Artigo de revisão

LAVADO BRONCOALVEOLAR EM EQÜINOS: REVISÃO DE LITERATURA PARTE 1: TÉCNICAS DE COLHEITA

Daniel Augusto Barroso Lessa Enio Mori Eduardo Borges Viana Orlei Justen dos Santos Joana Fernandes Eigenheer Moreira Wilson Roberto Fernandes

LESSA¹, D.A.B.; MORI², E.; VIANA³, E.B.; SANTOS⁴, O.J.; MOREIRA⁵, J.F.E.; FERNANDES⁶, W.R. Lavado broncoalveolar em eqüinos: revisão de literatura. Parte 1: Técnicas de colheita. *Arq. ciên. vet. zool. UNIPAR*, 8(2): p.213-217, 2005

RESUMO: O lavado broncoalveolar é um método que permite obter amostras de material oriundo do trato respiratório posterior. Sua principal aplicação prática na clínica médica de eqüinos é para a avaliação citológica de enfermidades inflamatórias não-infecciosas pulmonares (doença inflamatória das vias aéreas e doença pulmonar obstrutiva crônica) bem como da hemorragia pulmonar induzida pelo exercício. Embora essa técnica de diagnóstico seja bastante utilizada em outros países, ainda é pouco difundida no Brasil (o objetivo desta primeira parte da revisão é divulgar informações sobre técnicas de colheita de lavado broncoalveolar que possam ser úteis para implementação delas na rotina diagnóstica, pois é um método pouco invasivo que pode ser realizado a campo.)

PALAVRAS-CHAVE: equino, lavado broncoalveolar, técnica de colheita

BRONCHOALVEOLAR LAVAGE IN EQUINE: REVIEW OF THE LITERATURE PART 1: COLLECTING TECHNIQUES

LESSA¹, D.A.B.; MORI², E.; VIANA³, E.B.; SANTOS⁴, O.J.; MOREIRA⁵, J.F.E.; FERNANDES⁶, W.R. Bronchoalveolar lavage in equine: Review of the literature.Part 1: Collecting techniques. *Arq. ciên. vet. zool. UNIPAR*, 8(2): p.213-217, 2005

ABSTRACT:Bronchoalveolar lavage is a method that allows the collection of material samples from the superior respiratory tract. Its main practical application in equine medical clinic is the cytological evaluation of non-infectious inflammatory diseases of the lungs (inflammatory airway disease and chronic obstructive pulmonary disease), as well as exercise-induced pulmonary hemorrhage. Although this diagnosis technique is broadly used in other countries, it is not commonly applied in Brazil. The objective of the first part of this review is to widespread information about collection techniques of bronchoalveolar lavage in order to aid the implementation of this diagnostic routine, for it is little invasive and may be used in field conditions.

KEY WORDS: equine, bronchoalveolar lavage, colleting techniques

LAVADO BRONCO-ALVEOLAR EN EL EQUINO: REVISIÓN DE LA LITERATURA PARTE 1: TÉCNICAS DE RECOLECCIÓN

LESSA¹, D.A.B.; MORI², E.; VIANA³, E.B.; SANTOS⁴, O.J.; MOREIRA⁵, J.F.E.; FERNANDES⁶, W.R. Lavado bronco-alveolar en el equino: Revisión de la literatura. Parte 1: técnicas de recolección. *Arq. ciên. vet. zool. UNIPAR*, 8(2): p.213-217, 2005

RESUMEN: El lavado bronco-alveolar es un método que permite obtener muestras de material procedente del tracto respiratorio posterior. Su principal aplicación práctica en la clínica médica de equinos es la evaluación citológica de enfermedades inflamatorias no infecciosas pulmonares (enfermedad inflamatoria de las vías aéreas y enfermedad pulmonar obstructiva crónica) así como de la hemorragia pulmonar inducida por el ejercicio. Aunque esta técnica de diagnóstico sea bastante usada en otros países, todavía está poco difundida en Brasil. El objetivo de esta primera parte de la revisión es divulgar informaciones sobre las técnicas de recolección del lavado bronco-alveolar y su posible inclusión en la rutina

¹Médico Veterinário, Mestre, Doutor. Professor adjunto de Clínica Médica de Grandes Animais da Faculdade de Veterinária da Universidade Federal Fluminense – UFF. Rua Vital Brazil Filho, 64, 24230-340, Niterói-RJ, Brasil. E-mail:lessadab@vm.uff.br.

²Médico Veterinário, Mestre, Doutorando em Clínica Veterinária, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo – USP.

³Médico Veterinário, Mestre, Doutorando em Ciência Veterinária/ Sanidade Animal da Universidade Rural do Rio de Janeiro – UFRRJ.

⁴Médico Veterinário, Mestre, Doutor. Professor adjunto de Clínica Médica de Grandes Animais da Faculdade de Veterinária da Universidade Federal Fluminense – UFF.

⁵Médica Veterinária autônoma.

⁶Médico Veterinário, Mestre, Doutor, Livre Docente, Professor de Clínica Médica de Eqüinos da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo – USP.

diagnóstica, pues se trata de un método poco agresivo y realizable en el campo. **PALABRAS-CLAVE:** equino, lavado bronco-alveolar, técnicas de recolección

Introdução

O lavado broncoalveolar (LBA) é um método pelo qual se obtêm 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).

Esse método 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), sendo considerada um método sensível para o diagnóstico de enfermidades inflamatórias não-infecciosas pulmonares (HOFFMAN, 1999), tais como: doença pulmonar obstrutiva crônica (DPOC) e doença inflamatória das vias aéreas (DIVA). Também é útil para diagnóstico de hemorragia pulmonar por esforço (MCKANE *et al.*, 1993).

Embora essa técnica de diagnóstico seja bastante utilizada em outros países, ainda é pouco difundida em nosso meio. No Brasil, o LBA já foi empregado por AMARAL *et al.* (1999), LESSA *et al.* (1999), MORI (2000), FERNANDES *et al.* (2000), MORI *et al.* (2001), LESSA *et al.* (2002) e LESSA (2003).

O objetivo desta primeira parte é divulgar informações gerais sobre técnicas de colheita de LBA que possam ser úteis para implementação do mesmo método na rotina diagnóstica, pois é pouco invasivo, que pode ser realizado em campo e que permite diagnóstico preciso.

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 colheita; (2) por meio de cateteres com "cuff"; BIVONA® (Figura 1) ou sem cuff; FOGARTY® (MCGORUM & DIXON, 1994). DYER *et al.* (1983) descreveram uma técnica de LBA utilizando, um dispositivo de lúmen duplo, construído a partir de uma sonda nasogástrica para eqüinos (com 10 mm de diâmetro externo e 8 mm de diâmetro interno) e um tubo de polietileno de 2,69 mm de diâmetro interno e 3,50 mm de externo.

É importante saber as vantagens de cada técnica de colheita, de forma a poder optar pela qual pode ser mais útil, dependendo da ocasião ou disponibilidade de material e equipamento. Segundo MCGORUM & DIXON (1994) as colheitas com endoscópio apresentam alto índice de sucesso, permitem selecionar o local desejado para obtenção da amostra e determinam baixa incidência de hemorragia pulmonar iatrogênica. Em contrapartida, é uma técnica relativamente dispendiosa, sobretudo em nosso país. Com relação à colheita por meio de sondas, elas são mais baratas que os endoscópios, são mais apropriadas para animais maiores e permitem a lavagem dos lobos caudais pulmonares, por ser mais longas. Isso é importante para a detecção de hemorragias induzidas pelo exercício, 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 as doenças pulmonares difusas ou multifocais não-infecciosas, tais como: doença pulmonar obstrutiva crônica, hemorragia pulmonar induzida pelo exercício e doença inflamatória das vias aéreas (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 por meio do LBA, pode-se inadvertidamente colher amostras de segmentos pulmonares não afetados (MCGORUM & DIXON, 1994). ROSSIER et al. (1991) observaram que praticamente metade dos resultados das citologias broncoalveolares em animais portadores de processos infecciosos bacterianos, como os acima citados, apresentou-se normal.

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).

Reacões adversas

A execução do LBA pode desencadear discreta inflamação, leve hiperemia da mucosa e hemorragia pulmonar, tosse transitória, pirexia e neutrofilia 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 uma neutrofilia pulmonar local ou generalizada com duração de pelo menos 48 horas, o intervalo entre lavados seriados deve ser de pelo menos 72 horas (MCGORUM & DIXON, 1994).

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 al¹ apud HOFFMAN & VIEL, 1997). Cavalos com problemas de hemostasia ou que não foram devidamente contidos após a sedação não devem ser submetidos à colheita devido à possibilidade de dilaceração da mucosa nasal, lesões etmoidais ou bronquiais (HOFFMAN & VIEL, 1997).

Técnica de colheita

Independentemente 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 50μg de cloridrato de romifidina²/kg ou 10μg de cloridrato de detomidina³/kg associada com 10μg de tartarato de butorfanol⁴/kg. HOFFMAN & VIEL (1997) recomendam

a utilização de cloridrato de xilazina⁵ (0,5-1,1 mg/kg IV), cloridrato de detomidina (3-6 mg IV) ou associação desses com tartarato de butorfanol. Os dois á2 agonistas citados apresentam propriedades broncodilatadoras e podem diminuir a tosse e o broncospasmo (HOFFMAN, 1999). A anestesia geral para colheita 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 broscospasmo) HOFFMAN & VIEL (1997) e HOFFMAN (1999) recomendam a utilização prévia de broncodilatadores.

Descreve-se, em seguida, a rotina de colheita adotada por LESSA *et al.* (2002) e LESSA (2003) que é baseada na técnica descrita por HOFFMAN & VIEL (1997) e HOFFMAN (1999), com pequenas adaptações.

Os animais são contidos com cachimbo e sedados com cloridrato de romifidina na dosagem de 0,04 mg/kg, IV. Podem ser ainda colocados num tronco ou brete. Executa-se a higienização das narinas com água destilada e sabão neutro. Um cateter com 3m de comprimento, 10mm de diâmetro e apresentando um balão inflável em uma das extremidades⁶ (Figura 2), previamente esterilizado em autoclave (120°C/20 min) ou desinfectado por imersão em solução de glutaraldeído a 4%⁷ por 30 minutos e lavado com água destilada, é inserido até a faringe por meio do meato nasal inferior. Instila-se uma pequena quantidade da solução de cloridrato de lidocaína a 0,5% sem vaso constrictor aquecida a 37°C na glote e traquéia. Espera-se de 1 a 2 minutos para diminuir o reflexo de tosse.

Com a cabeça do equino posicionada em extensão da articulação atlanto-occipital, o mais horizontal possível, insere-se a sonda na traquéia. Uma vez nesse local, instila-se mais 20-30 ml da solução de lidocaína. Quando da passagem desta pela carina, normalmente se desencadeia reflexo de tosse. A instilação do anestésico prossegue, à medida que esse fenômeno ocorre, normalmente não ultrapassando um volume total de 60 ml. Avança-se com a sonda lentamente até encontrar resistência. Nesse ponto, infla-se o balão com até 10 ml de ar e fixa-se a extremidade posterior da sonda à narina Figura 3).

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 fluído 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 ao cateter por meio de uma conexão (três saídas em "T"). Por meio da insuflação

do frasco de solução salina com pêra de borracha (Figura 4), infunde-se todo o volume, sob pressão. Em seguida, o registro da conexão em "T" é reposicionado, abrindo para uma outra saída na qual está conectada uma seringa de 60 ml para aspiração do lavado (Figura 5).O fluído é então aspirado e acondicionado em frasco de vidro (Figura 6), plástico ou tubo siliconizado e mantido em gelo até a hora do processamento.

O silicone e o resfriamento da amostra evitam a aderência dos macrófagos à superfície interna do recipiente de colheita, assim como o frio também retarda o crescimento bacteriano e as alterações morfológicas celulares. Todos esses 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 da 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 colheita para prevenir a deterioração da morfologia celular. Se não puder ser analisada até 24 h após a colheita, a deterioração e o crescimento bacteriano poderão 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 delas. 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), 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 (Figura 7) pode significar falha na lavagem ou animal com enfermidade que cause prejuízo na produção do surfactante, freqüentemente visto em animais com Doença

¹Costabel, 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.

²Sedivet®, Boehringer Ingelheim, Divisão Vetmédica, Itapecerica da Serra – SP.

³Dormosedan®, Pfizer, USA.

 $^{^4} Torbuge sic @, Fort Dodge Saúde Animal, Campinas – SP.$

⁵Rompum®, Bayer Saúde Animal, São Paulo – SP.

⁶Equine Broncho-Alveolar Catheter, Bivona® Bivona. Inc., Gary, Indiana, U.S.A.

⁷Glutacid®, Ceras Jonson, Rio de Janeiro – RJ.

Pulmonar Obstrutiva Crônica (HOFFMAN, 1999).

Comentários

Em face do exposto, reafirma-se a importância do LBA, pois é um método pouco invasivo, de fácil aplicabilidade podendo ser realizado em campo e que permite um diagnóstico preciso.

A segunda parte deste trabalho revisará os achados citológicos de normalidade, assim como os das enfermidades pulmonares passíveis de diagnóstico por meio dessa técnica.

Referências

- AMARAL, P. C. *et al.* 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.
- 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.
- 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, Dec. 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.
- LESSA, D. A. B. *et al.* Lavado broncoalveolar em eqüinos de equitação do Regimento de Cavalaria Andrade Neves. In: III CONGRESSO DE MEDICINA VETERINÁRIA DO CONE SUL, Gramado, RS, 1999. *Anais do III Congresso De Medicina Veterinária Do Cone Sul.* Gramado, 1999, p. 328.
- LESSA, D. A. B. *et al.* Aspectos citológicos do lavado broncoalveolar 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. 2003. 102 f. Tese (doutorado)— Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Universidade de São Paulo, São Paulo, 2003.
- MANSMANN, R. A.; KING, C. How to perform BAL in practice. In: 44th American Association of Equine Practitioners Annual Convention, 1998. *Proceedings of the 44th American Association of Equine Practitioners.* v. 44, p. 186-188, 1998.
- McGORUM, B. C.; DIXON, P. M. The analysis and interpretetaion of equine bronchoalveolar lavage fluid (BALF) cytology. *Equine Veterinary Education*. v. 6, n. 4, p. 203-209, 1994.
- 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, Nov. 1993.
- MORI, E. Estudo da resposta de macrófagos pulmonares após infecção experimental em cavalos (Equus caballus) por Herpes Virus Eqüino Tipo 1 (HVE-1). 2000. Dissertação (mestrado)-

Universidade de São Paulo, São Paulo, 2000.

- 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. *et al.* 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, Mar. 1991.
- SANCHES, A. Avaliação citológica do lavado traqueobrônquico de eqüinos clinicamente sadios e daqueles portadores de afecções do sistema respiratório. 1998. Dissertação (mestrado)- Universidade de São Paulo, São Paulo, 1998.
- SWEENEY, C. R.; BEECH, J. Bronchoalveolar lavage. In: BEECH, J. *Equine Respiratory Disorders*. Philadelphia: Lea&Febiger, 1991. cap. 4, p. 55-61.
- VIEL, L. Structural-functional correlations of the lung in horses with small airway disease. Guelph, Ontario, Canada, 1983. Dissertation (doctoral)- University of Guelph, Canada, 1983.
- VIEL, L. Small airway disease as a vanguard for chronic obstructivepulmonary disease. *Veterinary Clinics of North America: equine practice*, v. 13, n. 3, p. 540-560, 1997.

Recebido para publicação em 27/10/2004 Received for publication on 27 October 2004 Recibido para publicación en 27/10/2004 Aceito para publicação em 10/07/2005 Accepted for publication on 10 July 2005



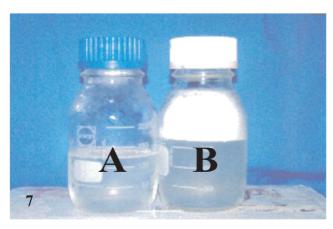












- FIGURA 1 Sonda BIVONA® (Equine Bronchoalveolar Catheter, 3 metros de comprimento e 10 mm de diâmetro), com o balonete inflável (seta)
- FIGURA 2 Sonda inserida na faringe e instilando-se a solução de cloridrato de lidocaína a 0,5%
- FIGURA 3 Sonda já fixada ao cabresto por meio de equipo
- FIGURA 4 Infusão da solução de salina sob pressão
- FIGURA 5 Aspiração da salina infundida
- FIGURA 6 Acondicionamento da amostra em frasco de vidro com marcação de volume
- FIGURA 7 Frascos A e B com volumes recuperados adequados, notar a ausência de surfactante (espuma) no frasco A quando comparado ao B

UNIVERSIDADE PARANAENSE

PÓS-GRADUAÇÃO 8 UNIPAR

