

AVALIAÇÃO DO LAVADO BRONCOALVEOLAR EM CÃES DE ABRIGO ACOMETIDOS POR PNEUMONIA

Mariana Pavelski¹, Peterson Triches Dornbusch¹, Cristina Rauen Ribas¹, Priscila Flenik Moraes¹, Luiz Guilherme Capriglione¹, Pamela Tapia Carreno Dornbusch¹

¹ UFPR

Correspondência: Mariana Pavelski: mari_medvet@hotmail.com

RESUMO: – Enfermidades do trato respiratório inferior são comuns na clínica de pequenos animais. Devido à vasta etiologia dessas afecções é necessário realizar um diagnóstico preciso, para que seja determinada a terapêutica adequada. O lavado broncoalveolar (LBA) é uma ferramenta diagnóstica auxiliar, quando métodos de rotina são inconclusivos. Tendo como objetivo identificar as alterações citológicas presentes no lavado broncoalveolar de cães de abrigo acometidos por pneumonia, foram utilizados 10 cães doentes e 20 (vinte) cães saudáveis, como grupo controle. O LBA foi realizado por meio da técnica endotraqueal, com os animais sob anestesia geral de curta duração. A amostra coletada foi sedimentada em câmara de Suta e recebeu coloração tipo Romanowski. Na avaliação citológica do LBA do grupo com pneumonia foi observado elevação significativa na contagem celular total e no número de neutrófilos, associada à diminuição no número de macrófagos, linfócitos, mastócitos, eosinófilos e células epiteliais. O LBA mostrou-se seguro e eficaz como diagnóstico diferencial nas doenças do trato respiratório inferior em cães, promoveu achados relevantes no grupo pneumonia como neutrofilia, presença de macrófagos multinucleados e corpúsculos de Lentz, comprovando seu mérito como ferramenta diagnóstica.

Palavras-chave: trato respiratório inferior; ferramenta diagnóstica; técnica endotraqueal; câmara de suta

BRONCHOALVEOLAR LAVAGE EVALUATION IN SHELTER DOGS AFFECTED BY PNEUMONIA

ABSTRACT: Lower respiratory tract diseases are common in small animal clinics. Due to the wide etiology of these diseases is important to make an accurate diagnosis to prescribe an appropriate therapy. The bronchoalveolar lavage (BAL) is an auxiliary diagnostic tool, when routine methods are inconclusive. Aiming to identify the cytological abnormalities of the bronchoalveolar lavage of dogs with pneumonia, we used 10 affected dogs and 20 (twenty) healthy dogs as a control group. The BAL was performed through the endotracheal technique, with the animals under general anesthesia of short duration. The content was settled in Suta chamber, and stained with Romanowski type. In the cytologic evaluation of the pneumonia group was observed significant increase in total cell count and rate of neutrophils, associated with a decrease in the rate of macrophages, lymphocytes, mast cells, eosinophils and epithelial cells. The BAL was safe and effective as a differential diagnosis of lower respiratory tract diseases in dogs, promoted relevant findings, in pneumonia group like neutrophilia, multinucleated macrophages and lentz corpuscles, proving its merit as a diagnostic tool.

Key Words: lower respiratory tract; diagnosis tool; endotracheal technique; suta chamber

INTRODUÇÃO

As doenças da árvore traqueobronquial e do parênquima pulmonar são muito comuns em pacientes caninos e felinos, além de serem responsáveis por uma morbidade significativa na população de animais de estimação (Johnson, 2008; Basso, et al. 2008). Para a determinação da doença primária é necessária identificação dos sinais clínicos, interpretação de exames laboratoriais, achados radiográficos, coleta e análise de amostras das vias respiratórias (Concoran, 2004; Ferian et al., 2006; Johnson, 2008; Ribas et al. 2010). As principais etiologias são os processos infecciosos, inflamatórios, obstrutivos, degenerativos, neoplásicos, parasitários, virais, alérgicos e fúngicos (Concoran, 2004; Hawkins, 2004; Reneiro e Cohn, 2007; Bonagura e Sherdin, 2008). As pneumonias bacterianas representam importante causa de morbidade e mortalidade em cães e gatos. Embora numerosos agentes infecciosos possam causar pneumonia intersticial, a maioria dos casos é de origem bacteriana e os microorganismos causadores mais comuns são: *Bordetella bronchiseptica*, *Escherichia coli*, *Klebsiella* spp., *Pseudomonas* spp., *Pasteurella* spp., *Streptococcus* spp., *Staphylococcus* spp.. O vírus da cinomose e o vírus da influenza canina também são importantes patógenos causadores da pneumonia (Erles, et al. 2004; Pandher, et al. 2006; Chvala, et al. 2007; Rodriguez-tovar et al., 2007; Bonagura e Sherding, 2008). Os principais sinais clínicos presentes em enfermidades respiratórias incluem: tosse, secreção nasal, espirros, dispnéia, ruídos pulmonares, até intolerância ao exercício (Hawkins, 2004; Berkwitt e Prueter, 2008). A identificação do agente causador da pneumonia não foi objetivo desse estudo, sendo atribuídas como etiologia as citadas anteriormente,

principalmente pneumonia bacteriana e secundária à infecção pelo vírus da cinomose.

A radiografia torácica é um exame auxiliar no diagnóstico de doenças respiratórias apesar de que processos infecciosos, parasitários, inflamatórios não infecciosos, alérgicos e neoplásicos no pulmão podem exibir o mesmo padrão de alteração radiográfica, dificultando o diagnóstico definitivo (Hawkins, et al., 1990; Kealy e Mcallister, 2005; Samii, 2008). Dessa maneira, a avaliação citológica pulmonar pode fornecer informações mais específicas sobre a enfermidade presente (Basso et al. 2008; Melchert et al. 2008; English et al., 2009; Hirt. 2010; Ribas et al. 2010). A abordagem do trato respiratório inferior pode ser transtraqueal ou endotraqueal. Se for utilizada a via endotraqueal, a coleta pode ser feita guiada ou não por broncoscópio (Feria, 2006; Basso et al., 2008; English et al., 2009). Uma pequena quantidade de muco pode estar presente no LBA de cães e gatos clinicamente normais. Vários tipos diferentes de células (ex., células colunares e cuboides, ciliadas ou não, macrófagos alveolares, neutrófilos, eosinófilos, linfócitos, mastócitos, eritrócitos e células displásicas e neoplásicas) podem ser observadas no LBA. As células colunares, cuboides e os macrófagos alveolares são os tipos celulares mais observados nos lavados de cães e gatos normais (Melchert, et al., 2008; English et al., 2009).

O objetivo deste estudo foi de identificar as alterações citológicas do LBA de cães de abrigo acometidos por pneumonia.

MATERIAL E MÉTODOS

Neste estudo foram utilizados 30 cães pertencentes a abrigos, divididos em dois grupos denominados:

Grupo Controle - Formado por vinte cães sem raça definida, sete machos e treze fêmeas, os mesmos foram submetidos à exame físico e exames laboratoriais como triagem para participarem do estudo. Durante o exame clínico observou-se especialmente o sistema respiratório, buscando identificar presença de secreção nasal, epistaxe, hemoptise, tosse, espirro, cianose, síncope, aumento ou diminuição de sons broncovesiculares, crepitações, sibilos e outras alterações relevantes. Dentre os exames laboratoriais foi realizado hemograma, contagem de plaquetas e provas bioquímicas (uréia, creatinina, fosfatase alcalina, alanina aminotransferase, albumina), coagulograma, urinálise e coproparasitológico.

Grupo Pneumonia - Formado por dez cães, sem raça definida, quatro machos e seis fêmeas. Os animais foram submetidos aos mesmos exames físico e laboratoriais, e como diagnóstico complementar realizou-se a radiografia torácica. Por meio do diagnóstico clínico, laboratorial e radiográfico diagnosticou-se pneumonia, requisito de inclusão para este grupo.

Técnica de colheita do LBA - Os animais foram submetidos a jejum alimentar de 12 horas, com livre acesso a água. Para a lavagem broncoalveolar os animais receberam sedação (meperidina 5mg/Kg) seguida de indução anestésica com propofol 4mg/Kg IV. Após posicionamento do paciente em decúbito lateral e oxigenação a 100% por um período de cinco (5) minutos, uma sonda para alimentação enteral siliconada estéril adaptada pela remoção da extremidade metálica (nº12) foi inserida no interior do traqueotubo, até encontrar resistência, a seguir foram infundidos 20 ml de solução fisiológica 0,9% e 5 ml de ar para evitar resquícios da solução na sonda (Ribas R.C. *et al.*, 2010).

Imediatamente a solução infundida foi aspirada por sucção em seringa estéril identificada. Durante o procedimento pressão arterial, frequência cardíaca e saturação de oxigênio a pulso-oximetria foram monitoradas. Concluída a aspiração da amostra, os animais do grupo pneumonia foram mantidos em oxigenioterapia por aproximadamente 15 minutos, já os animais do grupo controle foram mantidos com isoflurano e submetidos à castração. Nenhum dos animais apresentou complicações após a realização do lavado broncoalveolar.

A amostra do LBA foi avaliada inicialmente quanto ao volume recuperado e o aspecto macroscópico quanto à coloração, aspecto e turbidez. Na sequência, realizou-se contagem de células nucleadas, em Câmara de Neubauer, sem diluição da amostra. Para diferenciação celular, utilizou-se o método de sedimentação em câmara de suta (1 ml/1h), cada lâmina produzida foi corada com corante tipo romanowsky – Panótico rápido. (Ribas *et al.*, 2010) Foram contadas um total de 400 células por amostra, diferenciando-as em macrófagos, neutrófilos, linfócitos, eosinófilos, mastócitos, células epiteliais e hemossideróforos. Na análise descritiva, avaliou-se celularidade, presença de muco, hemácias, leucócitos e células íntegras ou degeneradas. A quantidade de muco nas lâminas foi classificada em: grau 1 – ausente, grau 2 – pouco; grau 3 – moderado, grau 4 – grande quantidade.

RESULTADOS

Os resultados das avaliações clínicas dos animais do grupo pneumonia estão demonstrados na Tabela 1.

Os dez pacientes avaliados apresentaram tosse produtiva. Em nove cães havia presença de secreção nasal mucopurulenta, cinco apresentavam desidratação e um, mucosas

hipocoradas. Por meio da ausculta pulmonar verificou-se que em quatro pacientes havia crepitação, e sibilos em três. O resultado dos hemogramas e contagem de plaquetas dos animais do grupo pneumonia e grupo controle encontra-se na tabela 2.

Tabela 1 - Avaliação clínica dos pacientes do grupo pneumonia.

Paciente	FC ¹	FR ²	Desidratação	Mucosa	Tosse	Secreção Nasal
1	160	28	6 %	N	Sim	Mucopurulenta
2	180	28	6%	N	Sim	Mucopurulenta
3	200	Taquipnéico	6%	Hipocoradas	Sim	Mucopurulenta
4	124	32	Normal	N	Sim	Mucopurulenta
5	120	28	Normal	N	Sim	Ausente
6	105	40	Normal	N	Sim	Mucopurulenta
7	180	36	6%	N	Sim	Mucopurulenta
8	128	48	Normal	N	Sim	Mucopurulenta
9	88	36	6%	N	Sim	Mucopurulenta
10	96	40	Normal	N	Sim	Mucopurulenta

¹ Frequência Cardíaca (batimentos por minuto)

² Frequência respiratória (respirações por minuto)

Tabela 2 – Resultados do Hemograma e contagem de plaquetas dos animais do grupo controle e pneumonia, média e erro padrão.

Parâmetro avaliado	Unidades	Grupos	
		Controle	Pneumonia
Eritrócitos	milhões/mm ³	6679 ± 285	4869 ± 222*
Hematócrito	%	44,10 ± 1,44	30,70 ± 1,16*
VGM	fl	66,67 ± 2,45	65,15 ± 2,03
Plaquetas	nº/mm ³	235300 ± 58230	282300 ± 44700
Leucócitos totais	nº/µl	13930±4933	23970 ±4033*
Neutrófilos	nº/µl	8713 ± 1211	19290 ± 3526*
Bastonetes	nº/µl	607,3±129,4	3616±1182*
Linfócitos	nº/µl	2693 ±382	1442±281*
Eosinófilos	nº/µl	1442 ± 404	789 ± 295
Monócitos	nº/µl	1141 ± 165	2032 ±512

Sendo *p<0,05

O volume médio de solução fisiológica recuperada no grupo controle e no grupo pneumonia foi de 4,1±1,1 mililitros e 5,7±3,1, respectivamente. O resultado da contagem celular e da contagem diferencial está demonstrado na Figura 1, e os resultados da contagem diferencial estão demonstrados na Tabela 3.

O escore de muco presente nas lâminas não apresentou diferença significativa entre os grupos, tendo como média escore 2 que equivale a presença de pouco muco.

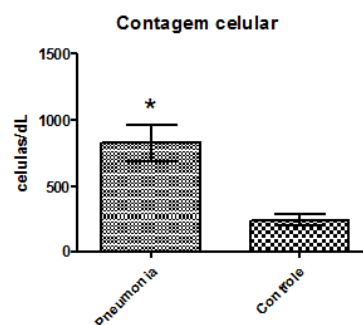


Figura 1 - Comparação das médias da contagem celular por decilitro, das amostras do grupo pneumonia em relação ao grupo controle. As médias e o erro padrão estão indicados pelas barras. (*p<0,05)

Tabela 3 - A média e o erro padrão da contagem de células em porcentagem, das amostras do Grupo Controle e Pneumonia, em relação ao grupo controle.

Tipo Celular	Contagem diferencial (%)	
	Controle	Pneumonia
Neutrófilos	0,87 ± 0,19	27,53±6,76*
Macrófagos	87,80±1,34	68,28±6,74*
Linfócitos	8,72±1,59	3,90±1,59*
Eosinófilos	0,05 ±0,03	0,02 ±0,02
Mastócitos	0,11±0,06	0,07±0,05
Células Epiteliais	2,75±0,89	0,25±0,15*
Hemosideróforos	5,33± 0,84	6,88 ±1,50

onde *p<0,05

Nas lâminas citológicas dos pacientes com pneumonia, havia grande quantidade de macrófagos multinucleados. Em dois pacientes foram observadas bactérias na lâmina e em outros dois foram encontrados corpúsculos de Lentz.

DISCUSSÃO

No eritrograma do grupo pneumonia observou-se anemia, esta alteração pode ser atribuída à infecção crônica e inflamação presente como citado por Tvedten e Weiss (2000) e Cançado (2002), sendo anemia da doença crônica. Além disso, a anemia foi citada por Silva *et al.* (2005) e Almeida *et al.* (2009) na presença de vírus como o da cinomose pela grande destruição de eritrócitos ou ainda pela não produção de hemácias pela medula óssea devido ao estresse desencadeado pela doença (Silva *et al.* 2005). Nesse estudo, a anemia por deficiência nutricional não pode ser

considerada pois os animais do grupo controle não apresentavam essa alteração. A presença de pneumonia bacteriana pode causar as alterações vistas no leucograma, sendo o aumento do número de leucócitos, neutrófilos e bastonetes como citado por Rebar e colaboradores (2003) e Bush,(2004). Já a linfopenia observada pode estar relacionada a apoptose e redistribuição de linfócitos em resposta à liberação de corticoides endógenos, por stress gerado pela doença, como cita Kociba (2004) e Trall (2007). Couto (2006) diz ainda que a linfopenia é uma característica comum em algumas doenças virais, como a cinomose.

Ao contrário de (Andreasen, 2003) que usou solução fisiológica definindo como pequeno volume 50 ml e um grande volume de 500-600 ml, neste estudo o volume infundido foi de 20 ml, sendo que o volume instilado, citado na literatura, varia de 20 a 35 ml (Melchert, *et al.*, 2008; Ribas, 2010). O volume recuperado foi superior à 2mL relatado por Melchior (2008) e Basso (2008), mas não alcançou a taxa de 50 a 80% citada por Couto (2006), sendo recuperados em média de 3 a 7 mL de solução infundida.

A contagem de células nucleadas nos animais hígidos segundo Andreasen (2003) e Basso (2008) é em média de 200 a 250 células por decilitro, como encontrado nesse estudo, já no grupo pneumonia a contagem elevada de células demonstra intensa inflamação do trato respiratório inferior.

A contagem celular diferencial revelou predominância de macrófagos alveolares nos dois grupos estudados, como citado por Concoran (2004) e Andreasen (2008), já a contagem de neutrófilos no grupo pneumonia foi 5 vezes maior que no grupo controle, concomitantemente os linfócitos diminuídos demonstram um quadro compatível com inflamação neutrofílica aguda (Mello *et al.*, 2002). A

multinucleação vista nos macrófagos pode estar relacionada à hiperreatividade das vias aéreas e infecção crônica (Andreasen *et al.*, 2003; English *et al.*, 2009). A leitura de células epiteliais no grupo pneumonia estava muito abaixo do valor encontrado nos hígidos, que deve estar em torno de 1% segundo Andreasen (2003) até 3% segundo Ribas *et al.* (2010), que também trabalhou com cães de abrigo.

Outros achados neste estudo foram os corpúsculos de Lentz, em dois animais, o que sugere presença de cinomose, como citado por inúmeros autores, Couto (2006), Schweigert e colaboradores (2008) e Monteiro e colaboradores (2010); por estes cães estarem em um abrigo e sem histórico vacinal, corrobora para o quadro de cinomose. A presença de bactérias encontrada em uma lâmina citológica está relacionada à contaminação da amostra, provavelmente no momento da passagem da sonda endotraqueal, carreando bactérias da orofaringe para as vias respiratórias caudais.

CONCLUSÃO

Animais com pneumonia apresentam alterações significativas no LBA como aumento na contagem celular total, neutrofilia e presença de macrófagos multinucleados. Corpúsculos de Lentz podem ser vistos no LBA sugerindo envolvimento do vírus da cinomose. O LBA revelou-se uma importante ferramenta de apoio ao clínico, é um método seguro, rápido e pouco invasivo que favorece a avaliação citológica precisa dos fluidos pulmonares.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, R.K.; VASCONCELOS,A.C.; CARNEIRO,R.A. *et al.* Alterações citológicas do sangue periférico e da medula óssea de cães com cinomose **Arquivo Brasileiro de**

- Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.61, n.6, p.1255-1260, 2009.
- ANDREASEN, C.B. Bronchoalveolar lavage. **The Veterinary Clinics Small Animal Practice**, v.33, n.1, p.69-88, 2003.
- BASSO, P.C.; BARCELLO, H.H. A; BRUN, M.V.; *et al.* Lavado traqueobrônquico auxiliado por endoscópio rígido ou por tubo endotraqueal em cães. **Ciência Rural**, v.38, n.3, p.723-728, 2008.
- BERKWITT L. e PRUETER J.C. Métodos Diagnósticos em Afecções respiratórias. In: BICHARD S.J. e SHERDING R.G. **Manual Saunders Clínica de Pequenos Animais**. São Paulo: Roca, 2008, p.1655-1662.
- BONAGURA, J. D.; SHERDING, R. G. Infecção respiratória In: BIRCHARD, S. J.; SHERDING, R. G. **Manual Saunders Clínica de Pequenos Animais**. São Paulo: Editora ROCA, 1998, p.646-652.
- BUSH, B.M. **Interpretação de Resultados Laboratoriais para Clínicos de Pequenos Animais**. 1. ed. São Paulo: Roca, 2004, p. 100-148.
- CHVALA, S.; BENETKA, V.; MÖSTL,K.; *et al.* Simultaneous Canine Distemper Virus, Canine Adenovirus Type 2, and Mycoplasma Cynos Infection in a Dog with Pneumonia. **Veterinary Pathology**, v.44, n.4, p.508-512, 2007.
- CONCORAN, B. Avaliação Clínica do Paciente com doença respiratória In: ETTINGER, S.J.; FELDMAN, E.C. **Tratado de Medicina Interna Veterinária – Doenças do cão e do gato**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004, p.1090-1095.
- ENGLISH, K.; COWELL, R.L.; TYLER, R.D. *et al.* Lavados Transtraqueal e Broncoalveolar In: COWELL R.L. *et al.* **Diagnóstico Citológico e Hematológico de Cães e Gatos**. São Paulo: MedVet, 2009, p.256-276.
- ERLES, K.; DUBOVI, E.J.; BROOKS, H.W.; *et al.* Longitudinal study of viruses associated with canine infectious respiratory disease. **Journal of Clinical Microbiology**, v.42, n.10, p.4524–4529, 2004.
- FERIAN, P.E.; SILVA, E.F.; GUEDES, R.C.; *et al.* Diagnóstico citológico de neoplasia pulmonar por meio de lavado broncoalveolar em uma cadela: relato de caso. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.58, n.5, p.776-780, 2006.
- HAWKINS E.C. Bronchoalveolar Lavage In: KING.L.G. **Respiratory Disease in Dogs and Cats**. St. Louis: Saunders, 2004, p.118-128.
- HIRT R.A. *et al.* Influence of the collection and oxygenation method on quantitative bacterial composition in Bronchoalveolar lavage fluid samples from healthy dogs. **The Veterinary Journal**, v.184, n.1, p.77–82, 2010.
- JOHNSON, L. Doenças do brônquio In: ETTINGER, S.J.; FELDMAN, E.C. **Tratado de Medicina Interna Veterinária – Doenças do cão e do gato**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004, p.1113-1119.
- KEALY J.K. e MCALLISTER H. O Tórax In: _____ **Radiologia e Ultrassonografia do Cão e do Gato**. São Paulo: Manole, 2005,p.149-252.
- KOCIBA, G. J. Alterações Leucocitárias na doença In: ETTINGER, S.J.; FELDMAN, E.C. **Tratado de Medicina Interna Veterinária – Doenças do cão e do gato**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004, p.1113-1119.
- MELCHERT, A.; MOTTA, Y.P.; GIUFFRIDA, R.; LAPOSY, C.B. Avaliação citológica e microbiológica do lavado broncoalveolar em cães hígidos. **Ciências Agrárias**, v.29, n.1, p.157-164, 2008.
- MELLO, M.F.V.; FERREIRA, A.M.R.; NASCIMENTO, J.A.; Cytologic analysis of bronchoalveolar lavage fluid collected through an endotracheal tube in dogs. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.30, n.2, p.119-125, 2002.
- MONTEIRO, M.V.B.; SANTOS, M.P.; COSTA, C.T.C. *et al.* Cinomose canina nos animais domésticos e silvestres. **Revista de Ciências Agrárias Amazonian Journal**, v.53, n.2, p.216-223, 2010.
- NELSON, R.W.; COUTO, C.G. Testes Diagnósticos para o Trato Respiratório Inferior. In: _____. **Fundamentos de Medicina Interna de Pequenos Animais**. Califórnia, ed. Guanabara Koogan, 2006, p.137-15.
- PANDHER, K.; PODELL, B.; GOULD, D.H. *et al.* Interstitial pneumonia in neonatal canine pups with evidence of canine distemper virus infection. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v.18, p.201-204,2006.
- RIBAS, C.R.; DORNBUSCH, P.T.; CIRIO, S.M. *et al.* Citologia de lavado broncoalveolar de cães: comparação entre lâminas a fresco e conservadas em formol. **Archives of Veterinary Science**, v.15, n.2, p.69-76, 2010.
- RODRIGUEZ-TOVAR, L.E.; RAMÍREZ-ROMERO, R.; VALDEZ-NAVA, Y. *et al.* Combined distemper adenoviral pneumonia in a dog. **Canadian Veterinary Journal**, v.48, n.6, p.632–634, 2007.
- SCHWEIGERT, A.; CAVALHERI, V.M.; FERNANDES, R.R. *et al.* Frequência de

corpúsculos de inclusão de Lentz em células sanguíneas e oculares de cães suspeitos de cinomose atendidos no Hospital Veterinário da Faculdade integrado de Campo Mourão-PR. **Campo DIG**, v.1, n.2, p.90-92, 2008.

SAMII V.F. Diagnóstico por Imagem dos Distúrbios Respiratórios In: BICHARD S.J. e SHERDING R.G. **Manual Saunders Clínica de Pequenos Animais**. São Paulo: Roca, 2008.

TRALL, M. A. **Hematologia e Bioquímica Veterinária**. 1. ed. São Paulo: Roca.,2007, p.135.

SILVA, I.N.G.; GUEDES, M.I.F.; ROCHA, M.F.G. *et al.* Perfil hematológico e avaliação eletroforética das proteínas séricas de cães com cinomose. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.57, n.1, p.136-139, 2005.

REBAR, A. H.; MACWILLIAMS, P.S.; FELDMAN, B. F. *et al.* **Hematologia para cães e gatos**. Ed. Roca, p.34-79; 2003, p. 157-168.