

METODOLOGIA DE COLHEITA DE CÉLULAS DO TRATO RESPIRATÓRIO EM OVINOS SADIOS ATRAVÉS DA TÉCNICA DE LAVAGEM TRAQUEOBRÔNQUICA POR VIA NASOTRAQUEAL

JULIO SIMÕES MARCONDES¹ E ROBERTO CALDERON GONÇALVES²

1. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – Unesp Botucatu,
2. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – Unesp Botucatu

RESUMO

Avaliou-se a técnica de colheita de células do trato respiratório em ovinos, por sondagem nasotraqueal, e caracterizou-se a população celular em dezenove ovinos clinicamente saudáveis. Os animais foram contidos em estação, com cabeça e pescoço estendidos e alinhados com a coluna vertebral. Após a contenção, introduziu-se uma sonda-guia siliconizada até a bifurcação da traquéia, por dentro da qual se passou uma sonda de menor calibre, para realização do lavado traqueobrônquico. A média da con-

tagem de células nucleadas foi de 64.650 ± 49.674 . A análise citológica das amostras evidenciou, pelas médias das porcentagens obtidas, 62,74% de macrófagos, 15,01% de células epiteliais cilíndricas, 20,04% de neutrófilos, 1,44% de linfócitos e 0,77% de eosinófilos. Concluiu-se que o método de colheita por sondagem nasotraqueal foi eficiente na obtenção de amostras de regiões traqueobrônquicas para caracterização citológica e diferenciação celular nas amostras obtidas, sendo bem suportado pelos ovinos.

PALAVRAS-CHAVES: Citologia, citocentrífuga, lavado traqueobrônquico, ovinos.

ABSTRACT

OBTENTION METHODS OF RESPIRATORY TRACT CELLS IN HEALTHY SHEEP BY THE TRACHEOBRONCHEAL LAVAGE TECHNIQUE BY NASOTRACHEAL VIA

The technique of pulmonary cells obtention by nasotracheal intubation was evaluated and the cellular population of 19 healthy sheep was characterized. The animals were hold standing still with head and neck straight; aligned with the vertebral spine and a silicone tube guide till the carina, to introduce a lower caliber tube for precede the tracheobronchial lavage. The average counting of nucleated cells was 64.650 ± 49.674 . The cytological analyses of the

samples showed by the average of obtained percentages: 62.74% of macrophages, 15.01% cylindrical epithelial cells, 20.04% of neutrophils, 1.44 of lymphocytes and 0.77% of eosinophils. It was concluded that this methods of sample obtention by nasotracheal intubation to reach the tracheobronchial region was efficient to cytological characterization and cellular differentiation in the obtained samples, being well supported by the animals.

KEY WORDS: Citocentrifugation, cytology, tracheobronchial lavage, sheep.

INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, a ovinocultura no estado de São Paulo abandonou a condição peri-

férica para constituir-se na principal exploração econômica de muitas propriedades rurais, e já desponta como atividade agropecuária importante no contexto econômico do Estado.

Junto com o crescimento populacional e a intensificação na produtividade, surgiram diversas doenças, principalmente naqueles animais mantidos em sistemas de confinamento. Nesses tipos de criação, o estresse ambiental relacionado à alta taxa de lotação predispõe ao aparecimento de doenças respiratórias. Trata-se de doenças que estão entre as principais causas de mortalidade nessa espécie, variando de 10% a 40% nos animais adultos (VIEIRA et al., 1993) e 17% nos jovens (ROOK et al., 1990).

Atualmente, as doenças respiratórias constituem sério problema de sanidade, com altos índices de morbidade e mortalidade, além de perdas econômicas representadas pela menor conversão alimentar, retardo no ganho de peso e gastos com diagnóstico e tratamento (KIMBERLING, 1988; RAO et al., 1993; MARTIN, 1996).

Tendo em vista a importância desses problemas, faz-se necessária a obtenção de um grande número de informações semiológicas para melhor acurácia diagnóstica, especificamente visando à gravidade do processo, para que medidas terapêuticas e profiláticas sejam instituídas prontamente. Com essa finalidade, as secreções traqueobrônquicas estão sendo cada vez mais pesquisadas e associadas ao exame clínico para auxílio diagnóstico, tanto citológico quanto microbiológico das vias aéreas.

Através da técnica de quantificação e análise dos tipos celulares, recuperados em amostras do trato respiratório inferior, é possível avaliar o grau da lesão das vias aéreas inferiores. Tais informações são usadas no estabelecimento do diagnóstico (GONÇALVES, 1997), para avaliação da intensidade dos processos respiratórios e da efetividade do tratamento (COUËTIL et al., 2001).

Além do diagnóstico pelo exame clínico, o estudo citológico é importante para a determinação etiológica das doenças respiratórias em diversas espécies animais (WHITWELL & GREET, 1984; DERKSEN et al., 1989; GONÇALVES et al., 2004). O lavado traqueal é frequentemente usado para auxílio no diagnóstico das alterações do trato respiratório de eqüinos (FORGARTY, 1990), e de bovinos (GONÇAL-

VES, 1997; BARROS et al., 1994).

A lavagem broncoalveolar foi adaptada para uso em eqüinos por VIEL (1983), demonstrando boa correlação entre a citologia do lavado traqueobrônquico e a histologia pulmonar nesses animais, sendo um dos métodos mais utilizados (WHITWELL & GREET, 1984; DERKSEN et al., 1989). Atualmente o seu amplo uso é justificado por oferecer diagnóstico rápido e resultados confiáveis. Além desse método de colheita, a sondagem nasotraqueal também é utilizada, com custo menor que a endoscopia, e se presta ao estudo citológico do lavado traqueobrônquico em animais de produção (GONÇALVES, 1997).

Nos ovinos, a literatura é escassa (ROLA-PLESZCZYNSKI et al., 1981) e não se tem conhecimento de citações nacionais quanto à citologia do aparelho respiratório, com o intuito da caracterização do processo ou como auxílio diagnóstico.

Estudos têm reportado que a citologia do sistema respiratório é extremamente importante na diferenciação entre processos infecciosos, alérgicos, parasitários e neoplásicos, além de contribuir significativamente na escolha da terapia (BEECH, 1981).

A utilização da técnica de colheita do lavado traqueobrônquico em ovinos ainda não é explorada. No entanto, como nas outras espécies (GONÇALVES, 1997; FERNANDES et al., 2000; GONÇALVES et al., 2004), deve ser útil para o diagnóstico e prognóstico de enfermidades do trato respiratório.

Historicamente, a literatura mostra o empenho de vários autores no intuito de viabilizarem a colheita de amostras do trato respiratório posterior. Inicialmente, foi utilizada no homem por PECORA (1959), que empregou a aspiração traqueal, por via transtraqueal, para colheita de material de vias aéreas inferiores, para cultivo bacteriano. MANSMANN & KNIGHT (1972) adaptaram a técnica do aspirado traqueal para uso em eqüinos e BEECH (1975) sugeriu que a citologia do material assim obtido poderia ser utilizada na avaliação de eqüinos com doenças pulmonares. Desde então é de utilização rotineira em cavalos com doenças respiratórias crônicas (WHITWELL & GREET,

1984; COUËTIL et al., 2001).

Várias adaptações da técnica inicial foram desenvolvidas em bovinos, entre elas a lavagem traqueobrônquica por traqueocentese, com a variante de que o líquido de colheita é injetado a partir da bifurcação traqueal (GONÇALVES, 1987; GONÇALVES et al., 1990; BARROS et al., 1994); a lavagem orotraqueal, com introdução do tubo de colheita por via oral e deposição do líquido na altura da bifurcação traqueal (CORSTVET et al., 1982); a lavagem broncoalveolar às cegas, com introdução de tubo siliconizado no brônquio para inoculação do líquido (SWEENEY & BEECH, 1991; MORI, 2000); e a lavagem broncoalveolar por endoscopia, com o endoscópio alojado no segmento bronquial, sendo o líquido de lavagem aí depositado (FORMAN et al., 1982; PRINGLE et al., 1988; ALLEN et al., 1992).

Nos bovinos a intubação nasotraqueal foi utilizada por GONÇALVES (1997), que introduziu um tubo-guia siliconizado através da narina e o direcionou até a porção mais baixa da traquéia. Por dentro desse tubo guia introduziu uma sonda de polietileno, onde fez a infusão de 60ml de solução fisiológica e aspirou o conteúdo. Esta técnica foi utilizada em bezerros para a realização de estudos citológicos, pela possibilidade de contaminação do material com secreções do trato respiratório anterior (GONÇALVES et al., 2004), mostrando-se, porém, eficiente, na amostragem celular do lavado.

Nos ovinos, a colheita de material de vias aéreas inferiores tem sido pouco explorada no que diz respeito ao diagnóstico de problemas respiratórios. A principal utilização dessa espécie animal no estudo das secreções broncoalveolares visa ao estudo das doenças respiratórias no homem (GÓRIN et al., 1979; ROLA-PLESZYNSKI et al., 1981; BÉGIN et al., 1983; BOSSÉ et al., 1987; BURRELS & WILLIAMS 1987; MORNEX et al., 1994; BROGDEN et al., 1998). Realizou-se a maior parte das colheitas em animais mortos (MORNEX et al., 1994; BROGDEN et al., 1998), embora alguns autores tenham feito o experimento com endoscopia (BÉGIN, 1983,) ou por intubação endotraqueal

(GÓRIN et al., 1979; BOSSÉ et al., 1987; BURRELS & WILLIAMS, 1987) em animais submetidos à anestesia geral.

Considerando-se a importância dos prejuízos causados pelas doenças respiratórias em ovinos e a limitação de informações sobre a citologia de vias aéreas desta espécie no Brasil, o presente estudo procurou estabelecer uma metodologia adequada, de baixo custo e pouco traumática, para obtenção de fluido traqueobrônquico para análise citológica.

MATERIAL E MÉTODOS

Incluíram-se neste estudo dezenove ovinos, independentemente de raça e sexo, com idade entre um e quatro anos, submetendo-os à contenção física em estação, com a cabeça e pescoço estendido e alinhado com a coluna vertebral.

Após a contenção e assepsia do vestíbulo nasal, foi introduzida, por via nasotraqueal, uma sonda-guia siliconizada, de 65cm de comprimento e 0,5cm de diâmetro, previamente esterilizada e embalada individualmente. Passou-se, na extremidade dessa sonda, lidocaína gel, para lubrificação e redução do desconforto. Após adentrar o vestíbulo nasal – a passagem pelo meato nasal médio – e mediante a constatação de que a sonda estava na orofaringe, foi feito um movimento de rotação de 180° para direcionar sua extremidade dorsalmente. Com isso ocorreu o toque da sonda na epiglote e seu direcionamento para a laringe e traquéia. O desconforto, meneios de cabeça, saída de ar pela extremidade da sonda-guia, seguida ou não de tosse, foram os sinais indicativos de sua localização na via aérea. Aguardou-se, a seguir, o momento da inspiração, para que a sonda fosse empurrada sem resistência pela traquéia, até a região da carina. Com a sonda instalada e fixada manualmente, introduziu-se um tubo de polietileno com 85cm de comprimento e 0,3cm de diâmetro, adaptado a uma agulha calibre 30, sem bisel. Esse tubo foi introduzido até a saída de sua ponta, aproximadamente cinco centímetros além da extremidade final da sonda-guia, produzindo tosse no animal. As sondas eram marcadas

individualmente, de modo a mostrar o quanto elas foram introduzidas.

Após a sondagem nasotraqueal, colheram-se as amostras por método de lavagem traqueobrônquica (GONÇALVES et al., 2004). Por meio de uma seringa estéril com capacidade de 60ml, adaptada ao conjunto, foram injetados e imediatamente aspirados de 30 a 50ml de solução salina isotônica comercial estéril e aprotinase, de acordo com o tamanho do animal. Realizaram-se aspirações sucessivas à medida que a sonda ia progressivamente sendo retirada. Após a obtenção de amostra aparentemente adequada, em volume e aspecto (turvação), removeu-se completamente o conjunto de sondas. O líquido do lavado traqueobrônquico obtido foi acondicionado em tubo de ensaio de polietileno, armazenado em caixa isotérmica com gelo e enviado ao Laboratório de Citopatologia do Serviço de Patologia da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia de Botucatu, da UNESP, no tempo máximo de duas horas, para processamento e realização de estudos citológicos.

Para a contagem total de células, homogeneizou-se o líquido do lavado traqueobrônquico em agitador de tubos (Phoenix – Mod. AT 56), por dez segundos, realizando-se a contagem do número total de células em câmara de Neubauer, sem a utilização de corantes. Empregaram-se os nove quadrados da câmara, em analogia com a técnica descrita para contagem de leucócitos. O número total de células encontrado foi multiplicado por 1,1 (fator de correção), fornecendo o número total de células por microlitro de lavado, segundo COLES (1984). Multiplicou-se o valor encontrado por 10^3 , para obtenção do valor em células/ml. Obteve-se a impressão celular em lâminas histológicas de vidro com extremidade fosca por meio de citocentrifugação (Revan Centrífuga Cilco Cito) de 200 microlitros do lavado traqueobrônquico a 800rpm por seis minutos. As lâminas foram coradas pelos métodos de Giemsa e Shorr, para identificar as células, avaliar suas características morfológicas e realizar as contagens diferenciais. Para coloração de Shorr, fixaram-se as lâminas com solução de álcool etílico a 95%, imediatamente após a citocentrifugação. Para a coloração por Giemsa,

secaram-se as lâminas ao ar ambiente, fixando com metanol (KOSS, 1992).

Analísaram-se, para cada animal, número e porcentagem de células epiteliais cilíndricas (CEC), macrófagos (M), neutrófilos (N), linfócitos (L) e eosinófilos (E). Contaram-se quatrocentas células em microscópio óptico comum, com aumento de 400x.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A técnica foi bem suportada pelos ovinos submetidos ao método de colheita. Ela não exigiu a necessidade de sedação e forneceu material adequado para realização de estudos citológicos. Foi segura, prática, pouco traumática e atingiu o objetivo de obtenção de amostra representativa da região traqueobrônquica, constituída por grande quantidade de macrófagos alveolares e pouca contaminação por células do trato respiratório anterior (ZINKL, 1992). O tubo-guia foi utilizado neste trabalho para evitar a contaminação por células da orofaringe e da traquéia, o que pode ocorrer nos lavados bucotraqueais e nasotraqueais (CORSTVET et al., 1982; GONÇALVES, 1997; GONÇALVES et al., 2004). Como há a necessidade de que o lavado represente o pulmão como um todo para o estudo dos processos inflamatórios, o líquido foi depositado na bifurcação traqueal, evitando-se a limitação provocada pela lavagem broncoalveolar às cegas, realizada com a introdução do tubo-guia no brônquio (SWEENEY & BEECH, 1991; MORI, 2000) ou por endoscopia (PRINGLE et al., 1988; ALLEN et al., 1992). A introdução desse tubo contribuiu, também, para desencadear o reflexo de tosse, favorecendo a colheita de células das regiões mais profundas (GONÇALVES, 1997).

Segundo GONÇALVES et al. (2004), os resultados citológicos da literatura de lavados broncopulmonares são variados, em virtude da falta de padronização de técnicas de colheita, principalmente no que diz respeito à comparação de animais sadios e doentes. Por isso, é necessário o reconhecimento das limitações metodológicas que podem interferir nos resultados.

O número total de células nucleadas no

lavado traqueobrônquico apresentou média de 64.650 ± 49.674 células por mililitro, com pouca variação, atingindo um máximo de 165.000 células. A contagem total e diferencial obtida neste trabalho está apresentada na Tabela 1.

As amostras do lavado traqueobrônquico de ovinos clinicamente saudáveis caracterizaram-se por predomínio de macrófagos, acima de 60% do total de células, seguindo-se por 15% de células epiteliais cilíndricas, 20% de neutrófilos, 1,4% de linfócitos e 0,77% de eosinófilos, o que está de acordo com os achados de GONÇALVES et al. (2004), com exceção dos eosinófilos, que não foram identificados por esses autores, em bezerros saudáveis.

O predomínio de macrófagos nas amostras obtidas neste estudo (Figura 1) indica que o líquido obtido foi representativo das vias aéreas distais (ZINKL, 2002). Segundo a literatura, há variação na população de células, na dependência do local de colheita. Ocorre predomínio de células epiteliais cilíndricas nas amostras traqueais. Já nos lavados traqueobrônquicos ou broncoalveolares, a célula predominante é o macrófago, caracterizando amostragem das vias mais profundas do pulmão (DERKSEN et al., 1989; GONÇALVES et al., 2004).

A literatura demonstra porcentagens baixas de neutrófilos em animais saudáveis, variando

de 6,0 % a 8,9% em bovinos e eqüinos, respectivamente (FERNANDES et al., 2000; GONÇALVES et al., 2004). Os dados deste trabalho revelaram média de 20,04%, valor superior ao encontrado na literatura citada. Esse fato pode estar relacionado ao hábito de pastejo e tipo de manejo dos ovinos, que recebem ração pulverulenta e são mantidos em ambientes fechados e com cama, facilitando a inalação e instalação de agentes patogênicos e alérgenos ambientais, o que aumenta o aporte de células de defesa, como os neutrófilos, para o lúmen traqueobrônquico. Sabe-se que os neutrófilos são as células de defesa mais mobilizadas na inflamação (LEID & POTTER, 1985).

TABELA 1. Contagem total de células nucleadas e contagem diferencial das células do lavado traqueobrônquico de ovinos saudáveis, média (m), mediana (md) e desvios-padrão (s).

	m	md	S
Células nucleadas (/ml)	64.650	57750,0	49,674,3
Macrófagos (%)	62,74	67,54	20,04
Células epiteliais cilíndricas (%)	15,01	12,06	9,8
Neutrófilos (%)	20,04	12,75	20,26
Linfócitos (%)	1,44	1,0	1,27
Eosinófilos (%)	0,77	0	1,8

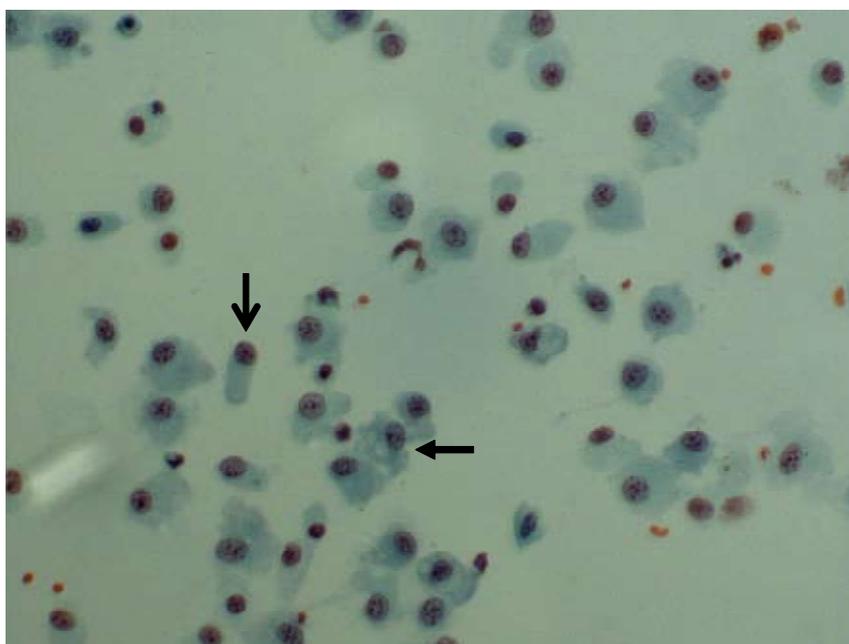


FIGURA 1. Visão panorâmica de células do lavado traqueobrônquico de ovinos saudáveis, com predomínio de macrófagos (—▶). Notam-se algumas células epiteliais cilíndricas (—→) – Shorr (400x).

Em relação às células epiteliais cilíndricas, pelos dados, este trabalho concorda com os de GONÇALVES et al. (2004), que encontraram 14,9% dessas células nas amostras estudadas. Aqui se verificaram 15,01% de células epiteliais cilíndricas, a maioria ciliada (Figura 2), refletindo a integridade do epitélio de revestimento broncopulmonar, nos ovinos saudáveis.

A contagem diferencial de linfócitos no lavado traqueobrônquico de eqüinos é controversa, na dependência da técnica de colheita utilizada. Por via endoscópica, em animais clinicamente saudáveis, o número de linfócitos varia de 30% a 50% da população total de células do lavado (NAYLOR et al., 1992; SWEENEY et al., 1992a,b; MCGORUM et al., 1993). Em ovinos saudáveis, utilizando a endoscopia, BURRELLS &

WILLIAMS (1987) encontraram 21,9% de linfócitos. Já COLLIE et al. (1999) registraram 3% dessa célula em BAL de ovinos. A porcentagem de linfócitos no lavado traqueobrônquico, obtida neste trabalho, foi ainda mais baixa (Tabela 1), no entanto concorda com os dados de GONÇALVES et al. (2004), que estudaram a celularidade do lavado traqueobrônquico de bezerros.

A presença de eosinófilos nesta espécie discorda da literatura (GONÇALVES et al., 2004). No entanto, é equiparada à porcentagem encontrada em lavados traqueobrônquicos de eqüinos (LARSON & BUSCH, 1985; DERKSEN, 1989; SWEENEY & BEECH, 1991; FERNADES et al., 2000). Provavelmente, nos ovinos, relaciona-se à presença de verminose, já que são altamente susceptíveis a endoparasitas.

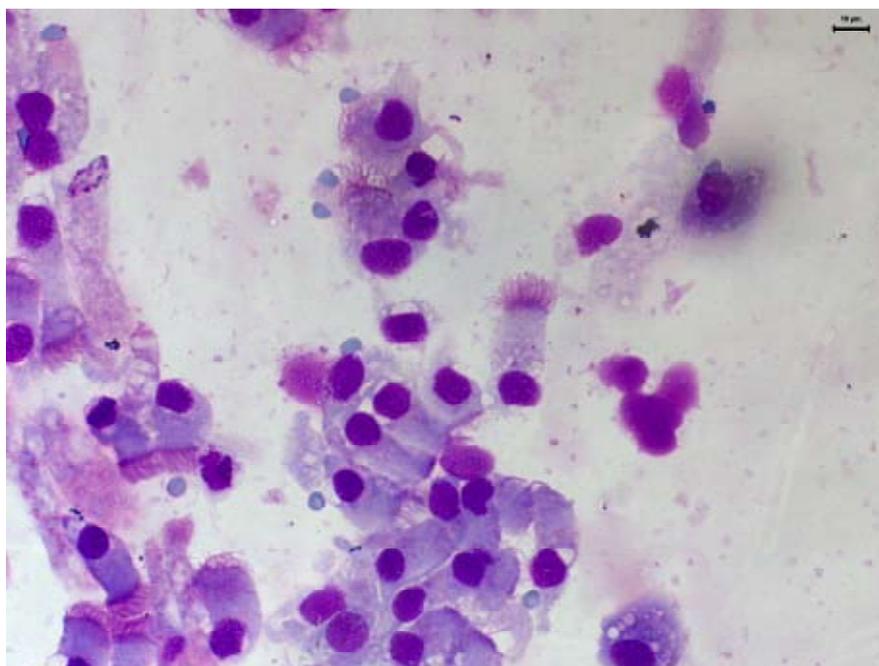


FIGURA 2. Células epiteliais cilíndricas e ciliadas – Giemsa (500x).

CONCLUSÕES

Com relação à metodologia utilizada para obtenção das amostras de via aéreas posteriores, o lavado traqueobrônquico por via nasotraqueal mostrou-se eficiente na obtenção de amostras de vias aéreas distais, com representatividade celu-

lar da região broncopulmonar. É de fácil realização, utiliza material de baixo custo, no entanto, requer treinamento e habilidade para passagem da sonda em menor tempo possível, sem muito desconforto ao animal, o que evita contaminação por células do trato respiratório anterior. O seu uso é recomendado como adjuvante no estu-

do do sistema respiratório de ovinos. Por isso, o uso dessa técnica deve ser estimulado no estudo do sistema respiratório de ovinos e recomendado como método auxiliar no diagnóstico das doenças respiratórias.

AGRADECIMENTOS

Ao Laboratório de Citopatologia Veterinária do Departamento de Clínica Veterinária da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Unesp-Botucatu, e ao CNPq, pela bolsa concedida durante a realização deste estudo.

REFERÊNCIAS

- ALLEN, J.W.; VIEL, L.; BATEMAN, K.G.; ROSENDAL, S.; SHEWEN, P. Cytological findings in bronchoalveolar lavage fluid from feedlot calves: associations with pulmonary microbial flora. **Canadian Journal of Veterinary Research**, v. 56, p.122-6, 1992.
- BARROS, M.S.R.M.; CASTRO, R.S.; TABOSA, J.H.C.; BRITO, M.F.; AMARAL, B. Colheita do fluido bronquioalveolar de bezerros através da traqueocentese transcutânea. **Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecologia**, v. 6, n.1, p.41-49, maio 1994.
- BEECH, J. Cytology of tracheobronchial aspirates in horses. **Veterinary Pathology**, v. 12, p.157-164, 1975.
- BEECH, J. Technique of tracheobronchial aspiration in horse. **Equine Veterinary Journal**, v.13, n. 2, p.136-137, 1981.
- BÉGIN, R.; ROLA-PLESZYNSKI, M.; MASSÉ, S.; LEMAIRE, I.; SIRIOIS, P.; BOCTOR, M.; NADEAU, D.; DRAPEAU, G.; BUREAU, M. A. Asbestos: induced lung injury in the sheep model: the initial alveolitis. **Environmental Research**, v. 30, p.195-210, 1983.
- BOSSÉ, J.; BOILEAU, R.; BÉGIN, R.; GEOFFROY, M.; MARTEL, M.; DESMARAIS, Y. Chronic allergic airway disease in sheep model: functional and lung-lavage features. **Journal of Allergy Clinical Immunology**, v. 79, n. 2, p.339-344, fev. 1987.
- BROGDEN, K.A.; ACKERMANN, M.; HUTTNER, K.M. Detection of anionic antimicrobial peptides in ovine bronchoalveolar lavage fluid and respiratory epithelium. **Infection and Immunity**, v. 66, n.12, dez. 1998.
- BURRELLS, C.; WILLIAMS J. T. Bronchoalveolar lavage of the live anaesthetised sheep. **Res Vet Sci**. v. 42. n.1, p.109-112, jan. 1987.
- COLES E. H. **Patologia clínica veterinária**. 3. ed. Manole: São Paulo, 1984. p.390-426.
- COLLIE, D. D. S.; BAKER, A.; MAUCLINE, S.; PORTEOUS, D.; McLACHLAN G. Ovine bronchoalveolar lavage cellularity: reproducibility and the effect of multiple repeated lavage. **Research in Veterinary Science**, v. 67, n. 2, p.137-140, 1999.
- CORSTVET, R. E.; RUMMAGE, J. A.; HOMER, J. T. Recovery of pulmonary alveolar macrophages from non-anesthetized calves. **American Journal of Veterinary Research**, v. 43, n. 12, p. 2253-2254. 1982.
- COUËTIL L. L.; ROSENTHAL F. S.; DeNICOLA D. B.; CHILCOAT C. D. Clinical signs, evaluation of bronchoalveolar and assessment of pulmonary function in horses with inflammatory respiratory disease. **American Journal of Veterinary Research**, v. 62, n. 4, p.538-546, 2001.
- 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.
- 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**, v. 52, n. 6, 2000.
- FORGARTY, U. A bronchoalveolar lavage technique for routine diagnostic purposes. **Equine Veterinary Education**, v. 2, n. 2, p.102-104. 1990.
- FORMAN, A. J.; BABIUK, L. A.; BALDWIN, F.; FRIEND, S.C.E. Effect of infectious bovine rhinotracheitis virus infection of calves on cell populations recovered by lung lavage. **American Journal of Veterinary Research**, v. 43, p.1174-1179, 1982.
- GONÇALVES, R. C. **Estudo da flora bacteriana traqueobrônquica em bezerros clinicamente sadios e portadores de pneumonia, na região de Botucatu – SP**. Botucatu, SP, 1987. 43 f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina Universidade Estadual Paulista.
- GONÇALVES, R. C. **Estudo clínico e citológico em bezerros clinicamente sadios e portadores de broncop-**

- neumonia moderada e grave:** o lavado traqueobrônquico como complemento diagnóstico. Botucatu, 1997. Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina Universidade Estadual Paulista.
- GONÇALVES, R.C.; KUCHEMUCK, M.R.G.; ALMEIDA, C.T. Lavagem traqueobrônquica por traqueocentese em bovinos. *Veterinária e Zootecnia*, v. 2, p. 17-25, 1990.
- GONÇALVES, R.C.; MATTOS, M.C.F.I.; KUCHEMUCK, M.R.G. et al. Lavagem traqueobrônquica por sondagem nasotraqueal em bezerras. *Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v. 56, n. 3, p. 307-311, jun. 2004.
- GÓRIN, A.B.; STEWART, P.; GOULD, J. Concentrations of immunoglobulin classes in subcompartments of the sheep lung. *Research of Veterinary Science*, v. 26, p. 126-28, 1979.
- KIMBERLING, C.V. **Jensen and swift's diseases of sheep**. 3. edition. Philadelphia: Lea & Febiger Publ. Co., 1988. p. 94.
- MARTIN, W.B. Respiratory infections of sheep. **Compendium of Immunology Microbiology and Infectious Diseases**, v. 19, n.3, p. 171-179, 1996.
- KOSS, L.G. **Diagnostic cytology and its histopathologic bases**. 4. ed. Philadelphia: J. B. Lippincott, 1992. 2 v.
- LARSON, V.G; BUSCH, R.H Equine tracheobronchial lavage: Comparison of lavage cytologic and pulmonary histopathologic findings. *American Journal of Veterinary Research*, v. 46, n.1, 1985.
- LEID, R.W.; POTTER, K.A. Inflammation and mediators of lung injury. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, v.1, p. 377-400, 1985.
- McGORUM, B.C.; DIXON, P.M.; HALLIWELL, R.E.W.; IRVING, P. Comparison of cellular and molecular components of bronchoalveolar lavage fluid harvest from different segments of the equine lungs. *Research in Veterinary Science*, v. 55, p. 57-59, 1993.
- MORI, E. **Avaliação da função dos macrófagos alveolares após infecção experimental em cavalos (*Equus caballus* – Linnaeus, 1758) por herpesvírus equino tipo 1 (HVE-1)**. São Paulo, 2000, 98 f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo.
- MORNEX, J.F; LENA, P.; LOIRE, R.; COZON, G.; GREELAND, T.; GUIGEN, F.; JACQUIER, M.F.; CORDIER, G. Lentivirus-induced interstitial disease: pulmonary pathology in sheep naturally infected by the visna-maedi virus. *Veterinary Research*, v. 25, p. 478-488, 1994.
- 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.
- PECORA, D.V. A method of securing uncontaminated tracheal secretions for bacterial examination. *Journal of Thoracic Surgery*, v. 37, p. 653-654, 1959.
- PRINGLE, J.K.; VIEL, L.; SHEWEN, P.E.; WILLOUGHBY, R.A.; MARTIN, S.W.; VALLI, V.E.O. Bronchoalveolar lavage of cranial and caudal lung regions in selected normal calves: cellular, microbiological, immunoglobulin, serological and histological variables. *Canadian Journal of Veterinary Research*, v. 52, p. 239-248, 1988.
- RAO, T.M.; CHARYULU, E.K.; PRASAD, R.D.D.; SRINIVASULU, D. & MUNIRATHNAM, D. Some observations on incidence and mortality of pneumonia in sheep. *Indian Journal of Animal Health*, v. 32, n. 1, p. 77-78, 1993.
- ROLA-PLESZCZYNSKI, M.; SIROIS, P.; BÉGIN, R. Cellular and humoral components of bronchoalveolar lavage In: The sheep. *Lung*, v. 159, p. 91-99, 1981.
- ROOK, J.S.; SCHOLMAN, G.; WING-PROCTOR, S.; SHEA, M. Diagnosis and control of neonatal losses in sheep. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, v. 6, n. 3, p.531-562, 1990.
- SWEENEY, C.R.; BEECH, J. Bronchoalveolar lavage In: BEECH, J. **Equine respiratory disorders**. Pennsylvania: Lea & Febiger, 1991. 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, p. 1172-1175, 1992a.
- SWEENEY, C.R.; ROSSIER, Y.; ZIEMER, E.L.; LINDBORG, S. Effects of lung site and fluid volume on results of bronchoalveolar lavage fluid analysis in horses. *American Journal of Veterinary Research*, v. 53, p. 1376-1379, 1992b.
- VIERA, F.J.B.; TRIGO T.,F.J.; MEZA, L.J.; ROMERO, F.A.; PÉREZ, G.T.; GÜEMES, F.S. Serotipos de *Pasteurella multocida* y *Pasteurella haemolytica* aislados a partir de pulmones con lesiones inflamatorias en ovinos y caprinos. *Veterinaria Mexico*, v. 27, n. 2, p.107-112, 1993.

VIEL, L. **Structural functional correlations of the lung in horses with small airway disease**. Ontario, Canada, 1983. Dissertation (Phd) – University of Guelph.

WHITWELL, K.E.; GREET, T.R.C. Collection and evolution of traqueobronchial washes in the horse. **Equine Veterinary Journal**, v. 16, n.6, p. 499-508, 1984.

ZINKL J. G. Lowe Respiratory Tract. In. COWELL R. L.; TYLER R. D. **Diagnostic cytology and hematology of the horse**. 2. ed. Missouri: Mosb, 2002. p. 73-86.

Protocolado em: 2 mar. 2007. Aceito em: 10 mar. 2008.