌘	0,3 ± 0,3 ⌘	1,2 ± 0,8 ⌘	...
VIEL (1997a)	...	...	60,1 ± 1,4 ⌘	...	36,7 ± 1,6 ⌘	2,2 ± 0,4 ⌘	0,4 ± 0,1 ⌘	0,03 ± 0,03 ⌘	0,4 ± 0,1 ⌘
HARE VIEL (1998)	2 x 250	3,6 (2,6-5,4) <sup>¶</sup>	67,7 (61,0-78,8) <sup>¶</sup>	...	31,5 (19,0-35,0) <sup>¶</sup>	0,4 (0,2-1,4) <sup>¶</sup>	1,0 (0,0-2,8) <sup>¶</sup>	0,3 (0,0-1,0) <sup>¶</sup>	-
HOFFMAN (1999)	2 x 250	...	MAIORIA	...	MAIORIA	<5	<2	<1	...
COUËTIL DENICOLA (1999)	250	4,45 ± 1,42*	68,8 ± 8,8*	16,6 ± 19,4*	22,9 ± 7,4*	3,8 ± 5,5*	...	...	...
COUËTIL et al. (2001)	250	3,21 ± 1,00*	57,1 ± 10,3*	...	31,4 ± 13,0*	6,8 ± 2,7*	1,5 ± 0,8*	0,3 ± 0,5*	...

LESSA (2003)	250-500	2,31 ± 0,96*	53,11 ± 7,85*	1,69 ± 4,23*	41,33 ± 9,60*	2,35 ± 1,20*	2,43 ± 2,30*	0,42 ± 1,02*	0,23 ± 0,43*
--------------	---------	--------------	---------------	--------------	---------------	--------------	--------------	--------------	--------------

...: valores não informados; -: valores nulos; LDD: lobo diafragmático direito; LDE: Lobo diafragmático esquerdo; \*média ± DP; † mediana; ♂ média ± erro padrão

As preparações citológicas para as contagens diferenciais podem ser realizadas por citocentrifugação ou por confecção de esfregaços a partir de sedimento obtido em centrífuga convencional (MCGORUM, 1993, MCGORUM & DIXON, 1994). Fernandes et al. (2000), Mori (2000) e Lessa et al. (2002) trabalharam com velocidade de citocentrifugação de 28G por 6 minutos. Para confeccionar esfregaços, Lessa et al. (1999) utilizaram velocidade de 226G por 5 minutos em centrífuga convencional, adicionando soro eqüino ao sedimento obtido. De modo semelhante, Pickles et al. (2002) utilizaram 328G por 6 minutos, considerando esta modalidade de preparação como uma alternativa confiável para o diagnóstico citológico de quadros de doença inflamatória das vias aéreas com infiltrado neutrofílico.

Após a preparação da lâmina, a mesma deve ser seca ao ar, fixada em metanol e corada segundo as técnicas hematológicas convencionais conforme a rotina de trabalho do laboratório. MCGorum & Dixon (1994) recomendaram a utilização da coloração de Giemsa ou Leishman e Hoffman (1999) preconizou as colorações instantâneas, Wright-Giemsa, May-Grünewald ou similares. Lessa et al. (1999) utilizaram o corante de Wright. O método de coloração de Rosenfeld (1947) também já foi empregado para a avaliação citológica do trato respiratório posterior (FERNANDES et al., 2000, MORI, 2000, LESSA et al., 2002, LESSA, 2003). Para a evidenciação de hemossiderófagos pode-se utilizar a coloração de Azul da Prússia e para mastócitos a de Azul de Toluidina (HOFFMAN, 1999).

Para a contagem diferencial avalia-se no mínimo 300 células e se expressa em porcentagem. Também se pode levar em conta os aspectos morfológicos e aspecto do muco.

O LBA de animais normais apresenta predominantemente macrófagos alveolares, linfócitos, mastócitos, um pequeno número de células epiteliais ciliadas, não ciliadas e eosinófilos. Além destas, células basofíloides também podem estar presentes. Os macrófagos variam de tamanho e morfologia, podendo ser multinucleados e com formas mitóticas comumente observadas. Eles apresentam uma reduzida relação núcleo:citoplasma e são prontamente reconhecidos quando grandes e vacuolados (MCGORUM & DIXON, 1994). Da mesma forma, Freeman & Roszel (1997) também consideraram que amostras de LBA normais geralmente apresentavam proporções aproximadamente iguais entre macrófagos alveolares e pequenos linfócitos. Por outro lado também observaram que a celularidade pode ser moderada, podendo ainda existir uma presença discreta de muco no fundo das lâminas. O número de células epiteliais e os tipos variam dependo do ponto de aspiração. Ainda que muco e eosinófilos estejam ausentes poucos neutrófilos podem estar presentes. Com relação à morfologia dos macrófagos, Moore (1996) relata que tais células devem ter aparência uniforme, com o mínimo de vacuolização citoplasmática e Fernandes et al. (2000) observaram, esporadicamente, formas bi, tri e multinucleadas de macrófagos em cavalos clinicamente sadios. A variação dos tipos celulares encontrados depende, dentre outros fatores, do volume infundido e recuperado (SWEENEY et al., 1992). No Quadro são apresentados alguns valores encontrados na literatura para as contagens celulares total e diferencial do LBA, com os seus respectivos volumes infundidos, para eqüinos considerados clinicamente sadios. Notar que a faixa de variação dos volumes utilizados pelos autores referenciados, abrange o volume recomendado (250 mL) na técnica de coleta descrita previamente.

A presença de hemossideróforos no LBA de animais atletas clinicamente saudáveis não é incomum. McKane et al. (1993) trabalhando com cavalos de corrida em treinamento, verificaram uma porcentagem de 73% das amostras com eritrócitos livres e 90% com hemossideróforos, caracterizando nestes animais a ocorrência imediata ou prévia de hemorragia pulmonar induzida pelo exercício (HPIE).

## **Principais padrões citológicos das enfermidades respiratórias de eqüinos:**

### **Hemorragia Pulmonar Induzida pelo Exercício (HPIE)**

O LBA é particularmente útil para o diagnóstico de hemorragia pulmonar induzida pelo exercício (HPIE). A lavagem com cateter permite colher material dos lobos caudais dos pulmões (MCKANE & ROSE, 1993), locais onde geralmente ocorrem as hemorragias por esforço.

Após uma hemorragia pulmonar, eritrócitos são fagocitados por macrófagos pulmonares e seus grupos heme são reduzidos a hemossiderina, dando origem aos hemossideróforos. Este pigmento é facilmente reconhecido nas colorações hematológicas rotineiramente empregadas como grânulos intracitoplasmáticos de coloração âmbar, verde ou marrom. Os hemossideróforos deixam lentamente os pulmões e podem ser observados no LBA de animais que não correm há vários meses (MCGORUM & DIXON, 1994).

Ainda que a presença de tais células seja uma evidência citológica de HPIE (DERKSEN et al., 1989; FOGARTY & BUCKLEY, 1991; MCKANE et al., 1993), elas também estão presentes em outras condições clínicas tais como insuficiência cardíaca esquerda, broncopneumonias, pleuropneumonias e pneumonia por aspiração (ROSZEL et al., 1988).

Freeman & Roszel (1997) consideraram como padrão citológico comumente encontrado em HPIE um aumento moderado a marcante de finos cordões de muco, numerosos macrófagos espumosos (ativados) e geralmente um alto grau de celularidade. Também observaram variados graus de atipia das células epiteliais do trato respiratório. Quanto ao aspecto inflamatório observaram ser uma condição variável podendo ter aumento de linfócitos ou neutrófilos.

### **Obstrução Recorrente das Vias Aéreas (ORVA)**

Em virtude de novas informações, tanto na medicina humana quanto na medicina eqüina, terem demonstrado grandes diferenças entre a DPOC nestas duas espécies, Robinson (2001) recomenda a utilização do termo obstrução recorrente das vias aéreas quando se referir à obstrução de vias aéreas em cavalos mais velhos, a qual pode ser revertida por modificações de ambiente ou por uso de broncodilatadores.

O quadro citológico classicamente observado nestes casos caracteriza-se pela presença de infiltrado neutrofílico variável. Viel (1997) encontrou valores médios de  $44,8 \pm 7,3\%$  para este tipo celular enquanto Derksen et al. (1985) observaram valores que variaram em torno de 40% até aproximadamente 80%. Hoffman (1999) observou uma variação de menos de 10% até próximo a 80%, sendo que a maioria dos animais apresentou contagem de neutrófilos abaixo de 50%.

O aumento do número de neutrófilos na contagem citológica do LBA é rotineiramente considerado um indicador para o diagnóstico de ORVA (MCGORUM & DIXON, 1994). Porém, este quadro ocorre predominantemente durante a fase aguda da doença, enquanto no período de remissão clínica e em menor escala, no início da coalescência, a população predominante é a de linfócitos (DERKSEN, 1985).

O aumento da celularidade e a presença de muco caracterizam o lavado broncoalveolar da doença obstrutiva. Tanto fibrina quanto muco podem ser encontrados em formas cilíndricas ou em blocos, mais espessos ou em pequenos fragmentos, ou mesmo em camadas. Os cilindros de muco de forma espiral chamados espirais de Curschmann caracterizam obstrução bronquiolar, e são rotineiramente encontrados na doença obstrutiva. Os tipos celulares encontrados são variáveis, mas o aumento da contagem ocorre principalmente com os neutrófilos e linfócitos, assim como com os macrófagos, os quais aparecem geralmente ativados. Células epiteliais bronquiolares também estão presentes, podendo estar em número elevado ou não, apresentando de moderada à acentuada atipia (FREEMAN & ROSZEL, 1997).

Os achados de nossa rotina estão de acordo com os autores acima. Já observamos animais clinicamente enfermos apresentando 60% de neutrófilos e 29% de linfócitos. Em contrapartida já verificamos animais com aumento na contagem de linfócitos nos quais a contagem de neutrófilos foi normal (4,3%) ou apresentou discreto aumento (9,0%).

### **Doença Inflamatória das Vias Aéreas (DIVA)**

A Doença Inflamatória das Vias Aéreas (DIVA), também denominada de inflamação das vias aéreas posteriores (BURREL, 1985), inflamação das pequenas vias aéreas posteriores (HOFFMAN, 1999; HOFFMAN & VIEL, 1997), doença das pequenas vias aéreas (VIEL, 1997b) e inflamação do trato respiratório posterior ou doença das vias aéreas posteriores (LAVOIE, 1997), é uma síndrome inflamatória não séptica das vias aéreas posteriores, particularmente de animais jovens (ROBINSON, 2001). Também é considerada por Hoffman (1999), Lavoie (1997) e Viel (1997a, b) como um estágio inicial da ORVA.

Esta enfermidade pode apresentar diferentes quadros citopatológicos com o envolvimento de um ou mais tipos celulares. Hoffman (1999) observou que esta variação parece ser tanto técnica quanto regional. As contagens mais altas de mastócitos são em animais jovens enquanto as contagens mais altas de neutrófilos são em animais mais velhos, acima de 10 anos. Hoffman (1995) correlacionou este fato à possibilidade de cavalos experimentarem uma reação inicial da fase inflamatória (mediada por mastócito) ou tardia (neutrófilo, eosinófilo) no momento do exame, como visto na asma humana.

De acordo com os tipos celulares observados, diferentes padrões inflamatórios foram propostos. Moore et al. (1995) avaliando 32 eqüinos "Standardbred" em treinamento e com histórico de queda de performance, observaram o aumento significativo na contagem celular total e nos valores absolutos para neutrófilos, linfócitos e macrófagos. Este perfil citológico de DIVA foi considerado como padrão inflamatório misto. Além disso, quatro animais apresentaram marcante infiltrado eosinofílico (24,7%). Já Couëttil et al. (2001) consideraram como padrão citológico inflamatório misto, um aumento significativo na contagem absoluta de linfócitos e um aumento não significativo no percentual de neutrófilos. Moore (1996) e Bain (1997) sugeriram as seguintes categorias: (1) inflamação mista com aumento na contagem total de leucócitos e um moderado infiltrado neutrofilico (15%), (2) aumento de células metacromáticas (> 2% de mastócitos) e (3) inflamação com aumento no número de eosinófilos. Em um grupo de 12 animais, Viel (1997) observou infiltrado neutrofilico (8,6%) acompanhado de mastócitos (8,3%) em 7 animais e nos 5 restantes apenas infiltrado eosinofílico (13,3%).

Freeman & Roszel (1997) relataram que o padrão citológico compatível com alergia respiratória é uma inflamação com infiltrado eosinofílico, com evidências de irritação difusa de grandes e/ou pequenas vias aéreas, indicada por uma atipia variável de células epiteliais, ausência de debris necróticos, como os que ocorrem na migração larval parasitária através do pulmão, e aumento no muco. Ainda que a inflamação seja variável, geralmente existe pelo menos moderado número de neutrófilos. Ocasionalmente a

inflamação com infiltrado neutrofílico é discreta ou ausente, e aumento na contagem de linfócitos pode ser aparente. O número de macrófagos está consistentemente aumentado e muitos são espumosos.

Com relação aos eosinófilos, Hare & Viel (1998) consideram enfermos os animais que apresentem contagem acima de 5%.

O LBA de cavalos com ORVA ou cavalos jovens com DIVA em estado agudo, pode também demonstrar células epiteliais com perda de cílios e dano citoplasmático, entretanto, a separação da placa ciliar inteira é raramente evidente nestes casos (HEWSON & VIEL, 2002).

### **Efeitos de estabulação**

Tremblay et al. (1993) estudando os efeitos da estabulação sobre os tipos celulares observados no LBA, de animais sadios e com ORVA, verificaram que após a estabulação, em ambos os grupos, a porcentagem de neutrófilos aumentou. No grupo sadio triplicou e no grupo com ORVA esse número passou de 30% para 72%.

Holcomb et al. (2001) afirmaram que os restos orgânicos possuem antígenos, endotoxinas e uma variedade de partículas capazes de iniciar uma inflamação nas vias aéreas em animais sadios. Em um estudo com cavalos árabes jovens após a estabulação, os autores observaram um aumento do número absoluto e da porcentagem de neutrófilos (10,8%) no LBA, assim como uma porcentagem menor de linfócitos. Em contrapartida, quando os animais estavam a pasto a contagem de neutrófilos foi de 3,6%. Nesse estudo, porém, nenhum animal apresentou sinais evidentes de doença respiratória, durante o exame clínico, não ficando claro o significado desse achado. Os autores concluíram que este influxo leucocitário ocorreu em função de uma reação de defesa contra a exposição a finas partículas e consideraram importante a minimização desta exposição no manejo de todos os cavalos, principalmente daqueles cujo trato respiratório é mais exigido.

### **Infecção viral**

Infiltrados neutrofílicos não ocorrem apenas em decorrência de doenças inflamatórias não infecciosas ou como efeito de estabulação, podendo também ser decorrentes de processos virais. Kydd et al. (1996) avaliaram a população de leucócitos no LBA de sete pôneis fêmeas (cinco suscetíveis e duas imunizadas) antes e depois da nebulização com aerosol infectado com o herpesvírus equino tipo 1 (HVE-1). Verificaram que no segundo dia após a infecção, ocorreu infiltrado neutrofílico transitório, coincidindo com a redução no número de macrófagos e linfócitos.

Um aumento de origem não traumática na população de células epiteliais do LBA também é comumente observado em animais com infecções virais (HEWSON & VIEL, 2002).

### **Novas perspectivas:**

Hoje em dia, o lavado tem sido utilizado não apenas para as avaliações citológicas. Estamos trabalhando para conseguir estabelecer valores de atividades enzimáticas que vão nos ajudar no diagnóstico de algumas doenças, à semelhança do que já acontece em outras espécies. Além disso, o LBA tem sido usado por pesquisadores aqui e no exterior, para obter material para pesquisas imunológicas do trato respiratório posterior dos

eqüinos. Temos certeza que estas pesquisas vão contribuir para um melhor entendimento dos mecanismos fisiopatológicos das doenças pulmonares e, por conseguinte, para um aprimoramento de seu tratamento.

### **Conclusão:**

Em face do exposto tenho plena convicção que o LBA é útil para a abordagem clínica das principais afecções do trato respiratório posterior dos eqüinos. Espero que as informações aqui contidas permitam que todos possam utilizar este procedimento no seu dia-a-dia.

### **Referências bibliográficas:**

AMARAL, P. C.; GRAÇA, F. A. S.; VIANNA, L. F. C. G.; BORGES, J. R. J.; FERREIRA, A. M.; PIRES, N. R.; VOSS, C. Doença pulmonar obstrutiva crônica em eqüinos da Polícia Militar do Estado do Rio de Janeiro. *Revista Brasileira de Ciência Veterinária*, v.6, n.2, p.77-83, 1999.

BAIN, F. T. Cytology of the respiratory tract. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice*, Philadelphia, v.13, n.3, p.477-485, December 1997.

DERKSEN, F. J.; SCOTT, J. S.; MILLER, D. C.; SLOCOMBE, R. F.; ROBINSON, N. E. Bronchoalveolar lavage in ponies with recurrent airway obstruction (Heaves). *Am. Rev. Respir. Dis.*, v.132, p. 1066-1070, 1985.

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 Veterinary Journal*, v. 21, n. 1, p. 23-26, 1989.

DYER, R. M.; LIGGITT, D.; LEID, R. W. Isolation and partial characterization of equine alveolar macrophages. *American Journal of Veterinary Research*. v. 44, n. 12, p.2379-2384, 1983.

FERNANDES, W. R.; MORI, E.; SANCHES, A. Avaliação citológica de lavados traqueobrônquico e broncoalveolar em cavalos clinicamente sadios pelo método de coloração de Rosenfeld. *Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia*. v. 52, n. 6, p.604-609, 2000.

FOGARTY, U. Evaluation of a bronchoalveolar technique. *Equine Veterinary Journal*, v. 22, n.3, p. 174-176, 1990.

FOGARTY, U. & BUCKLEY, T. Bronchoalveolar lavage findings in horses with exercise intolerance. *Equine Veterinary Journal*, v. 23, n. 6, p. 434-437, 1991.

HARE, J. E.; VIEL, L. Pulmonary eosinophilia associated with increased airway responsiveness in young racing horses. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, v. 12, n. 3, p. 163-170, 1998.

HOFFMAN, A. M. & VIEL, L. Techniques for sampling the respiratory tract of horses. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice*. v. 13, n. 3, p.463-475, December 1997.

HOFFMAN, A. M. Bronchoalveolar lavage technique and cytological diagnosis of small airway inflammatory disease. *Equine Veterinary Education*, v. 11, n. 6, p.330-336, 1999.

HOLCOMBE, S.J.; JACKSON, C.; GERBER, V.; JEFcoat, A.; BERNEY, C.; EBERHARDT, S.; ROBINSON, N.E. Stumbling is associated with airway inflammation in young Arabian horses. *Equine Veterinary Journal*, v. 33, n. 3, p. 244-249, 2001.

KYDD, J.H.; HANNANT, D.; MUMFORD, J.A. Residence and recruitment of leucocytes to the equine lung after EHV-1 infection. *Vet. Immun. Immunopath.*, v.52, p.15-26, 1996.

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 Veterinary Journal*, v.19, n.5, p.458-462, 1987.

LESSA, D. A. B.; MACHADO, C. H.; LOPES, I. F.; DUARTE, S. D.; VIEIRA, C.A; PORFÍRIO, L. C. Lavado broncoalveolar em eqüinos de equitação do Regimento de Cavalaria Andrade Neves. In: III CONGRESSO DE MEDICINA VETERINÁRIA DO CONE SUL, Gramado, RS, 1989. *Anais do III Congresso De Medicina Veterinária Do Cone Sul*. Gramado, 1999, p.328.

LESSA, D.A. B.; VIANA, E. B.; ABRAMOVITC, G.; PAIVA, V. S.; FERNANDES, W. R. Aspectos citológicos do lavado bronco-alveolar de eqüinos da Polícia Militar do Estado do Rio de Janeiro. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, Gramado, 2002. *Anais do Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária*. Gramado, 2002. CD-ROM.

LESSA, D.A.B. *Doença Inflamatória das Vias Aéreas (DIVA) em eqüinos de policiamento na Cidade do Rio de Janeiro, RJ: estudo clínico e da atividade macrofágica alveolar*. São Paulo, 2003. 102 p. Tese (doutorado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Universidade de São Paulo.

MANSMANN, R. A. & KING, C. How to perform BAL in practice. In: 44<sup>th</sup> American Association of Equine Practitioners Annual Convention, 1998. *Proceedings of the 44<sup>th</sup> American Association of Equine Practitioners*. v. 44, p. 186-188, 1998.

McGORUM, B.C. Respiratory secretion (RS) sampling techniques and interpretation. In: DIXON, P.M (ed). *Equine Respiratory Endoscopy*. Bracknell: Boehringer Ingelheim Vetmedica, 1993, p. 118.

McGORUM, B. C. & DIXON, P. M. The analysis and interpretation of equine bronchoalveolar lavage fluid (BALF) cytology. *Equine Veterinary Education*. v. 6, n. 4, p.203-209, 1994.

McKANE, S. A. & ROSE, R. J. Radiographic determination of the location of a blindly passed bronchoalveolar lavage catheter. *Equine Veterinary Education*, v.5, n.6, p.329-332, 1993.

McKANE, S. A.; CANFIELD, P. J.; ROSE, R. J. Equine bronchoalveolar lavage cytology: survey of thoroughbred racehorses in training. *Australian Veterinary Journal*, v. 70, n. 11, p.401-404, November 1993.

MORI, E. *Estudo da resposta de macrófagos pulmonares após infecção experimental em cavalos (Equus caballus) por Herpes Vírus Equino Tipo 1 (HVE-1)*. São Paulo, 2000. Dissertação (mestrado). Universidade de São Paulo.

MORI, E.; MORI, C. M. C.; FERNANDES, W. R. Avaliação da função de macrófagos alveolares em cavalos clinicamente sadios. *Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia*. v. 53, n. 2, p.172-178, 2001.

PICKLES, K., PIRIE, R. S., RHIND, S., DIXON, P. M., MCGORUM, B. C. Cytological analysis of equine bronchoalveolar lavage fluid. Part 3: the effect of time, temperature and fixatives. *Equine Veterinary Journal*. v. 34, n. 3, p.297-301, 2002.

ROSSIER, Y.; SWEENEY, C. R.; ZIEMER, E. L. Bronchoalveolar lavage fluid cytologic findings in horses with pneumonia or pleuropneumonia. *Journal American Veterinary Medical Association*. v. 198, n. 6, p.1001-1004, March 1991.

ROSENFELD, G. Corante pancrômico para hematologia e citologia clínica. Nova combinação dos componentes do may-grunwald e do giemsa num só corante de emprego rápido. *Mem. Inst. Butantan*, v. 20. p.329-335, 1947.

ROSZEL, J.F.; FREEMAN, K.P.; SLUSHER, S.H.; MORRIS, W.R.; HAURY, K.D.; CUDD, T.A. Siderophages in pulmonary cytology specimens from racing and non-racing horses. In: *Proc 33<sup>rd</sup> Annu Conv AAEP*, p. 321-329, 1988.

SANCHES, A. *Avaliação citológica do lavado traqueobrônquico de eqüinos clinicamente sadios e daqueles portadores de afecções do sistema respiratório*. São Paulo, 1998. Dissertação (mestrado). Universidade de São Paulo.

SWEENEY, Corine Raphael & BEECH, Jill. Bronchoalveolar lavage. In: BEECH, J. (Ed.). *Equine Respiratory Disorders*. Philadelphia: Lea&Febiger, 1991. cap.4, p. 55-61.

SWEENEY, C. R.; HUMBER, K. A.; ROBY, K. A. W. Cytologic findings of tracheobronchial aspirates from 66 Thoroughbred racehorses. *American Journal of Veterinary Research*, v. 53, n. 7, p.1172-1175, July 1992.

TRAUB-DARGATZ, J. L.; MCKINNON, A. O.; BRUYNINCKX W. J.; THRALL, M. A.; JONES, R. S.; BLANCQUAERT, A-M. B. Effect of transportation stress on bronchoalveolar lavage fluid analysis in female horses. *American Journal of Veterinary Research*, v.49, n.7, p.1026-1029, July 1988.

VRINS, A.; DOUCET, M.; NUNEZ-OCHOA, L. A retrospective study of bronchoalveolar lavage cytology in horses with clinical findings of small airway disease. *Journal of Veterinary Medicine A*, v. 38, n. 6, p. 472-479, 1991.

VIEL, L. Small airway disease as a vanguard for chronic obstructive pulmonary disease. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice*, v. 13, n.3, p.540-560, 1997.

