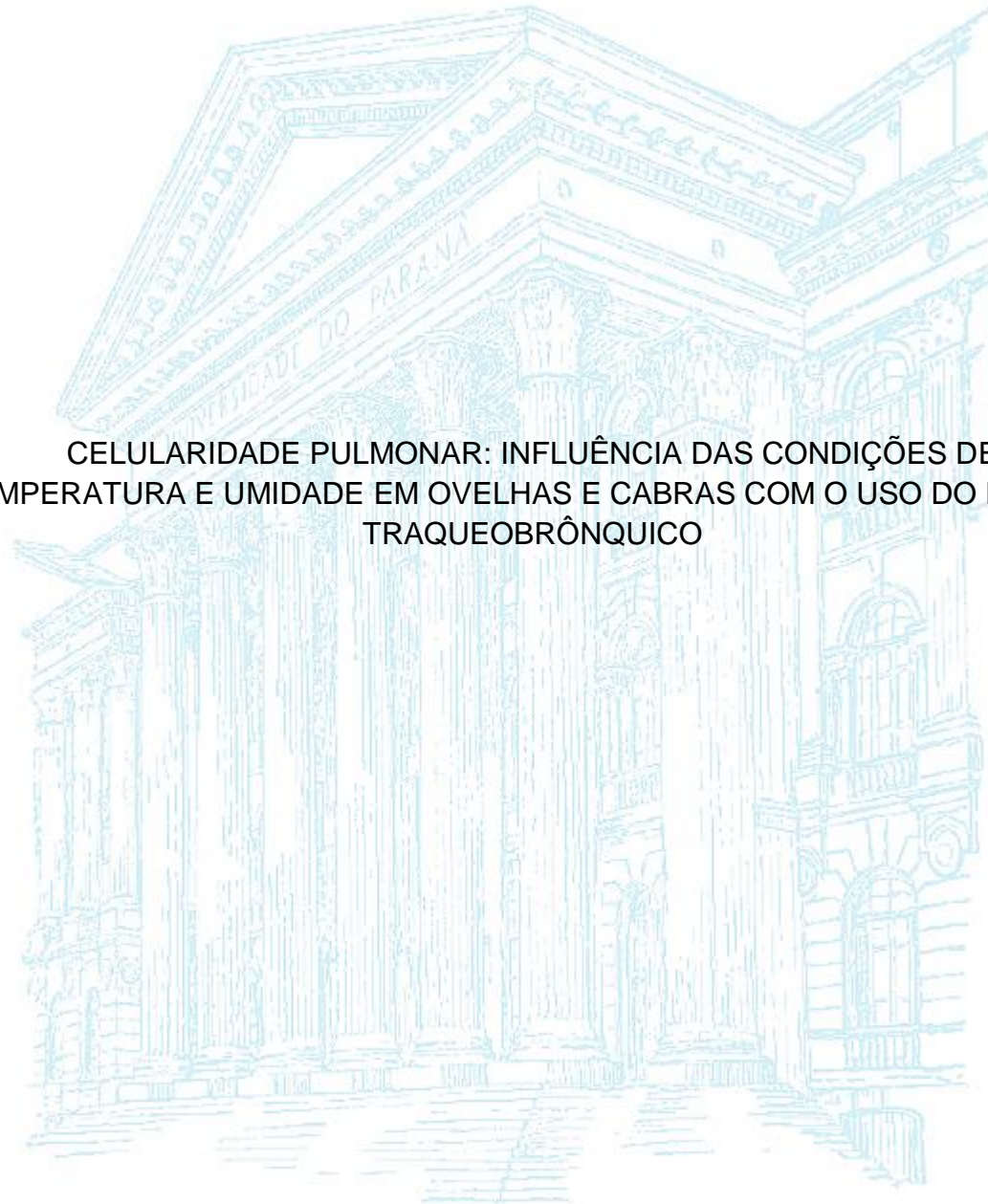


UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

THAIS GISLON DA SILVA



CELULARIDADE PULMONAR: INFLUÊNCIA DAS CONDIÇÕES DE  
TEMPERATURA E UMIDADE EM OVELHAS E CABRAS COM O USO DO LAVADO  
TRAQUEOBRÔNQUICO

CURITIBA

2013

THAIS GISLON DA SILVA

CELULARIDADE PULMONAR: INFLUÊNCIA DAS CONDIÇÕES DE  
TEMPERATURA E UMIDADE EM OVELHAS E CABRAS COM O USO DO LAVADO  
TRAQUEOBRÔNQUICO

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias, área de concentração em Sanidade Animal e Medicina Veterinária Preventiva, Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Ciências Veterinárias.

Orientador: Prof. Dr. Ivan Roque de Barros Filho

CURITIBA

2013


PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS



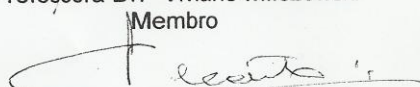
PARECER

A Comissão Examinadora da Defesa da Dissertação intitulada "CELULARIDADE PULMONAR: INFLUÊNCIA DAS CONDIÇÕES DE TEMPERATURA E UMIDADE EM OVELHAS E CABRAS COM O USO DO LAVADO TRAQUÉOBRÔNQUICO" apresentada pela Mestranda THAIS GISLON DA SILVA declara ante os méritos demonstrados pela Candidata, e de acordo com o Art. 79 da Resolução nº 65/09-CEPE/UFPR, que considerou a candidata THAIS GISLON DA SILVA para receber o Título de Mestre em Ciências Veterinárias, na Área de Concentração em Ciências Veterinárias.

Curitiba, 08 de março de 2013

  
Professor Dr. Ivan Roque de Barros Filho  
Presidente/Orientador

  
Professora Dr.<sup>a</sup> Viviane Milczewski  
Membro

  
Professor Dr. Ivan Deconto  
Membro



**Universidade Federal do Paraná**  
**Setor de Ciências Agrárias**  
**Comissão de Ética no Uso de Animais – CEUA SCA**

**CERTIFICADO**

Certificamos que o protocolo no. 022/2011, referente ao projeto “ Lavado traqueobrônquico em ovinos e caprinos a pasto e confinamento ”, sob a responsabilidade de Thais Gislon da Silva, na forma que foi apresentado, foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais do Setor de Ciências Agrárias, em reunião realizada dia 23 de setembro de 2011.

**CERTIFICATE**

We certify that the protocol number 022/2011, regarding the project “Tracheobronchial lavage in sheep and goat at pasture and feedlot ”, in charge of Thais Gislon da Silva, in the terms it was presented, was approved by the Animal Use Ethics Committee of the Agricultural Sciences Campus of the Universidade Federal do Paraná (Federal University of the State of Paraná, Southern Brazil) during session on September 2011.

Curitiba, 23 de setembro de 2011.

Geraldo Camilo Alberton  
Presidente

Patrick Schmidt  
Vice-Presidente

Comissão de Ética no Uso de Animais  
Setor de Ciências Agrárias  
Universidade Federal do Paraná.

Aos meus Pais **Marcia Gislon da Silva** e **Luiz Carlos da Silva** que apoiam e participam das decisões que faço em minha vida.

**DEDICO ESTE TRABALHO**

## AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador Professor **Ivan Barros** pela oportunidade de realizar o mestrado, pelo apoio e chamadas de atenção quando necessário.

Ao Professor **Ivan Deconto** pelos ensinamentos passados, pela amizade e por ser sempre aquela pessoa pronta para dar conselhos e ótimas ideias.

Aos Professores **Rosângela Locatelli Dittrich** e **Peterson Triches Dornbusch** pela orientação na confecção teórica e prática do projeto e disponibilizarem equipamentos para a realização de tal.

Ao meu namorado **Fernando Zanlorenzi Basso** por me ajudar na coleta dos lavados seja com chuva ou com muito calor, passar as tardes processando amostras de sangue ou citocentrifugando as amostras do lavado; por me aguentar durante o mestrado, me apoiar e sempre que precisei estava lá para me ajudar.

À minha família, **Márcia Gislon da Silva, Luiz Carlos da Silva e Ighor Gislon da Silva** por entenderem as preocupações do mestrado e apoiarem a minha escolha.

Ao pessoal do laboratório de patologia clínica do Hospital Veterinário da UFPR: **Marília Koch, Bruno Castilho, Fabiana Tieme, Rafael Hagi e Olair** pela grande ajuda durante a parte prática do projeto e possibilitarem o uso dos equipamentos do laboratório para o processamento das amostras.

Ao pessoal do **LAPOC-UFPR**, principalmente a Professora **Alda Lúcia Gomes Monteiro, Claudio Araújo, Maria Ângela Fernandes** e aos funcionários **Sérgio** e **Vitor** por facilitarem e tornarem possível a realização da parte prática do projeto.

Ao meu grande amigo **Ricardo de Brito Gonçalves** pela ajuda durante as coletas; por acordar cedo e enfrentar tempos chuvosos e dias muito quentes e passar as tardes no Laboratório processando as amostras. E também a **Julia Dall'Anese** e **Mariana Yumi** pela ajuda nas coletas.

À funcionária do Hospital Erasto Gaetner, **Angelina** por emprestar a citocentrífuga e tornar possível o processamento das amostras do lavado.

## Resumo

O intuito deste artigo foi comparar diferentes condições de temperatura e umidade com alterações na celularidade pulmonar de ovelhas e cabras híbridas no estado do Paraná. Em um estudo, foram utilizadas quarenta ovelhas pertencentes ao LAPOC – UFPR para colheita de lavado traqueobrônquico por via nasotraqueal em quatro momentos: 10°C e 83,9% umidade relativa (UR) (T1), 18,5°C e 78,3% UR (T2), 21°C e 78,9% UR (T3) e 25°C e 68,4% UR (T4). Os valores médios encontrados para T1, T2, T3 e T4 foram, respectivamente: 78,4%, 91,6%, 87,8% e 85,1% para macrófagos; 4,5%, 1,5%, 2,9% e 2,1% para neutrófilos; 2,5%, 3,5%, 3,1% e 4,6% para linfócitos; 12,7%, 1,9%, 4,8% e 7,2% para eosinófilos e; 1,9%, 1,4%, 1,4% e 0,9% para células epiteliais. A contagem total média de células foi de 52.750, 59.435, 56.375, 55.380 cel/mL nos quatro momentos supracitados. Conclui-se que temperatura e umidade podem interferir na celularidade pulmonar. Em outro estudo, vinte e seis cabras pertencentes ao LAPOC-UFPR foram submetidas à colheita de lavado traqueobrônquico por via nasotraqueal em dois momentos: T1: 17,5°C e 78% UR e T2: 25°C e 68,4% UR. A contagem total média de células foi 65.321 e 54.833 cel/mL em T1 e T2, respectivamente. As porcentagens médias em T1 de macrófagos, células epiteliais ciliadas, linfócitos, eosinófilos e neutrófilos foram: 85,1%, 4,8%, 2,1%, 5,0% e 2,8%, respectivamente. E as porcentagens médias em T2 foram de 84,6%, 5,8%, 5,2%, 0,9% e 3,2%, respectivamente para as células supracitadas. Houve somente diferença estatística na porcentagem de linfócitos, porém sem importância clínica.

**Palavras-chave:** caprinos, citologia, lavagem traqueobrônquica, ovinos, temperatura, umidade.

## Abstract

The purpose of this article was to compare different temperatures and humidity with alterations of lung cellularity in healthy sheep and goats in the state of Paraná. In one study, were utilized forty sheep belonging to LAPOC - UFPR to collect tracheobronchial lavage by nasotracheal via in four moments: 10°C and 83,9% relative humidity (RH) (T1), 18.5°C and 78,3% RH (T2), 21°C and 78,9% RH (T3) and 25°C and 68,4% RH (T4). The mean values found for T1, T2, T3 and T4 were, respectively: 78.4%, 91.6%, 87.8% and 85.1% for macrophages, 4.5%, 1.5 %, 2.9% and 2.1% for neutrophils, 2.5%, 3.5%, 3.1% and 4.6% lymphocytes, 12.7%, 1.9%, 4.8% and 7.2% for eosinophils and, 1.9%, 1.4%, 1.4% and 0.9% for epithelial cells. The total cell count was 52.750, 59.435, 56.375, 55.380 cells/mL in the four times aforementioned. It is concluded that the temperature and humidity can interfere with the pulmonary cellularity. In another study, twenty-six goats belonging to LAPOC-UFPR were submitted to tracheobronchial lavage gathering by nasotracheal via in two times: T1: 17,5°C e 78% RH e T2: 25°C e 68,4% RH. The total cell count was 65.321 e 54.833 cel/mL em T1 e T2, respectively. The mean values of macrophages, ciliated epithelial cells, lymphocytes, eosinophils and neutrophils in T1 were 85,1%, 4,8%, 2,1%, 5,0% e 2,8%, respectively. And the mean values in T2 were 84,6%, 5,8%, 5,2%, 0,9% e 3,2%, for the aforementioned cells. There was only statistically significant difference in the percentage of lymphocytes, but without clinical significance.

**Key words:** caprine, cytology, humidity, tracheobronchial wash, ovine, temperature.



## LISTA DE TABELAS

- TABELA 1. Eritrograma com erro padrão dos animais pertencentes ao experimento realizado antes dos lavados traqueobrônquicos em quatro momentos.....30
- TABELA 2. Leucograma, proteína plasmática total, fibrinogênio e respectivos erros padrão dos animais pertencentes ao experimento realizado antes dos lavados traqueobrônquicos em quatro momentos.....30
- TABELA 3. Contagem total de células e porcentagem da contagem diferencial com respectivos erros padrão da celularidade encontrada no lavado traqueobrônquico em quatro momentos (contagem em 400 células).....31
- TABELA 4. Porcentagem, desvio padrão e valor de p da celularidade encontrada no lavado traqueobrônquico (contagem em 400 células).....50
- TABELA 5. Intervalo, média, mediana e desvio padrão da celularidade encontrada no lavado traqueobrônquico (contagem em 400 células).....52

## LISTA DE FIGURAS

- FIGURA 1. Contenção e coleta do lavado traqueobrônquico.....26
- FIGURA 2. Médias das frequência cardíaca (FC), frequência respiratória (FR) e temperatura retal (T) antes de cada coleta do lavado traqueobrônquico com seus respectivos erros padrão.....29
- FIGURA 3. Contenção e coleta do lavado traqueobrônquico.....46
- FIGURA 4. Lâmina do lavado traqueobrônquico com presença de macrófagos e células epiteliais ciliadas.....50

## LISTA DE ABREVIATURAS

Bpm	Batimentos por minuto
Cél/mL	Células por mililitro
Cél/ $\mu$ L	Células por microlitro
cm	Centímetros
CHGM	Concentração de Hemoglobina Globular Média
EUA	Estados Unidos da América
FC	Frequência Cardíaca
FR	Frequência Respiratória
g/dL	Gramas por decilitro
g/L	Gramas por Litro
°C	Graus Centígrados
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
INMET	Instituto Nacional de Metereologia
LAPOC – UFPR	Laboratório de Pesquisa de Ovinos e Caprinos da Universidade Federal do Paraná
M	Metros
$\mu$ l	Microlitros
$\mu$ m <sup>3</sup>	Micrômetros cúbicos
Mg/dL	Miligramas por decilitro
ml	Mililitro
Mm	Milímetro
Mov/min	Movimentos por minutos
PPT	Proteína Plasmática Total
RH	Relative Humidity

T	Temperatura
UFPR	Universidade Federal do Paraná
VGM	Volume Globular Médio
UR	Umidade Relativa do Ar

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	14
1.1. REFERÊNCIAS .....	19
<b>2. CAPÍTULO I - INFLUÊNCIA DE DIFERENTES CONDIÇÕES DE TEMPERATURA E UMIDADE NA CELULARIDADE DO LAVADO TRAQUEOBRÔNQUICO DE OVELHAS HÍGIDAS</b>	
Resumo.....	21
2.1. INFLUENCE OF DIFERENTS TEMPERATURE AND HUMIDITY CONDITIONS IN CELLS OF TRACHEOBRONCHIAL LAVAGE IN HEALTHY SHEEP	
Abstract.....	22
2.2. INTRODUÇÃO.....	23
2.3. MATERIAL E MÉTODOS .....	24
2.3.1. ANIMAIS.....	24
2.3.2. MANEJO .....	25
2.3.3. FATORES DE INCLUSÃO .....	25
2.3.4. COLHEITA DO LAVADO TRAQUEOBRÔNQUICO .....	25
2.3.5. PROCESSAMENTO DAS AMOSTRAS .....	27
2.3.6. ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	28
2.4. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	28
2.5. CONCLUSÃO .....	36
2.6. REFERÊNCIAS .....	37

**3. CAPÍTULO II – INFLUÊNCIA DE DIFERENTES CONDIÇÕES DE TEMPERATURA E UMIDADE NA CELULARIDADE PULMONAR POR MEIO DO LAVADO TRAQUEOBRÔNQUICO EM CABRAS SADIAS**

Resumo.....	40
3.1. INFLUENCE OF DIFERENTS TEMPERATURE AND HUMIDITY CONDITIONS IN PULMONARY CELLS BY TRACHEBRONCHEAL LAVAGE IN HE ALTHY GOATS	
Abstract.....	41
3.2. INTRODUÇÃO.....	42
3.3. MATERIAL E MÉTODOS .....	44
3.3.1. ANIMAIS.....	44
3.3.2. MANEJO .....	45
3.3.3. COLHEITA DO LAVADO TRAQUEOBRÔNQUICO .....	45
3.3.4. PROCESSAMENTO DAS AMOSTRAS .....	47
3.3.5. ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	48
3.4. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	48
3.5. CONCLUSÃO .....	53
3.6. REFERÊNCIAS .....	54
<b>4. CONSIDERAÇÕES FINAIS .....</b>	<b>58</b>

## 1. INTRODUÇÃO

O Brasil possui o 9º maior rebanho de ovinos e caprinos do mundo. Segundo dados do IBGE (2011), o rebanho brasileiro de ovinos contou com 17,6 milhões de animais e o de caprinos com 9,38 milhões de animais. Ambos apresentaram um crescimento quando comparado ao ano anterior de 1,62% para ovinos e 0,77% para caprinos. Apesar de possuir um grande rebanho, o Brasil ainda precisa importar carne para abastecer o mercado interno. As criações de ovinos e caprinos se destacam cada vez mais na economia nacional e este agronegócio está em plena expansão (Matias, 2010). Porém este aumento deve ser acompanhado de manejo sanitário e nutricional eficiente para que não haja perdas na produção.

As afecções respiratórias representam um grande fator na queda da produção de ovinos e caprinos, pois promove perdas econômicas com o aumento de custos com tratamentos e diminuição da produção de leite, carne e lã (Alves et al., 2007; Radostits et al., 2007). Foi demonstrado em estudos que a pneumonia tem um impacto significativo na taxa de crescimento do cordeiro, reduzindo cerca de 50% o ganho de peso médio diário em casos graves (Goodwin-Ray, 2006).

Pneumonia é uma doença respiratória causada por um processo inflamatório dos brônquios e alvéolos em resposta a um agente infeccioso, podendo resultar em consolidação do tecido pulmonar (Goodwin-Ray, 2006). Esta afecção pode ser causada por agentes bacterianos, virais, fúngicos, parasitários e neoplásicos. Alguns exemplos desses patógenos são: o vírus Maedi-Visna, um lentivirus, que causa pneumonia, encefalite, artrite e mastite em ovinos (Mcneilly et al., 2007) ou outro lentivirus, o vírus da Artrite encefalite caprina, que causa artrite, encefalite, pneumonia e mastite em caprinos (Belknap, 2005). Outra enfermidade, considerada

crônica e contagiosa, é a linfadenite caseosa que acomete ovinos e caprinos e causa lesões purulentas e caseosas nos linfonodos, e, ocasionalmente, em pulmões, baço, rins, fígado e sistema nervoso central (Alves et al., 2007, Radostits et al., 2007).

Para que haja um diagnóstico correto e, conseqüentemente, um tratamento adequado, é essencial que seja realizada uma ótima anamnese aliada a um detalhado exame físico (Belknap, 2005). A auscultação do pulmão deve ser realizada entre a sexta e a décima primeira costela, limites anatômicos dos seus bordos. Os ruídos respiratórios mais intensos ocorrem na inspiração, já que essa fase da respiração é um processo ativo, ao contrário da expiração que é passiva (Belknap, 2005).

Segundo Diffay et al. (2005), ovinos e caprinos com pneumonia manifestam tosse intermitente, aumento da frequência respiratória, acompanhada em alguns casos de maior esforço respiratório, sendo mais comum em animais jovens. Pode estar presente também secreção nasal mucóide em fase inicial e purulenta em estágio avançado quando há grave contaminação bacteriana.

É relativamente comum a presença de corrimento nasal bilateral aquoso e claro em animais estabulados em ambientes pouco ventilados e em regiões onde há considerável oscilação de temperatura durante o dia (Diffay et al., 2005). Porém, situações como estresse térmico, superlotação e transporte predispõem a enfermidades do trato respiratório (Scott, 2011), pois podem interferir na resposta imunológica por meio da liberação de cortisol que promove, além de alterações hematológicas, redução na ativação e poder de fagocitose dos macrófagos alveolares (Robinson, 2004).

Pode ocorrer também, embora com menor frequência, corrimento de forma unilateral nos casos de *Oestrus ovis*, tumores nasais ou corpos estranhos. Já uma secreção nasal bilateral purulenta pode indicar infecção do trato respiratório anterior ou posterior (Diffay et al., 2005).

A ultrassonografia pode ser utilizada para visualização do parênquima pulmonar e orientação durante uma toracocentese em casos de efusão pleural, ou biopsia pulmonar (Belknap, 2005). Em alguns casos este método diagnóstico tem limitações, pois o ar dos pulmões reflete o feixe ultrassonográfico e impede a visualização de algumas estruturas atrás da superfície pulmonar, como, por exemplo, abscessos presentes longe da pleura (Goodwin-Ray, 2006).

Outro método bastante utilizado é a radiografia, útil no controle do tratamento destas enfermidades pulmonares, possibilitando a visualização de abscessos, corpos estranhos e neoplasias (Belknap, 2005).

Além dessas técnicas, pode-se obter amostras das células presentes na traquéia por meio de lavado transtraqueal, nasotraqueal ou orotraqueal com auxílio de endoscópio (Le Jan et al., 1980; Gonçalves et al., 2004; Belknap, 2005).

Historicamente, muitos autores pesquisaram técnicas para melhorar e facilitar a obtenção de secreção do trato respiratório inferior. Pecora (1959), iniciou o uso dessas técnicas no homem realizando aspiração traqueal, por via transtraqueal, com o intuito de obter cultivo bacteriano destas secreções. A técnica foi adaptada por Mansmann e Knight (1972) para o uso em equinos e sugerido por Beech (1981) para avaliar equinos com doenças pulmonares. Desde então estas técnicas vêm evoluindo e sendo utilizadas em várias espécies animais como método diagnóstico de afecções respiratórias.



Várias modificações das técnicas de lavados foram realizadas para se obter secreções do trato respiratório inferior em bovinos. Pode-se conseguir lavado traqueobrônquico ou broncoalveolar. No primeiro, o líquido é injetado na região da carina e pode-se utilizar técnicas por traqueocentese (Barros et al., 1994), por via orotraqueal, com uso de tubo siliconado via oral (Le Jan et al., 1980) ou nasotraqueal com acesso pelas narinas (Gonçalves et al., 2004). No segundo, o líquido é injetado além da carina em um dos lados do pulmão. Esta secreção pode ser obtida por lavado broncoalveolar às cegas, com uso de tubo até o brônquio (Sweeney e Beech, 1991; Mori e Fernandes, 2000) ou com auxílio de endoscópio (Pringle et al., 1988; Mitchell et al., 2007).

O lavado traqueobrônquico, ao contrário do broncoalveolar, é utilizado para que se tenha uma amostra do pulmão como um todo e não com a limitação de se obter amostragem de somente uma parte do órgão (Marcondes e Gonçalves, 2008). Um estudo comparando o lavado traqueobrônquico com o lavado broncoalveolar, no que se refere a citologia, não mostrou diferença nas características morfológicas dos tipos celulares entre as técnicas (Fernandes et al., 2000).

A celularidade encontrada no líquido obtido através do lavado traqueobrônquico ou broncoalveolar pode ser composta por macrófagos binucleados, macrófagos trinucleados, células gigantes, células epiteliais cilíndricas ciliadas, células epiteliais cilíndricas não ciliadas, neutrófilos, linfócitos e eosinófilos (Gonçalves et al., 2004).

Os macrófagos são células fagocitárias do sistema imunológico que protegem a região broncopulmonar. As células epiteliais cilíndricas representam a integridade do sistema de limpeza mucociliar, sendo que em um animal hígido é observada uma

maior presença de células ciliadas (Gonçalves et al., 2004). As partículas inaladas se depositam no muco que recobre as células ciliadas que movimentam seus cílios para direcionar estas partículas à faringe e serem, conseqüentemente, deglutidas. Se houver qualquer agressão causada por patógenos, esta integridade fica comprometida (Marcondes, 2007). Os neutrófilos são mais mobilizados quando há processo inflamatório envolvido, e os eosinófilos estão relacionados com processos alérgicos e micóticos (Gonçalves et al., 2004).

Em animais hígidos, o macrófago é o tipo celular mais abundante, seguido de células epiteliais e neutrófilos. A quantidade de linfócitos e eosinófilos encontrada em lavado traqueobrônquico de ovinos é mínima (Gonçalves et al., 2004).

Ao contrário, em animais com afecções respiratórias, o tipo celular em maior abundância é o neutrófilo, especialmente nas primeiras 24 horas após a infecção. Em um estudo com inoculação de *Bordetella parapertussis* em cordeiros privados de colostro, foi encontrado um aumento de sete vezes no número de células, presentes no lavado broncoalveolar, se comparado ao grupo controle. O número de neutrófilos aumentou rapidamente atingindo o pico 24 horas após a inoculação e posteriormente decaindo rapidamente. As quantidades de macrófagos aumentaram ligeiramente nas primeiras 24 horas e se tornaram significativamente elevadas três dias após a infecção. Portanto, a inoculação aumenta a relação entre neutrófilos e macrófagos nas primeiras 24 horas. No quinto dia pós-inoculação, os macrófagos, apesar de não estarem em elevado número, apresentavam de moderada a severa vacuolização no citoplasma. Além disso, esse aumento de neutrófilos nas vias aéreas pode resultar em significativa injúria das células do parênquima pulmonar (Chen et al., 1988).

## 1.1. REFERÊNCIAS

ALVES, F.S.F.; SANTIAGO, L.B.; PINHEIRO, R.R. **Linfadenite caseosa: o estado da arte**. Documentos, Embrapa Caprinos, Sobral, 2007, 60p.

BARROS, M. S. R. M.; CASTRO, R.S.; TABOSA, J.H.C. et al. Colheita do fluido brônquio-alveolar de bezerros através da traqueocentese transcutânea. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 46, p. 41-49, 1994.

BEECH, J. Technique of traqueobronchial aspiration in horse. **Equine Veterinary Journal**, v. 13, p. 136 –137, 1981.

BELKNAP, E. B. **Enfermidades do Sistema Respiratório**. In: PUGH, D. G. (Ed.). **Clínica de Ovinos e Caprinos**. São Paulo: Roca, 2005. cap. 5, p.119-144.

CHEN, W.; ALLEY, M.R.; MANKTELOW, B.W. et al. Pneumonia in lambs inoculated with Bordetella parapertussis: bronchoalveolar lavage and ultrastructural studies. **Veterinary Pathology**, v. 25, n. 4, p. 297-303, 1988.

DIFFAY, B. C.; MCKENZIE, D.; WOLF, C. et al. Abordagem e Exame de ovinos e caprinos. In: PUGH, D. G. (Ed.). **Clínica de Ovinos e Caprinos**. São Paulo: Roca, 2005. cap. 1, p.1-20.

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

GONÇALVES, R. C.; MATTOS, M.C.F.I.; KUCHEMUCK, M.R.G. et al. Lavagem traqueobrônquica por sondagem nasotraqueal em bezerros. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 56, p. 307-311, 2004.

GOODWIN-RAY, K. A. **Pneumonia and pleurisy in sheep: Studies of prevalence, risk factors, vaccine efficacy and economic impact**. 2006. 227 (Doutorado). Massey University, New Zealand.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Produção Pecuária 2011, 2012. Disponível em: [http://www.ibge.gov.br/home/presidencia/noticias/noticia\\_visualiza.php?id\\_noticia=2241&id\\_pagina=1](http://www.ibge.gov.br/home/presidencia/noticias/noticia_visualiza.php?id_noticia=2241&id_pagina=1). Acessado em 31/01/2013.

LE JAN, C.; EL AZHARY, M.; GALLINA, M. Characterization of cells from the respiratory tract of calves. **Annales de Recherches Vétérinaires**, v. 11, n. 3, p. 301-6, 1980.

MANSMANN, R. A.; KNIGHT, H. D. Transtracheal Aspiration in the Horse. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 160:11, p. 171-179, 1972.

MARCONDES, J. S. **Estudo clínico-citológico em ovinos sadios e portadores de afecções pulmonares de ocorrência natural, utilizando-se o lavado traqueobrônquico como auxílio diagnóstico.** 2007. 148 Mestrado Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Botucatu.

MARCONDES, J. S.; GONÇALVES, R. C. Metodologia de colheita de células do trato respiratório em ovinos sadios através da técnica de lavagem traqueobrônquica por via nasotraqueal. **Ciência Animal Brasileira**, v. 9, p. 418-426, 2008.

MATIAS, B. Apesar de alto nível, rebanho nacional não supre demanda interna. **Agência Sebrae de Notícias**. 2010. Artigo em Hipertexto. Disponível em: <http://www.agenciasebrae.com.br/noticia.kmf?canal=199&cod=9644270>. Acessado em 31/01/2013.

MCNEILLY, T. N.; TENNANT, P.; LUJÁN, L. et al. Differential infection efficiencies of peripheral lung and tracheal tissues in sheep infected with Visna/maedi virus via the respiratory tract. **Journal of General Virology**, v. 88, n. Pt 2, p. 670-9, 2007.

MITCHELL, G. B.; CLARK, M. E.; CASWELL, J. L. Alterations in the bovine bronchoalveolar lavage proteome induced by dexamethasone. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 118, n. 3-4, p. 283-293, 2007.

MORI, E.; FERNANDES, W. R. **Avaliação da função dos macrófagos alveolares após infecção experimental em cavalos (Equus caballus - Linnaeus, 1758) por herpesvírus eqüinos tipo (HVE-1).** 2000. São Paulo.

PECORA, D. V. A method of securing uncontaminated tracheal secretions for bacterial examination. **Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery**, v. 37, p. 653-654, 1959.

PRINGLE, J. K.; VIEL, L.; SHEWEN, P.E. et al. Bronchoalveolar lavage of cranial and caudal lung regions in selected normal calves: cellular, microbiological, immunoglobulin, serological and histological variables. **Canadian Journal Veterinary Research**, v. 52, n. 2, p. 239-48, 1988.

RADOSTITS, O.M.; GAY, C.C.; HINCHCLIFF, K.W. et al. **Veterinary Medicine**. 10<sup>a</sup> ed. W.B. Saunders: Edinburgh, 2007, p.795-798.

ROBINSON, N.E. Função Respiratória. In: CUNNINGHAM, J.G. **Fisiologia Veterinária**. 3<sup>a</sup> ed., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004, cap 49, p. 523-527.

SCOTT, P.R. Treatment and Control of Respiratory Disease in Sheep. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v. 27, p. 175-186, 2011.

SWEENEY, C. R.; BEECH, J. Bronchoalveolar lavage In: BEECH, J. (Ed.). **Equine respiratory disorders**. Pennsylvania Lea & Febiger, 1991. cap. 4, p.55-61.

## 2. CAPÍTULO I - INFLUÊNCIA DE DIFERENTES CONDIÇÕES DE TEMPERATURA E UMIDADE NA CELULARIDADE DO LAVADO TRAQUEOBRÔNQUICO DE OVELHAS HÍGIDAS

### RESUMO

Apesar dos animais estarem expostos diariamente a patógenos, muitos não apresentam problemas respiratórios graças às barreiras existentes. Porém quando expostos a fatores estressantes, esta barreira pode se tornar menos eficaz. Condições ambientais adversas são alguns desses fatores que induzem a liberação de cortisol e interferem principalmente na defesa celular do trato respiratório. O presente artigo teve por objetivo comparar diferentes condições de temperatura e umidade médias com alterações na celularidade pulmonar. Quarenta ovelhas hígidas pertencentes ao LAPOC – UFPR foram submetidas à exame clínico e colheita de lavado traqueobrônquico por via nasotraqueal em quatro momentos: 10°C e 83,9% umidade relativa (UR) (T1), 18,5°C e 78,3% UR (T2), 21°C e 78,9% UR (T3) e 25°C e 68,4% UR (T4). As amostras do lavado foram citocentrifugadas e coradas pelo método May Grunwald-Giemsa. Os valores médios encontrados para T1, T2, T3 e T4 foram, respectivamente: 78,4%, 91,6%, 87,8% e 85,1% de macrófagos; 4,5%, 1,5%, 2,9% e 2,1% de neutrófilos; 2,5%, 3,5%, 3,1% e 4,6% de linfócitos; 12,7%, 1,9%, 4,8% e 7,2% de eosinófilos e; 1,9%, 1,4%, 1,4% e 0,9% de células epiteliais. A contagem total de células foi de 52.750, 59.435, 56.375, 55.380 cel/mL nos quatro momentos supracitados. Percebe-se que houve alteração significativa em T1, na quantidade de macrófagos, neutrófilos e eosinófilos. Conclui-se, portanto, que baixas temperaturas com alta umidade podem ser um fator estressante capaz de interferir na celularidade do lavado traqueobrônquico e, conseqüentemente, predispor a doenças respiratórias.

**Palavras-chave:** células pulmonares, estresse, ovinos, temperatura, umidade.

## 2.1. INFLUENCE OF DIFERENTS TEMPERATURE AND HUMIDITY CONDITIONS IN CELLS OF TRACHEOBRONCHIAL LAVAGE IN HEALTHY SHEEP

### ABSTRACT

Although the animals are exposed daily to pathogens, many do not have respiratory problems due to existing barriers. But when exposed to stressful factors, this barrier can become less effective. Adverse environmental conditions are some of these factors that induce the release of cortisol and interfere mainly in cellular defense of the respiratory tract. The present article aims to compare different temperatures and humidities conditions with changes in lung cellularity. Forty healthy sheep belonging to LAPOC - UFPR were submitted to clinical examination and collection of tracheobronchial lavage by nasotracheal via in four times: 10°C and 83,9% relative humidity (RH) (T1), 18.5°C and 78,3% RH (T2), 21°C and 78,3% RH (T3) and 25°C and 68,4% RH (T4). The samples of the lavage were cytocentrifuged and stained with May Grunwald-Giemsa method. The mean values for T1, T2, T3 and T4 were, respectively: 78.4%, 91.6%, 87.8% and 85.1% for macrophages, 4.5%, 1.5 %, 2.9% and 2.1% for neutrophils, 2.5%, 3.5%, 3.1% and 4.6% lymphocytes, 12.7%, 1.9%, 4.8% and 7.2% for eosinophils and, 1.9%, 1.4%, 1.4% and 0.9% for epithelial cells. The total cell count was 52.750, 59.435, 56.375, 55.380 cells/mL in the four aforementioned moments. It is perceived that there was significant change in T1 in the number of macrophages, neutrophils and eosinophils. It is concluded therefore that lower temperatures with high humidity can be a stressful factor capable of interfere in tracheobronchial lavage cellularity and thus predispose to respiratory disease.

**Key words:** humidity, ovine, pulmonary cells, stress, temperature.

## 2.2. INTRODUÇÃO

As afecções respiratórias podem ser causadas por agentes bacterianos, virais, fúngicos, parasitários, alérgicos e neoplásicos. Estas doenças constituem um dos mais sérios problemas na criação de ovinos causando taxas de mortalidade que variaram de 10% a 40% nos animais adultos e de 17% nos jovens (Marcondes, 2007; Marcondes e Gonçalves, 2008).

Apesar dos animais estarem diariamente em contato com patógenos potencialmente nocivos, a maioria se mantém saudável graças a mecanismos de defesa do organismo. O trato respiratório conta com barreiras física, celular e humoral para impedir a progressão de microorganismos ou substâncias alergizantes (McAdam e Sharpe, 2005), sendo os macrófagos alveolares os principais defensores do trato respiratório inferior (Robinson, 2004). Contudo, fatores estressantes podem interferir na resposta imunológica por meio da liberação de cortisol que promove, além de alterações hematológicas, redução na ativação e poder de fagocitose dos macrófagos alveolares (Baybutt e Holboer, 1990; Robinson, 2004). Sendo assim, situações como estresse térmico, superlotação, transporte (Scott, 2011), além da quantidade de ventos e chuvas predispõem a enfermidades do trato respiratório (Lacasta et al., 2008).

O lavado traqueobrônquico oferece um diagnóstico rápido e com resultados confiáveis de processos inflamatórios e infecciosos do trato respiratório (Marcondes, 2007). E por isso, as secreções traqueobrônquicas estão sendo cada vez mais pesquisadas e associadas ao exame clínico para auxílio diagnóstico, tanto citológico quanto microbiológico das vias aéreas (Marcondes, 2007). Este método diagnóstico é muito utilizado em seres humanos (Simenstad et al., 1962; Polverino e Torres,

2009) e está descrito também em equinos (Larson e Busch, 1985), bovinos (Gonçalves et al., 2004), ovinos (Marcondes e Gonçalves, 2008), cães e gatos (Randolph et al., 1993; Rha e Mahony, 1999).

Com relação aos fatores estressantes, estudos mostram que altas temperaturas ambientais promovem um decréscimo na contagem de macrófagos alveolares no lavado broncoalveolar e supressão da atividade bactericida contra bactérias inaladas em ratos (Yamamoto e Sato, 2002). Isto foi comprovado também em bezerros (Bertagnon et al, 2011). Lacasta et al. (2008) citaram forte correlação entre fatores climáticos, como intensidade e direção de ventos, umidade e temperatura, e a morte de cordeiros por pneumonia.

O objetivo deste trabalho foi avaliar a influência de quatro temperaturas médias e quatro umidades relativas médias em alterações da celularidade pulmonar de ovelhas híbridas por meio do lavado traqueobrônquico.

## **2.3. MATERIAL E MÉTODOS**

O projeto foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais do Setor de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Paraná sob o protocolo nº 022/2011.

### **2.3.1. ANIMAIS**

Foram utilizadas 40 ovelhas em manutenção, mestiças da raça Suffolk, semiconfinadas, com idade variando entre 1 e 3 anos, pertencentes ao Laboratório de Produção de Ovinos e Caprinos (LAPOC) da Universidade Federal do Paraná (UFPR), localizado a latitude 25°25' Sul, longitude 49°8' Oeste e 930 m de altitude, no município de Pinhais, Paraná.



### 2.3.2. MANEJO

Esses animais passavam o dia em pastagem de *Hemarthria altissima*, *Cynodon sp.* e *Panicum maximum* cv Aruana no verão e *Lolium multiflorum* e *Avena sativa* no inverno e eram recolhidos durante a noite em aprisco elevado com boa ventilação. Eram ainda suplementadas com ração peletizada comercial para ovinos durante o ano todo e silagem de milho somente durante o inverno. Sal mineral e água foram oferecidos *ad libitum*.

### 2.3.3. FATORES DE INCLUSÃO

Foi realizado o exame clínico anteriormente a cada colheita para conferir a higidez dos animais por meio dos seguintes parâmetros: frequência cardíaca; frequência, tipos e ruídos respiratórios; presença de secreções nasais; coloração de mucosas oculares e oral e temperatura corporal (Belknap, 2005). Também foi coletado sangue para a realização de hemograma (Birgel, 1982), proteína plasmática total (PPT) e fibrinogênio (Kaneko e Smith, 1967) que foi processado no Laboratório de Patologia Clínica do Hospital Veterinário da Universidade Federal do Paraná.

### 2.3.4. COLHEITA DO LAVADO TRAQUEOBRÔNQUICO

A colheita do lavado foi realizada em quatro momentos com quatro médias de temperatura e umidade e seus respectivos desvios padrão: 10°C ± 4,97 e 83,9% ± 10,17 UR (T1), 18,5°C ± 6,03 e 78,3% ± 14,75 UR (T2), 21°C ± 6,22 e 78,9% ± 5,82 UR (T3) e 25°C ± 6,99 e 68,4% ± 4,54 UR (T4). Estes dados foram resultado da média dos últimos sete dias que antecederam as coletas, obtidas pelo Instituto

Nacional de Meteorologia (INMET). Foram utilizados dez animais em cada momento de coleta. Estes foram contidos fisicamente em posição quadrupedal com a cabeça estendida para alinhar orofaringe e traquéia e foi realizada a limpeza das partes externas das narinas com álcool iodado para antissepsia.



Figura 1: Contenção e coleta do lavado traqueobrônquico.

Para a coleta do lavado traqueobrônquico, uma sonda de silicone de 3 mm de diâmetro foi introduzida por uma das narinas até a glote, onde foram instilados 2 mL de solução de lidocaína na concentração de 2% para facilitar a sua passagem e diminuir o incômodo do animal. A sonda foi direcionada para a traquéia até a região aproximada da carina, pela quantidade de sonda introduzida e ausência de resistência. Uma sonda nasogástrica siliconada longa número 12 estéril foi passada por dentro da sonda externa para que não ocorresse contaminação da mesma por células e secreções do trato respiratório anterior. Seguindo a metodologia proposta

por Gonçalves et al. (2004), com uma seringa de 20 mL acoplada à sonda, foram introduzidos 40 mL de solução salina isotônica comercial estéril e apirogênica aquecida (morna) e retirada imediatamente. Quando necessário, foram adicionados 20 mL para se obter um lavado com quantidade e turbidez satisfatórias e o conjunto de sondas foram removidos.

### 2.3.5. PROCESSAMENTO DAS AMOSTRAS

As amostras de lavado traqueobrônquico foram acondicionadas em caixa térmica com gelo e encaminhadas para o processamento e confecção das lâminas. As mesmas foram homogeneizadas e colocadas em Câmara de Neubauer sem diluição e sem corante para a contagem total de células. Foram utilizados os 9 quadrantes para a leitura e o valor de células encontrado foi multiplicado por 1,1 (fator de correção) fornecendo a quantidade de células por microlitro de lavado, semelhante à técnica descrita para a contagem de leucócitos (Coles, 1984). O valor encontrado foi multiplicado por  $10^3$  para obter o valor em células por mililitro. Para a diferenciação celular, foi realizada a citocentrifugação (LABHO, CT-12) de 1 mL do lavado, com rotação de 74 x G por 6 minutos, para obter um botão celular em lâmina histológica de vidro com uma extremidade fosqueada. As lâminas foram coradas pelo método de May Grunwald-Giemsa após secagem ao ar ambiente e lidas 400 células em zigue-zague da periferia do botão celular para o centro em óleo de imersão com aumento de 1000x para a contagem diferencial (Marcondes e Gonçalves, 2008).

A contagem na Câmara de Neubauer e a coloração das lâminas foram realizadas no Laboratório de Patologia Clínica do Hospital Veterinário da UFPR. A

citocentrifugação foi realizada no setor de Patologia Clínica do Hospital Erasto Gaertner.

#### 2.3.6. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para a análise estatística foi utilizada a análise de variância. O teste de Tukey foi usado para comparar as médias dos exames físicos e lavados traqueobrônquicos das quatro temperaturas utilizando o programa StatView 5.0.1 (SAS Institute Inc., NC, USA).

### 2.4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O exame físico dos animais foi realizado imediatamente antes da coleta do lavado para certificar-se de que os animais fossem sadios. As ovelhas não apresentavam secreção nasal, as mucosas oculares e oral estavam róseas e o tipo e auscultação respiratória permaneceram dentro dos parâmetros normais (Belknap, 2005). A frequência média de batimentos cardíacos mensurados foi de 92bpm, 78bpm, 80bpm e 86bpm para os grupos T1, T2, T3 e T4, respectivamente, se mantiveram dentro dos parâmetros normais (Belknap, 2005) e não foram observadas diferenças estatísticas ( $p > 0,05$ ). A temperatura retal, apesar de apresentar diferença estatística ( $p < 0,05$ ), se manteve dentro dos valores normais com 39,3°C, 39,1°C, 38,5°C e 38,9°C para os quatro momentos supracitados, respectivamente.

A frequência respiratória, contudo permaneceu alta em todas as aferições, sendo significativamente mais elevada quanto maior a temperatura ambiente ( $p < 0,05$ ), sendo 33, 39, 39 e 51mov/min, respectivamente para T1, T2, T3 e T4. Os

valores de frequência cardíaca, frequência respiratória e temperatura retal estão descritas na figura 2.

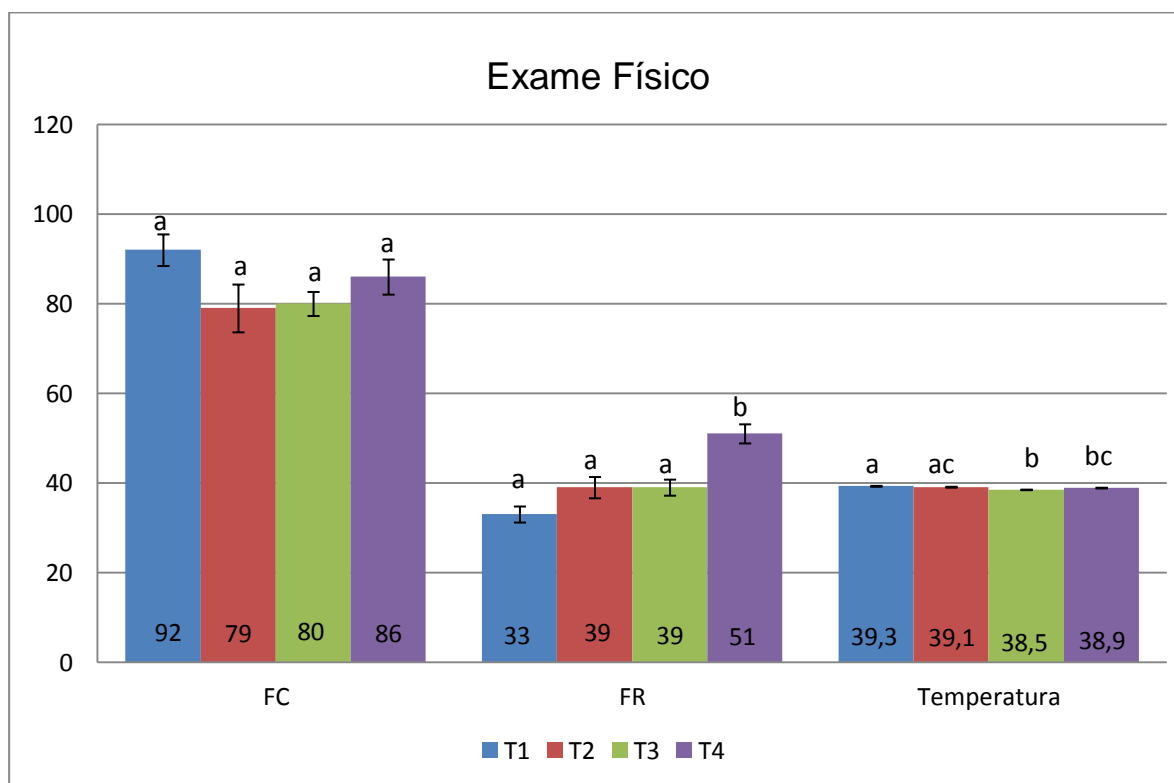


Figura 2: Médias das frequência cardíaca (FC), frequência respiratória (FR) e temperatura retal (T) antes de cada coleta do lavado traqueobrônquico com seus respectivos erros padrão.

\*T1: 10°C, 83,9% UR; T2: 18,5°C, 78,3% UR; T3: 21°C, 78,3% UR; T4: 25°C, 68,4% UR.

\*Letras diferentes no mesmo parâmetro indicam significância estatística pelo Teste Tukey ( $p < 0,05$ ).

O fato da frequência respiratória ter se mantido alta pode ser atribuído ao estresse da contenção (Stöber, 1993). Porém, Barbosa et al. (2001) e Veríssimo (2009) verificaram que ovinos lanados apresentam naturalmente a frequência respiratória mais elevada que ovinos deslanados, fato este que se intensifica no calor. No verão os animais utilizam o aumento da frequência respiratória como forma de perda de calor para manter a homeotermia, o que corrobora os achados desta pesquisa.

Além do exame físico, foram obtidos valores de hemograma, proteína plasmática total e fibrinogênio para confirmar a higidez dos animais pertencentes ao experimento. Os dados obtidos permaneceram dentro dos parâmetros para a espécie (Weiss e Wardrop, 2010), conforme as tabelas 1 e 2.

Tabela 1: Eritrograma com erro padrão dos animais pertencentes ao experimento realizado antes dos lavados traqueobrônquicos em quatro momentos

<b>Eritrograma</b>	<b>T1</b>	<b>T2</b>	<b>T3</b>	<b>T4</b>
<b>Eritrócitos (<math>10^6/\mu\text{L}</math>)</b>	10,22 ± 0,2a	10,47 ± 0,35 <sup>a</sup>	10,78 ± 0,32a	8,42 ± 0,26b
<b>Hematócrito (%)</b>	29,5 ± 0,6a	31,00 ± 0,86ab	28 ± 0,57ac	32 ± 0,72ab
<b>Hemoglobina (g/dL)</b>	9,08 ± 0,1a	10,47 ± 0,37b	9,52 ± 0,2ab	10 ± 0,3b
<b>VGM (<math>\mu\text{m}^3</math>)</b>	28,63 ± 0,4a	29,23 ± 0,43 <sup>a</sup>	30,57 ± 0,39a	41 ± 0,92b
<b>CHGM (%)</b>	31,11 ± 0,27a	34,29 ± 0,43b	29 ± 0,18c	30 ± 0,42c

\*T1: 10°C, 83,9% UR; T2: 18,5°C, 78,3% UR; T3: 21°C, 78,3% UR; T4: 25°C, 68,4% UR.

\*Letras diferentes na mesma linha indicam significância estatística pelo teste Tukey ( $p < 0,05$ ).

Tabela 2: Leucograma, proteína plasmática total, fibrinogênio e respectivos erros padrão dos animais pertencentes ao experimento realizado antes dos lavados traqueobrônquicos em quatro momentos.

<b>Leucograma (cel/<math>\mu\text{L}</math>)</b>	<b>T1</b>	<b>T2</b>	<b>T3</b>	<b>T4</b>
<b>Leucócitos totais</b>	9398 ± 961,8a	9743 ± 853,4ab	10270 ± 937,38ab	6340 ± 643,46ac
<b>Bastonetes</b>	12 ± 12,2a	8 ± 8,48a	21 ± 13,98a	30,3 ± 13,12a
<b>Linfócitos</b>	4482 ± 465,4a	5847 ± 424,3ab	4940 ± 514,87abc	3784 ± 570,26ac
<b>Basófilos</b>	19 ± 12,8a	10 ± 10,48a	0 ± 0a	14,9 ± 11,05a
<b>Neutrófilos</b>	3614 ± 451,9a	2722 ± 368,59ac	4160 ± 438,93acd	1848 ± 235,95bce
<b>Monócitos</b>	342 ± 55,4a	635 ± 122,68b	359 ± 50,12abc	279 ± 34,58ac
<b>Eosinófilos</b>	929 ± 156,7a	521 ± 154,95ac	790 ± 105,54ac	385 ± 75,33bc
<b>PPT (g/L)</b>	6,39 ± 0,1a	6,68 ± 0,12ac	7,31 ± 0,14bd	6,86 ± 0,12bcd
<b>Fibrinogênio (mg/dL)</b>	430 ± 76,1a	140 ± 42,69b	280 ± 61,1ab	380 ± 75,72ab

\*T1: 10°C, 83,9% UR; T2: 18,5°C, 78,3% UR; T3: 21°C, 78,3% UR; T4: 25°C, 68,4% UR.

\*Letras diferentes na mesma linha indicam significância estatística pelo teste Tukey ( $p < 0,05$ ).

Para a coleta do lavado traqueobrônquico foi utilizada uma sonda externa para que não houvesse contaminação com sujidades e células do trato respiratório anterior que pudessem influenciar nos achados do lavado, assim como descrito por Gonçalves et al. (2004). Com o intuito de coletar-se amostras representativas dos

pulmões como um todo, a coleta foi realizada na bifurcação da traquéia, não havendo a limitação da lavagem broncoalveolar às cegas que coleta células de uma parte específica do pulmão (Sweeney e Beech, 1991).

Assim como citado por Marcondes e Gonçalves (2008), o lavado foi aparentemente bem tolerado em ovinos, pois os animais se mantiveram calmos e não houve complicações após a colheita do lavado; pouco traumático; forneceu material adequado para o estudo citológico e possuiu alta representatividade da celularidade presente no espaço traqueobrônquico. A célula predominante foi o macrófago, semelhante ao achado na literatura (Fernandes et al., 2000; Gonçalves et al., 2004). Os valores das células presentes no lavado traqueobrônquico nas quatro condições médias ambientais estão descritos na tabela 3. O volume médio recuperado dos lavados foi de 5 mL nos momentos T1, T2 e T3 e de 7 mL em T4.

Tabela 3: Contagem total de células e porcentagem da contagem diferencial com respectivos erros padrão da celularidade encontrada no lavado traqueobrônquico em quatro momentos (contagem em 400 células)

<b>Celularidade</b>	<b>T1</b>	<b>T2</b>	<b>T3</b>	<b>T4</b>
<b>Contagem Total (cel/mL)</b>	52.750 ± 6370,5a	59.435 ± 9008,48a	56.375 ± 7232,38a	55.380 ± 8546,33a
<b>Macrófagos (%)</b>	78,4 ± 3,79a	91,6 ± 1,16b	87,8 ± 2,11ab	85,1 ± 4,10ab
<b>Neutrófilos (%)</b>	4,5 ± 0,78a	1,5 ± 0,73b	2,9 ± 0,58ab	2,1 ± 0,37ab
<b>Linfócitos (%)</b>	2,5 ± 0,8a	3,5 ± 0,7 <sup>a</sup>	3,1 ± 0,57a	4,6 ± 1,14a
<b>Eosinófilos (%)</b>	12,7 ± 4,11a	1,9 ± 0,71b	4,8 ± 1,65ab	7,2 ± 3,48ab
<b>Células Epiteliais (%)</b>	1,9 ± 0,45a	1,4 ± 0,50 <sup>a</sup>	1,4 ± 0,35a	0,9 ± 0,21a

\*T1: 10°C, 83,9% UR; T2: 18,5°C, 78,3% UR; T3: 21°C, 78,3% UR; T4: 25°C, 68,4% UR.

\*Letras diferentes indicam significância estatística pelo Teste Tukey (p<0,05).

A média da contagem total de células encontradas no lavado traqueobrônquico variou de 52.750 a 59.435 cel/mL dentre os momentos pesquisados, sem diferença estatística significativa (p>0,05). Esses valores são

semelhantes aos encontrados por Marcondes et al. (2011) e Marcondes e Gonçalves (2008) em ovinos sadios.

Quanto a contagem diferencial das células, foram encontrados em maior quantidade os macrófagos, variando de 78,4% a 91,6%, nos momentos T1 e T2, respectivamente, entre os quais houve diferença estatística ( $p < 0,05$ ). A literatura mostra grande variação da porcentagem encontrada de macrófagos: Gonçalves et al. (2004) citaram 77,2% em bezerros de 1 a 6 meses, Katsoulos et al. (2009) encontraram 83,74% em ovinos em manejo extensivo com coleta do lavado por endoscopia e Sheehan et al. (2005) relataram 81,1% em ovinos em vários tipos de manejos e idades.

Os macrófagos auxiliam na defesa do sistema respiratório posterior, porém situações de estresse podem interferir nessas funções. A liberação de cortisol reduz a ativação dos macrófagos e seu poder de fagocitose reduzindo também a sua quantidade nos pulmões (Robinson, 2004). Alguns autores verificaram que altas temperaturas agem como fator estressante reduzindo a quantidade de macrófagos nos pulmões predispondo assim os animais a enfermidades respiratórias (Yamamoto e Sato, 2002; Bertagnon et al., 2011). Foi observado neste trabalho que somente a temperatura ambiental de 10°C juntamente com umidade relativa de 83,9% interferiram significativamente na quantidade de macrófagos. Porém, diferente do encontrado na literatura, a temperatura de 25°C com a umidade de 68,4% não promoveram alterações significativas com relação a porcentagem de macrófagos, possivelmente por esta temperatura não ser alta o suficiente. Segundo Lacasta et al. (2008), baixas temperaturas (0 a 10°C), altas temperaturas (25 a 35°C) e épocas chuvosas tem alta correlação com a incidência de pneumonias em



cordeiros. Pode-se inferir que os fatores estressantes facilitaram a incidência de pneumonia por falha na imunidade, e foi encontrado no presente trabalho em T1 a redução significativa na quantidade de macrófagos o facilita a ocorrência de afecções.

As células epiteliais cilíndricas ciliadas foram encontradas em pequenas quantidades em todos os momentos, não apresentando diferença estatística ( $p>0,05$ ). As médias variaram de 0,9 a 1,9%, sendo estes os valores encontrados em T1 e T4. Na literatura pesquisada os valores são superiores aos encontrados, variando de 5 a 15% (Fernandes et al., 2000; Gonçalves et al., 2004; Sheehan et al., 2005; Marcondes e Gonçalves, 2008; Katsoulos et al., 2009; Marcondes et al., 2011). Porém, Benesi et al. (2012) encontraram valores mais baixos de células epiteliais em bezerros de um mês de vida, que variaram de 0 a 0,9%. A pequena quantidade de células epiteliais no lavado indica uma maior integridade das vias aéreas, pois seu maior número aparece em colheitas com endoscópios. Estas células também aparecem em infecções virais ou em um processo inflamatório exacerbado (Viel e Hewson, 2003; Lessa et al., 2007).

Com relação aos neutrófilos, a maior média (4,5%) foi encontrada em T1, diferindo estatisticamente da menor média (1,5%) encontrada em T2 ( $p<0,05$ ). Os valores intermédios de 2,9% e 2,1% foram obtidos nos momentos T3 e T4, respectivamente. Todas as porcentagens encontradas foram abaixo daquelas obtidas por outros autores, que citaram desde 6% em bezerros, 8,9% em equinos e uma variação de 5,66 a 20% em ovinos (Fernandes et al., 2000; Gonçalves et al., 2004; Sheehan et al., 2005; Marcondes e Gonçalves, 2008; Katsoulos et al., 2009; Marcondes et al., 2011). Provavelmente esta ampla margem de valores se dê pelo

tipo de manejo dos animais, pois as celularidades mais baixas correspondem a animais soltos, ou seja, expostos a uma menor quantidade de alérgenos e microorganismos.

Os ovinos podem ser mantidos em ambientes fechados no caso de manejo intensivo, portanto, é possível que isso aumente a quantidade de neutrófilos nos lavados. Diferentemente do presente trabalho, onde os animais pertenciam a um sistema semi-extensivo, os valores se aproximaram dos encontrados em bezerros (Gonçalves et al., 2004), em equinos (Fernandes et al., 2000) e em ovinos soltos a pasto (Katsoulos et al., 2009; Sheehan et al., 2005). Apesar disso, houve um aumento significativo na média de neutrófilos ( $p < 0,05$ ) em T1 com relação a T2, podendo ser causado pela diminuição do número de macrófagos nesses animais resultante do estresse causado pela baixa temperatura e alta umidade.

A média das porcentagens dos linfócitos variou de 2,5% a 4,6% dentre os momentos coletados, sem diferença estatística ( $p > 0,05$ ). Estas médias estão dentro dos valores de referência encontrados na literatura que variam de 0 a 10% (Fernandes et al., 2000; Gonçalves et al., 2004; Sheehan et al., 2005; Marcondes e Gonçalves, 2008; Katsoulos et al., 2009; Marcondes et al., 2011).

As médias de eosinófilos encontradas foram: 12,7%, 1,9%, 4,8% e 7,2% para T1, T2, T3 e T4, respectivamente. Em grande parte da literatura pesquisada a quantidade de eosinófilos é mínima de aproximadamente 1% (Fernandes et al., 2000; Gonçalves et al., 2004; Sheehan et al., 2005; Marcondes e Gonçalves, 2008; Katsoulos et al., 2009; Marcondes et al., 2011), e é provável que o número elevado visto nos extremos climáticos seja indicativo de uma resposta a doenças parasitárias (Sheehan et al., 2005) ou alérgicas (Snibson et al., 2005). Segundo Weiss e

Wardrop (2010) a magnitude da resposta eosinofílica é resultado da resistência imunológica a parasitas. Além disso, a migração destas células como resposta ao parasitismo ocorre principalmente para o trato gastrintestinal e pulmões (Weiss e Wardrop, 2010), o que pode ter causado esse aumento do número de eosinófilos.

Além disso, esta resposta pode ter sido causada pela ocorrência de migração parasitária. O *Strongyloides papillosus* é um parasito de intestino delgado comum em ruminantes que podem atingir os pulmões. Se a larva infectante penetrar ativamente a pele, e não ser ingerida, atinge a corrente sanguínea chegando aos pulmões e alvéolos. As larvas seguem para traqueia, esôfago, estômago e intestino delgado onde ocorre a maturação sexual (Braga, 1995, Vieira, 2009).

Pode-se observar no presente trabalho, que a baixa temperatura ambiental aliada à alta umidade provocaram alterações na população de células do lavado traqueobrônquico. Assim como achado por Yamamoto e Sato (2002) e Bertagnon et al. (2011), o estresse térmico causa a redução da contagem de macrófagos devido a liberação de cortisol. Apesar de não ter sido mensurado o cortisol plasmático, pode-se inferir que T1 causou estresse nos animais pela redução das células de defesa do trato respiratório e alteração no exame físico. Na literatura pesquisada foram encontradas alterações de celularidade em altas temperaturas (Yamamoto e Sato, 2002; Bertagnon et al., 2011) e aumento da incidência de pneumonia em criações de cordeiros em épocas chuvosas, alta e baixas temperaturas (Lacasta et al., 2008). No presente trabalho, o momento T1 provocou alterações na população de células pulmonares e que em T4 não houve diferença estatística, provavelmente porque somente a alta temperatura (25°C) não foi suficiente para provocar as mesmas alterações.

## **2.5. CONCLUSÃO**

Conclui-se, que altas temperaturas com baixa umidade podem ser capazes de interferir na celularidade pulmonar, verificada por meio do lavado traqueobrônquico. A principal alteração celular refere-se à quantidade de macrófagos, cuja diminuição dos mesmos pode tornar os animais mais susceptíveis a enfermidades respiratórias.

## 2.6. REFERÊNCIAS

BARBOSA, O.R.; MACEDO, F.A.F.; GROES, R.V. et al. Zoneamento bioclimático da ovinocultura no estado do Paraná. **Revista Brasileira de Zootecnia**. v. 30, p 454-460, 2001.

BAYBUTT, H.N.; HOLSBOER, F. Inhibition of macrophage differentiation and function by cortisol. **Endocrinology**. v. 127, n. 1, p. 476-480, 1990.

BELKNAP, E.B. Enfermidades do Sistema Respiratório. In: PUGH, D.G. **Clínica de Ovinos e Caprinos**. São Paulo: Roca, cap. 5, p.119-144, 2005.

BERTAGNON, H.G.; ESPER, G.V.Z; EMANUELLI, M.P. et al. Influência meteorológica no leucograma e na população citológica do trato respiratório de bezerros. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v. 31, n.3, p.244-246, 2011.

BENESI, F.J.; WACHHOLZ, L.; BERTAGNON, H.G. et al. Citologia dos lavados traqueobrônquico (LTB) e broncoalveolar (LBA) de bezerros holandeses sadios durante o primeiro mês de vida. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v. 32, n.3, p. 267-270, 2012.

BIRGEL, E.H. Hematologia clínica veterinária. In: BIRGEL, E.H.; BENESI, F.J. **Patologia Clínica Veterinária**. São Paulo, Sociedade Paulista de Medicina Veterinária, 1982, p. 2-34.

BRAGA, M.M. **Observações clínicas, laboratoriais e anatomopatológicas em bezerros desmamados submetidos à hiperinfecção experimental por *Strongyloides papillosus*** (Doutorado). Universidade Rural do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 1995.

COLES, E.H. **Patologia Clínica Veterinária**. 3ª ed.. Manole, São Paulo, 1984, 566p.

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

GONÇALVES, R.C.; MATTOS, M.C.F.I.; KUCHEMUCK, M.R.G. et al. Lavagem traqueobrônquica por sondagem nasotraqueal em bezerros. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 56, p. 307-311, 2004.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Produção Pecuária 2011, 2012. Disponível em: [http://www.ibge.gov.br/home/presidencia/noticias/noticia\\_visualiza.php?id\\_noticia=2241&id\\_pagina=1](http://www.ibge.gov.br/home/presidencia/noticias/noticia_visualiza.php?id_noticia=2241&id_pagina=1). Acessado em 31/01/2013.

KANEKO, J.J.; SMITH, R. The estimation of plasma fibrinogen and its clinical significance in the dog. **California Veterinarian**, v. 21, n. 4, p. 21-24. 1967.

KATSOULOS, P.D.; CHRISTODOULOPOULOS, G.; KONTOPIDIS, G. et al. Leukocyte counts in bronchoalveolar lavage fluid obtained from normal and Maedi-Visna-infected sheep. **Veterinary Clinical Pathology**, v. 38, n. 3, p. 397-402, 2009.

LACASTA, D.; FERRER, L.M.; RAMOS, J.J. et al. Influence of climatic factors on the development of pneumonia in lambs. **Small Ruminant Research**, v.80, p. 28-32, 2008.

LARSON, V.L.; BUSCH, R.H. Equine tracheobronchial lavage: comparison of lavage cytologic and pulmonary histopathologic findings. **American Journal of Veterinary Research**, v. 46, n. 1, p. 144-6, 1985.

LESSA, D.A.B.; MORI, E.; VIANA, E.B. et al. Lavado broncoalveolar em eqüinos: revisão de literatura parte 2: achados citológicos. **Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da UNIPAR**, v.10, n. 1, p. 31-38, 2007.

MARCONDES, J.S. **Estudo clínico-citológico em ovinos sadios e portadores de afecções pulmonares de ocorrência natural, utilizando-se o lavado traqueobrônquico como auxílio diagnóstico** (Mestrado). Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Botucatu, 2007.

MARCONDES, J.S.; GONÇALVES, R.C. Metodologia de colheita de células do trato respiratório em ovinos sadios através da técnica de lavagem traqueobrônquica por via nasotraqueal. **Ciência Animal Brasileira**. v. 9, p. 418-426, 2008.

MARCONDES, J.S.; MARTINS, M.T.A.; SILVA, A.A. et al. Lavado traqueobrônquico por via nasotraqueal como metodologia de colheita de células do trato respiratório de ovinos sadios e portadores de afecções pulmonares. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 31, p. 281-186, 2011.

MCADAM A.J., SHARPE A.H. Doenças infecciosas. In: ROBBINS S.L; COLTRAN, R.S. **Patologia - Bases patológicas das doenças**. 7ª ed., Rio de Janeiro: Elsevier, 2005, p. 367-368.

POLVERINO, E.; TORRES, A. Diagnostic strategies for healthcare-associated pneumonia. **Seminars in Respiratory and Critical Care Medicine**, v. 30, n. 1, p. 36-45, 2009.

RANDOLPH, J.F.; MOISE, N.S.; SCARLETT, J.M. et al. Prevalence of mycoplasmal and ureaplasma recovery from tracheobronchial lavages and prevalence of mycoplasmal recovery from pharyngeal swab specimens in dogs with or without pulmonary disease. **American Journal of Veterinary Research**, v. 54, n. 3, p. 387-91, 1993.

RHA, J.Y.; MAHONY, O. Bronchoscopy in small animal medicine: indications, instrumentation, and techniques. **Clinical Techniques in Small Animal Practice**, v. 14, n. 4, p. 207-12, 1999.

ROBINSON, N.E. Função Respiratória. In: CUNNINGHAM, J.G. **Fisiologia Veterinária**. 3ª ed., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004, cap 49, p. 523-527.

SCOTT, P.R. Treatment and Control of Respiratory Disease in Sheep. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v. 27, p. 175-186, 2011.

SHEEHAN, M.; MARKEY, B.; CASSIDY, J. et al. New transtracheal bronchoalveolar lavage technique for the diagnosis of respiratory disease in sheep. **Veterinary Record**. v. 157, p. 309-313, 2005.

SIMENSTAD, J.O.; GALWAY, C.F.; MACLEAN, L.D. Tracheobronchial lavage for treatment of aspiration and atelectasis. **Surgical Forum**, v. 13, p. 155-7, 1962.

SNIBSON, K.J.; BISCHOF, R.J.; SLOCOMBE, R.F. et al. Airway remodelling and inflammation in sheep lungs after chronic airway challenge with house dust mite. **Clinic and Experimental Allergy**, v. 35, p. 146-152, 2005.

STÖBER, M. Aparelho Respiratório. In: ROSENBERGER **Exame Clínico dos Bovinos**, 3º ed, 1993, p.139-165.

SWEENEY, C.R.; BEECH, J. Bronchoalveolar lavage In: BEECH, J. (Ed.). **Equine respiratory disorders**. Pennsylvania Lea & Febiger, 1991, cap. 4, p.55-61.

VERÍSSIMO, C.J. Tolerância ao calor em ovelhas lanadas e deslanadas, em Nova Odessa, Estado de São Paulo. 2009. Artigo em Hipertexto. Disponível em: [http://www.infobibos.com/Artigos/2009\\_3/Ovinos/index.htm](http://www.infobibos.com/Artigos/2009_3/Ovinos/index.htm), Acesso em 15/05/2012.

WEISS, D.J.; WARDROP, K.J. **Schalm's Veterinary Hematology**. 6ª ed., Wiley-Blackwell, 2010, 1206 p.

VIEIRA, L.S.; CHAGAS, A.C.S.; MOLENTO, M.B. Nematoides gastrintestinais e pulmonares de caprinos. In: CAVALCANTE, A.C.R.; VIEIRA, L.S.; CHAGAS, A.C.S.; MOLENTO, M.B. **Doenças parasitárias de caprinos e ovinos epidemiologia e controle**. Brasília: EMBRAPA, cap. 2, p.63-94, 2009.

VIEL, L.; HEWSON, J. Bronchoalveolar lavage. In.: ROBINSON, N.E. **Current Therapy in Equine Medicine**, 5 ed., St. Louis: Saunders, 2003, p.407-411.

YAMAMOTO, S.; SATO, K. The effect of high temperature on alveolar macrophage counts in bronchoalveolar lavage fluid of F344 rats. **Experimental Animals**, v. 51, n.5, p. 505-508, 2002.

### 3. CAPÍTULO II – INFLUÊNCIA DE DIFERENTES CONDIÇÕES DE TEMPERATURA E UMIDADE NA CELULARIDADE PULMONAR POR MEIO DO LAVADO TRAQUEOBRÔNQUICO EM CABRAS SADIAS

#### RESUMO

As afecções respiratórias causam grandes prejuízos econômicos em criações de caprinos. Por isso, o presente artigo visou comparar diferentes condições de temperaturas e umidades na população de células pulmonares em caprinos do estado do Paraná com uma metodologia adaptada para a colheita do material traqueobrônquico por via nasotraqueal. Vinte e seis caprinos hígidos pertencentes ao LAPOC-UFPR foram submetidos à colheita de lavado traqueobrônquico por via nasotraqueal em dois momentos (T1: 17,8°C e 78% UR e T2: 25°C e 68,4% UR). Os animais foram contidos em posição quadrupedal com a cabeça estendida e uma sonda externa com sonda interna foi passada por uma das narinas até a região da carina para a colheita do lavado. As amostras foram citocentrifugadas e coradas pelo método May Grunwald-Giemsa. A contagem total média de células foi 65.321 e 54.833 cel/mL em T1 e T2, respectivamente. As porcentagens médias em T1 de macrófagos, células epiteliais ciliadas, linfócitos, eosinófilos e neutrófilos foram: 85,1%, 4,8%, 2,1%, 5,0% e 2,8%, respectivamente. E as porcentagens médias em T2 foram de 84,6%, 5,8%, 5,2%, 0,9% e 3,2%, respectivamente para as células supracitadas. Houve somente diferença estatística entre os valores de linfócitos, porém sem importância clínica. Esses valores poderão ser utilizados como valores de referência e facilitarão a interpretação da celularidade pulmonar encontrada nesta espécie.

**Palavras-chave:** Caprinos, citologia, secreção traqueobrônquica, valores de referência.



### 3.1. INFLUENCE OF DIFERENTS TEMPERATURE AND HUMIDITY CONDITIONS IN PULMONARY CELLS BY TRACHEBRONCHEAL LAVAGE IN HEALTHY GOATS

#### ABSTRACT

Respiratory diseases cause major economic losses in goat creations. Therefore, the aim of this article was to compare different temperatures and humidities conditions with changes in lung cells population of healthy goats in the state of Paraná with an adapt methodology to harvest the tracheobronchial material via nasotracheal. Twenty-six healthy goats belonging to LAPOC-UFPR were submitted to tracheobronchial lavage gathering by nasotracheal via in two times (T1: 17,8°C e 78% RH e T2: 25°C e 68,4% RH). The animals were restrained in standing position with the neck stretched and an external probe with a smaller probe was guide till the region of the carina to collect the lavage. The samples were cytocentrifuged and stained with May Grunwald-Giemsa. The total cell count was 65.321 e 54.833 cells/mL em T1 e T2, respectively. The mean percentages of macrophages, ciliated epithelial cells, lymphocytes, eosinophils and neutrophils in T1 were 85,1%, 4,8%, 2,1%, 5,0% e 2,8%, respectively. And the mean percentages in T2 were 84,6%, 5,8%, 5,2%, 0,9% e 3,2%, for the aforementioned cells. There was only significant difference between lymphocytes values but without clinical importance. These values can be used as reference values and will help with the interpretation of pulmonary cellularity found in this species.

**Key words:** caprine, citology, tracheobronchial secretions, reference values.

### 3.2. INTRODUÇÃO

Segundo dados do IBGE (2011), o rebanho caprino brasileiro conta com cerca de nove milhões de animais, concentrados principalmente no nordeste e cresce basicamente com a produção de leite e venda de seus subprodutos (Carvalho, 2011). A evolução da produção de caprinos e seus derivados gerou expectativas de demandas quanto ao uso de tecnologias e sistemas de produção eficientes. Este progresso visa o bem estar animal e ambiental, saúde animal e a qualidade dos alimentos. Porém, a produção tem sido afetada pela ocorrência de doenças (Alves et al., 2007).

As doenças pulmonares causam grandes perdas econômicas em criações por quedas na produção e aumento do custo com medicações e atendimentos veterinários. Os patógenos mais comuns do trato respiratório de caprinos são: *Mannheimia haemolytica*, *Mycoplasma mycoides*, *Mycoplasma capricolum*, *Mycobacterium bovis* e *Corynebacterium pseudotuberculosis* (Damassa et al., 1992, Zamri-Saad e Mera, 2001, Belknap, 2005, Alves et al., 2007, Andrade et al., 2012, Melo et al., 2012), além do parasita pulmonar *Dictyocaulus filaria* (Scott, 2011).

Para que as afecções respiratórias sejam diagnosticadas precocemente e tratadas corretamente, é imprescindível que seja realizada uma anamnese adequada, além de exame físico completo contemplando inspeção, palpação, percussão, auscultação e olfação (Belknap, 2005). Somente o exame físico não é suficiente para chegar-se a um diagnóstico de afecções pulmonares. Por isso, o clínico veterinário conta com outros métodos diagnósticos, como ultrassonografia e radiografia, além de cultura e citologia de secreções do aparelho respiratório. As secreções podem ser obtidas por meio de swab nasal, endoscopia para colheita de

secreção traqueal, lavados traqueobrônquicos e broncoalveolares (Berrag et al., 1997, Gonçalves et al., 2004, Belknap, 2005, Goodwin-Ray, 2006). Contudo, grande parte dos animais pertencem a pequenos produtores (Andrade et al., 2012) e é necessário que o diagnóstico seja realizado de maneira eficaz e com baixo custo.

Para tanto, o lavado traqueobrônquico é utilizado por oferecer um diagnóstico rápido e com resultados confiáveis de infecções do trato respiratório (Marcondes, 2007). Estas secreções estão sendo cada vez mais pesquisadas e associadas ao exame clínico para auxílio diagnóstico, tanto citológico quanto microbiológico das vias aéreas (Marcondes, 2007). Este método diagnóstico é muito utilizado e bem estabelecido em seres humanos (Simenstad et al., 1962; Polverino e Torres, 2009), equinos (Larson e Busch, 1985), bovinos (Gonçalves et al., 2004), ovinos (Marcondes e Gonçalves, 2008), cães e gatos (Randolph et al., 1993; Rha e Mahony, 1999).

Alguns fatores que causem estresse como transporte, superlotação e estresse térmico podem alterar a população de células pulmonares por meio da liberação de cortisol (Robinson, 2004). Foi verificado que altas temperaturas promoveram um decréscimo na contagem de macrófagos e supressão da atividade bactericida destas células em ratos (Yamamoto e Sato, 2002) e em bezerros (Bertagnon et al., 2011). Além de altas temperaturas, baixas temperaturas, períodos de chuvas e intensidade e direção de ventos predispõe o aparecimento de pneumonia em cordeiros (Lacasta et al., 2008).

Com relação a valores de parâmetros normais da celularidade pulmonar de caprinos hígidos, há somente uma referência (Berrag et al., 1997). Isto torna a

literatura escassa, o que dificulta a interpretação de valores encontrados em animais com enfermidades respiratórias e torna a análise menos fidedigna.

Devido aos prejuízos causados por afecções respiratórias nesses animais, o presente artigo visou comparar diferentes condições de temperatura e umidade com os efeitos em relação a celularidade do espaço traqueobrônquico em caprinos hígidos no estado do Paraná. E para isso foi realizada uma adaptação da metodologia utilizada em bovinos e ovinos com o objetivo de se obter uma técnica rápida, de baixo custo e eficaz na obtenção do material traqueobrônquico para pesquisa citológica.

### **3.3. MATERIAL E MÉTODOS**

O projeto foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais do Setor de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Paraná sob o protocolo nº 022/2011.

#### **3.3.1. ANIMAIS**

Foram utilizadas 26 cabras em manutenção, mestiças da raça Boer, semiconfinadas, com idade variando entre um ano e meio e dois anos, pertencentes ao Laboratório de Produção de Ovinos e Caprinos (LAPOC) da Universidade Federal do Paraná localizado a latitude 25°25' Sul, longitude 49°8' Oeste e 930 m de altitude, no município de Pinhais, Paraná. Os animais permaneceram dentro dos parâmetros de referência (Belknap, 2005) quanto à frequência cardíaca, frequência respiratória, temperatura retal e coloração de mucosas. Nenhum animal apresentava

secreções nasais, reflexo de tosse ou alteração da ausculta pulmonar, nem sinais de doenças.

### 3.3.2. MANEJO

Esses animais passavam o dia em pastagem de *Hemarthria altissima*, *Paspalum notatum* cv. pensacola no verão e *Lolium multiflorum* e *Avena sativa* no inverno e eram recolhidos durante a noite em capril elevado com boa ventilação. Eram ainda suplementadas com ração peletizada comercial para caprinos o ano todo e silagem de milho durante o inverno. Sal mineral e água eram oferecidos *ad libitum*.

### 3.3.3. COLETA DO LAVADO TRAQUEOBRÔNQUICO

A coleta do lavado foi realizada em dois momentos: temperatura média de  $17,8^{\circ}\text{C} \pm 6$  e  $78\% \pm 15$  de umidade relativa média do ar (T1) e temperatura média de  $25^{\circ}\text{C} \pm 6,99$  e  $68,4\% \pm 4,54$  de umidade relativa média do ar (T2). Estes dados foram resultado da média dos últimos sete dias que antecederam as coletas, obtidas pelo Instituto Nacional de Meteorologia (INMET). No momento T1 foram utilizados 14 animais e no momento T2, 12 animais contemplando as 26 cabras. O lavado traqueobrônquico por via nasotraqueal foi uma adaptação da metodologia proposta por Gonçalves et al. (2004) realizada em bovinos. Os animais foram contidos fisicamente em posição quadrupedal e foi realizada a limpeza do vestíbulo nasal com álcool iodado para antissepsia. A cabeça foi colocada em posição de

aproximadamente 180° com o pescoço para alinhar a orofaringe com a traquéia. Uma sonda de silicone com 60 cm de comprimento e 3 mm de diâmetro foi introduzida por uma das narinas até a glote, onde foram instilados 2 mL de solução de lidocaína a 2% para facilitar a passagem da sonda e diminuir o incômodo do animal. A sonda foi direcionada para a traquéia até a região aproximada da carina, e a sua correta posição nas vias aéreas foi evidenciada pelos meneios de cabeça, a presença de tosse, a quantidade da sonda inserida e ausência de resistência. Uma sonda nasogástrica siliconada longa (100 cm) número 12 estéril foi passada por dentro da sonda externa para que não ocorresse contaminação da mesma por células e secreções do trato respiratório anterior. Após a fixação manual das sondas, com uma seringa de 20 mL acoplada, foram introduzidos 40 mL de solução salina isotônica comercial estéril e apirogênica aquecida (morna) e retiradas imediatamente. Quando necessário, foram adicionados 20 mL para se obter um lavado com quantidade e turbidez satisfatórias, e o conjunto de sondas foi retirado.



Figura 3: Contenção e coleta do lavado traqueobrônquico.

### 3.3.4. PROCESSAMENTO DAS AMOSTRAS

As amostras de lavado traqueobrônquico foram acondicionadas em caixa térmica com gelo e encaminhadas para o processamento e confecção das lâminas.

As amostras foram homogeneizadas e colocadas em Câmara de Neubauer sem diluição e sem corante para a contagem total de células. Foram utilizados os nove quadrantes para a leitura e o valor de células encontrado foi multiplicado por 1,1 (fator de correção) fornecendo a quantidade de células por microlitro de lavado, semelhante à técnica descrita para a contagem de leucócitos (Coles, 1984). O valor encontrado foi multiplicado por  $10^3$  para obter o valor em células por mililitro. Para a diferenciação celular, foi realizada a citocentrifugação (LABHO, CT-12) de 1 mL do lavado, com rotação de 74 x G por 6 minutos, para obter um botão celular em lâmina histológica de vidro com uma extremidade fosqueada.

As lâminas foram coradas pelo método de May Grunwald-Giemsa após secagem ao ar ambiente e lidas 400 células em zigue-zague da periferia para o centro do botão celular em óleo de imersão com aumento de 1000x para a contagem diferencial (Marcondes e Gonçalves, 2008). Foram avaliadas a porcentagem de macrófagos, neutrófilos, linfócitos, células epiteliais ciliadas e eosinófilos.

A contagem na Câmara de Neubauer e a coloração das lâminas foram realizadas no Laboratório de Patologia Clínica do Hospital Veterinário da UFPR e a citocentrifugação, no setor de Patologia Clínica do Hospital Erasto Gaertner.

### 3.3.5. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para a análise estatística foi utilizado o Teste T não pareado para comparar as médias dos dois momentos em que foram coletados o lavado traqueobrônquico utilizando o programa StatView 5.0.1 (SAS Institute Inc., NC, USA).

## 3.4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A metodologia de colheita do lavado traqueobrônquico foi eficiente para caprinos, assim como relatado em ovinos (Marcondes e Gonçalves, 2008). Apesar dos animais serem agitados, não houve necessidade de contenção química. O procedimento foi bem tolerado pelos animais, pois se mantiveram quietos e não causou complicações após as colheitas, e se demonstrou um método rápido e de baixo custo para verificar a celularidade do espaço traqueobrônquico. Assim como descrito por Gonçalves et al. (2004), a sonda externa foi utilizada para que não houvesse contaminação do lavado com sujidades ou células do trato respiratório anterior. A colheita foi representativa da região traqueobrônquica, na qual demonstra o pulmão como um todo (Sweeney e Beech, 1991) e não limitado a uma parte específica do órgão. Teve como célula predominante o macrófago, conforme encontrado na literatura (Fernandes et al., 2000; Gonçalves et al., 2004). O valor da contagem total e a porcentagem das células encontradas no diferencial estão descritos na Tabela 4. O volume médio recuperado nos lavados traqueobrônquicos foi de 4,8 mL em T1 e de 7mL em T2.

O número total de células nucleadas encontradas no momento T1 foi de  $65.321 \pm 16.892$  cel/mL e de  $54.833 \pm 13.065$  cel/ml em T2 sem diferença estatística entre os momentos ( $p > 0,05$ ). Esse valor foi semelhante ao encontrado em ovinos



sadios por Marcondes e Gonçalves (2008). Porém acima do valor encontrado por Berrag et al. (1997), 28.700 cel/mL, em caprinos saudáveis.

Tabela 4: Porcentagem, desvio padrão e valor de p da celularidade encontrada no lavado traqueobrônquico (contagem em 400 células).

<b>Celularidade</b>	<b>T1</b>	<b>T2</b>	<b>p</b>
<b>Contagem total (cel/ml)</b>	65.321 ± 16.892	54.833 ± 13.065	0,09
<b>Macrófagos (%)</b>	85,1 ± 8,77	84,6 ± 7,01	0,88
<b>Células Epiteliais (%)</b>	4,8 ± 2,52	5,8 ± 4,23	0,46
<b>Linfócitos (%)</b>	2,1 ± 1,52	5,2 ± 3,65	0,01*
<b>Eosinófilos (%)</b>	5,0 ± 7,44	0,9 ± 1,58	0,07
<b>Neutrófilos (%)</b>	2,8 ± 2,72	3,3 ± 2,52	0,67

\*Valor com diferença estatística ( $p < 0,05$ )

No presente trabalho foi encontrado predomínio de macrófagos com valores semelhantes ( $p > 0,05$ ) em T1 e T2 com, respectivamente, 85,1% e 84,6% de células (Figura 4). O macrófago é uma importante linha de defesa contra microorganismos ou sujidades que entrem em contato com os pulmões (Markham e Wilkie, 1980). Segundo citado na literatura, o predomínio desta célula indica que o lavado possui representatividade de células das partes distais do pulmão, pois são encontrados nessa proporção somente em lavados traqueobrônquicos ou broncoalveolares (Derksen et al., 1989; Zinkl, 2002). O valor encontrado no presente trabalho é semelhante aos citados por vários autores. Berrag et al. (1997) encontraram uma variação de 80 a 95% de macrófagos em lavados broncoalveolares de caprinos hígidos. Gonçalves et al. (2004) mencionaram a porcentagem de 77,2% de macrófagos em bezerros de 1 a 6 meses. Fernandes et al. (2000) verificaram 81,52% em equinos em colheita por via transtraqueal. E em ovinos, Katsoulos et al. (2009) encontraram 83,74% em ovinos em manejo extensivo com colheita do lavado

por endoscopia e Sheehan et al. (2005) relataram 81,1% em ovinos em vários tipos de manejos e idades.

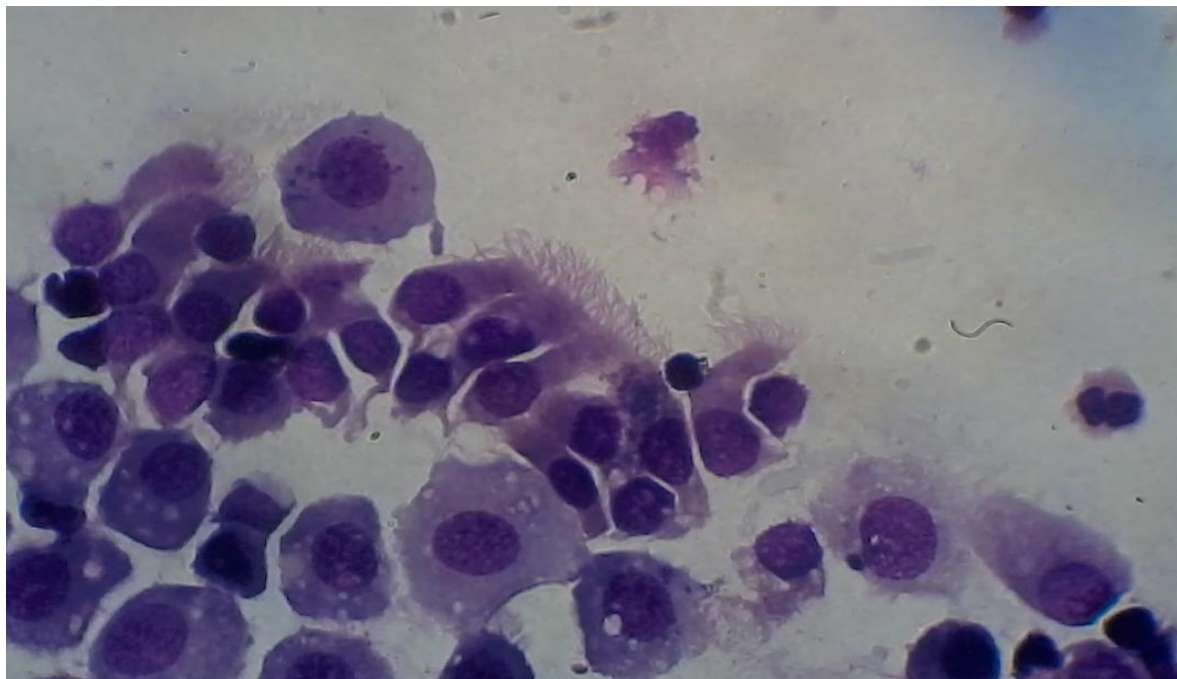


Figura 4: Lâmina do lavado traqueobrônquico com presença de macrófagos e células epiteliais ciliadas.

As células epiteliais ciliadas foram o segundo grupo em maior número, com 4,8% e 5,8% nos dois momentos, sem diferença estatística ( $p > 0,05$ ). Esse valor foi semelhante ao encontrado por Fernandes et al. (2000) com 5,51% de células epiteliais em equinos. Na literatura são citados valores superiores em bovinos, 14,9%, e em ovinos, 15% e 15,35% (Gonçalves et al., 2004; Marcondes e Gonçalves, 2008; Marcondes et al., 2011) e valores mais baixos que variaram de 0 a 0,9% em bezerros de um mês de vida (Benesi et al., 2012) e 1% em caprinos hípidos com 6 meses de vida (Berrag et al., 1997).

As médias das porcentagens de linfócitos encontrados diferiram estatisticamente entre T1 e T2 com valores de 2,1% e 5,2%, respectivamente. Porém, este valor está de acordo com o encontrado na literatura pesquisada para

outras espécies, que varia de 0 a 10% (Fernandes et al., 2000, Gonçalves et al., 2004, Sheehan et al., 2005, Marcondes e Gonçalves, 2008, Katsoulos et al., 2009, Marcondes et al., 2011, Benesi et al., 2012). Somente Berrag et al. (1997) encontraram valores bem maiores em caprinos hígidos se comparados com os valores dos autores supracitados, com uma variação de 19 a 30%.

As porcentagens de eosinófilos nos caprinos não apresentaram diferença estatística ( $p>0,05$ ), com valores de 5,0% e 0,9% para T1 e T2, respectivamente. Na maioria da literatura pesquisada, a quantidade de eosinófilos é mínima, alcançando o máximo de 1% (Berrag et al., 1997, Fernandes et al., 2000, Gonçalves et al., 2004, Sheehan et al., 2005, Marcondes e Gonçalves, 2008, Katsoulos et al., 2009, Marcondes et al., 2011, Benesi et al., 2012). Provavelmente, a quantidade encontrada no momento T1 do presente trabalho com grande variação ( $5,0\% \pm 7,44$ ) seja indicativo de uma resposta a doenças parasitárias (Sheehan et al., 2005) ou alérgicas (Snibson et al., 2005). A migração destas células como resposta ao parasitismo ocorre principalmente para o trato gastrintestinal e pulmões (Weiss e Wardrop, 2010). E a migração pulmonar do parasito gastrintestinal *Strongyloides papillosus* também pode ter causado a eosinofilia pulmonar verificada (Braga, 1995, Vieira, 2009).

Os valores de neutrófilos encontrados no presente estudo representam o grupo de menor média, com 2,8% em T1 e 3,2% em T2 ( $p>0,05$ ), um valor baixo quando comparado àqueles obtidos por outros autores. A literatura cita 6% em bezerros, 8,9% em equinos e em ovinos varia de 5,66 a 20% (Fernandes et al., 2000; Gonçalves et al., 2004; Sheehan et al., 2005; Marcondes e Gonçalves, 2008; Katsoulos et al., 2009; Marcondes et al., 2011). Porém o valor encontrado no

presente estudo corrobora o valor encontrado por Berrag et al. (1997) em caprinos hígidos, que varia de 1 a 5%. Provavelmente esta ampla margem de valores se dê pelo tipo de manejo dos animais. Quando os animais se encontram em ambientes, fechados pelo manejo intensivo, são mais expostos à patógenos. Na presente pesquisa, os caprinos pertenciam a um sistema semi-extensivo e os valores se aproximaram dos encontrados em bezerros (Gonçalves et al., 2004), em equinos (Fernandes et al., 2000) e em ovinos soltos a pasto (Katsoulos et al., 2009; Sheehan et al., 2005).

Não houve diferença estatística na maioria dos valores encontrados, somente nas porcentagens de linfócitos que, apesar disto, permanece entre os valores encontrados na literatura. Na tabela 5 estão reunidos os valores dos momentos T1 e T2 apresentando-se o intervalo, média, mediana e desvio padrão para cada um dos tipos celulares encontrados.

A população de células pulmonares descrita pode ser utilizada como valores de referência para que próximas análises de celularidade pulmonar sejam mais fidedignas.

Tabela 5: Intervalo, média, mediana e desvio padrão da celularidade encontrada no lavado traqueobrônquico (contagem em 400 células).

<b>Celularidade</b>	<b>Intervalo</b>	<b>Média</b>	<b>Mediana</b>	<b>Desvio Padrão</b>
<b>Contagem total (cel/mL)</b>	40.000 – 90.000	60.481	56.000	15.872
<b>Macrófagos (%)</b>	77,2 – 94	84,9	85,5	7,86
<b>Células Epiteliais (%)</b>	1 - 13	5,3	4,8	3,39
<b>Linfócitos (%)</b>	0,5 – 11,7	3,6	2,8	3,09
<b>Eosinófilos (%)</b>	0 – 10,2	3,1	0,7	5,86
<b>Neutrófilos (%)</b>	0 - 9	3	2,1	2,59

### **3.5. CONCLUSÃO**

Conclui-se, que não houve interferência significativa da temperatura e umidade na celularidade pulmonar em caprinos hígidos. Os valores encontrados podem ser utilizados como referência para a espécie no estado do Paraná e poderão auxiliar o clínico na interpretação de valores da celularidade pulmonar encontrados em animais com afecções ou em pesquisas com inoculação de patógenos específicos.

A metodologia utilizada para obtenção do lavado traqueobrônquico foi eficiente em caprinos, pois houve representatividade da população de células do trato respiratório posterior. A técnica pareceu causar pouco desconforto nos animais e não houve a necessidade do uso de sedativos e apresenta baixo custo como método diagnóstico.

### 3.6. REFERÊNCIAS

ALVES, F.S.F.; SANTIAGO, L.B.; PINHEIRO, R.R. Linfadenite caseosa: o estado da arte. Documentos, **Embrapa Caprinos**, Sobral, 2007, 60p.

ANDRADE, J.S.L.A.; AZEVEDO, S.S.; TELES, J.A.A. et al. Ocorrência e fatores de risco associados à infecção por *Corynebacterium pseudotuberculosis* em caprinos e ovinos do semiárido paraibano. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v. 32, n. 2, p. 116-120, 2012.

BELKNAP, E.B. Enfermidades do Sistema Respiratório. In: PUGH, D. G. **Clínica de Ovinos e Caprinos**. São Paulo: Roca, cap. 5, p.119-144, 2005.

BENESI, F.J.; WACHHOLZ, L.; BERTAGNON, H.G. et al. Citologia dos lavados traqueobrônquico (LTB) e broncoalveolar (LBA) de bezerros holandeses sadios durante o primeiro mês de vida. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v. 32, n.3, p. 267-270, 2012.

BERRAG, B.; RHALEM, A.; SAHIBI, H. et al. Bronchoalveolar cellular responses of goats following infections with *Muellerius capillaris* (Protostrongylidae, Nematoda). **Veterinary Immunology and Immunopathology**. v. 58, p. 77-88, 1997.

BERTAGNON, H.G.; ESPER, G.V.Z.; EMANUELLI, M.P. et al. Influência meteorológica no leucograma e na população citológica do trato respiratório de bezerros. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v. 31, n.3, p.244-246, 2011.

BRAGA, M.M. **Observações clínicas, laboratoriais e anatomopatológicas em bezerros desmamados submetidos à hiperinfecção experimental por *Strongyloides papillosus*** (Doutorado). Universidade Rural do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 1995.

CARVALHO, R.B. Potencialidades dos mercados para os produtos derivados de caprinos e ovinos. 2011. Artigo em Hipertexto. Disponível em: <http://www.capritec.com.br/art040521.htm>. Acessado em 31/01/2013.

COLES, E.H. **Patologia Clínica Veterinária**. 3ª ed. Manole, São Paulo, 1984, 566p.

DAMASSA, A.J.; WAKENELL, P.S.; BROOKS, D.L. Mycoplasma of goats and sheep. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v.4, p.101-103, 1992.

DERKSEN, F.J.; BROWN, C.M.; SONEA, I. et al. 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. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 52, p. 604-609, 2000.

GOODWIN-RAY, K. A. **Pneumonia and pleurisy in sheep: Studies of prevalence, risk factors, vaccine efficacy and economic impact** (Doutorado). Massey University, New Zealand, 2006.

GONÇALVES, R.C.; MATTOS, M.C.F.I.; KUCHEMUCK, M.R.G. et al. Lavagem traqueobrônquica por sondagem nasotraqueal em bezerros. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 56, p. 307-311, 2004.

KATSOULOS, P.D.; CHRISTODOULOPOULOS, G.; KONTOPIDIS, G. et al. Leukocyte counts in bronchoalveolar lavage fluid obtained from normal and Maedi-Visna-infected sheep. **Veterinary Clinical Pathology**, v. 38, n. Bronchoalveolar lavage cytology in sheep, p. 397-402, 2009.

LACASTA, D.; FERRER, L.M.; RAMOS, J.J. et al. Influence of climatic factors on the development of pneumonia in lambs. **Small Ruminant Research**, v.80, p. 28-32, 2008.

LARSON, V.L.; BUSCH, R.H. Equine tracheobronchial lavage: comparison of lavage cytologic and pulmonary histopathologic findings. **American Journal of Veterinary Research**, v. 46, n. 1, p. 144-6, 1985.

MARCONDES, J.S. **Estudo clínico-citológico em ovinos sadios e portadores de afecções pulmonares de ocorrência natural, utilizando-se o lavado traqueobrônquico como auxílio diagnóstico** (Mestrado). Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Botucatu, 2007.

MARCONDES, J.S.; GONÇALVES, R.C. Metodologia de colheita de células do trato respiratório em ovinos sadios através da técnica de lavagem traqueobrônquica por via nasotraqueal. **Ciência Animal Brasileira**, v. 9, p. 418-426, 2008.

MARCONDES, J.S.; MARTINS, M.T.A.; SILVA, A.A. et al. Lavado traqueobrônquico por via nasotraqueal como metodologia de colheita de células do trato respiratório de ovinos sadios e portadores de afecções pulmonares. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 31, p. 281-186, 2011.

MARKHAM, R.J.F., WILKIE, B.N. Interaction between *Pasteurella haemolytica* and bovine alveolar macrophages: cytotoxic effect on macrophages and impaired phagocytosis. **American Journal of Veterinary Research**, v. 41, p. 18-22, 1980.

MELO, L.E.H.; MOTA, R.A.; MAIA, F.C.L. et al. Ocorrência e caracterização da tuberculose em caprinos leiteiros criados no estado de Pernambuco. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v. 32, n.9, p. 831-837, 2012.

POLVERINO, E.; TORRES, A. Diagnostic strategies for healthcare-associated pneumonia. **Seminars in Respiratory and Critical Care Medicine**, v. 30, n. 1, p. 36-45, 2009.

RANDOLPH, J.F.; MOISE, N.S.; SCARLETT, J.M. et al. Prevalence of mycoplasmal and ureaplasma recovery from tracheobronchial lavages and prevalence of mycoplasmal recovery from pharyngeal swab specimens in dogs with or without pulmonary disease. **American Journal of Veterinary Research**, v. 54, n. 3, p. 387-91, 1993.

RHA, J.Y.; MAHONY, O. Bronchoscopy in small animal medicine: indications, instrumentation, and techniques. **Clinical Techniques in Small Animal Practice**, v. 14, n. 4, p. 207-12, 1999.

ROBINSON, N.E. Função Respiratória. In: CUNNINGHAM, J.G. **Fisiologia Veterinária**. 3ª ed., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004, cap 49, p. 523-527.

SCOTT, P.R. Treatment and Control of Respiratory Disease in Sheep. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v. 27, p. 175-186, 2011.

SIMENSTAD, J.O.; GALWAY, C.F.; MACLEAN, L.D. Tracheobronchial lavage for treatment of aspiration and atelectasis. **Surgical Forum**, v. 13, p. 155-7, 1962.

SHEEHAN, M.; MARKEY, B.; CASSIDY, J. et al. New transtracheal bronchoalveolar lavage technique for the diagnosis of respiratory disease in sheep. **Veterinary Record**. v. 157, p. 309-313, 2005.

SNIBSON, K.J.; BISCHOF, R.J.; SLOCOMBE, R.F. et al. Airway remodelling and inflammation in sheep lungs after chronic airway challenge with house dust mite. **Clinic and Experimental Allergy**, v. 35, p. 146-152, 2005.

SWEENEY, C.R.; BEECH, J. Bronchoalveolar lavage In: BEECH, J. (Ed.). **Equine respiratory disorders**. Pennsylvania Lea & Febiger, 1991, cap. 4, p.55-61.

WEISS, D.J.; WARDROP, K.J. **Schalm's Veterinary Hematology**. 6ª ed., Wiley-Blackwell, 2010, 1206 p.

VIEIRA, L.S.; CHAGAS, A.C.S.; MOLENTO, M.B. Nematoides gastrintestinais e pulmonares de caprinos. In: CAVALCANTE, A.C.R.; VIEIRA, L.S.; CHAGAS, A.C.S.; MOLENTO, M.B. **Doenças parasitárias de caprinos e ovinos epidemiologia e controle**. Brasília: EMBRAPA, cap. 2, p.63-94, 2009.

VIEL, L.; HEWSON, J. Bronchoalveolar lavage. In.: ROBINSON, N.E. **Current Therapy in Equine Medicine**, 5 ed., St. Louis: Saunders, 2003, p.407-411.

ZAMRI-SAAD, M.; MERA, H.R. The Effect of *Pasteurella haemolytica* A2 infection on phagocytosis efficiency of caprine broncho-alveolar macrophages. **Journal of Veterinary Medicine**, v. 48, p. 513-518, 2001.

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



YAMAMOTO, S.; SATO, K. The effect of high temperature on alveolar macrophage counts in bronchoalveolar lavage fluid of F344 rats. **Experimental Animals**, v. 51, n.5, p. 505-508, 2002.

#### 4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O lavado traqueobrônquico vem sendo utilizado como diagnóstico em vários casos de afecções respiratórias tanto de modo citológico como microbiológico. É usado em várias espécies e utilizado em pesquisas com o intuito de se estudar as respostas do sistema imunológico pulmonar contra patógenos.

Porém, algumas perguntas ainda estão pouco elucidadas, como por exemplo, a interferência de fatores ambientais na resposta pulmonar. Foi visto na presente pesquisa que a temperatura e a umidade relativa do ar foram fatores capazes de causar estresse nos animais e, por conseguinte, promover alterações na população de células do pulmão. Uma das células alteradas em quantidade foram os macrófagos, com a diminuição do seu número. Como esta célula é importante na defesa dos pulmões, isso resulta em imunossupressão do animal e consequente predisposição a doenças. Além disso, pode aumentar a susceptibilidade de infecção por parasitas, aumentando a resposta eosinofílica tecidual dos animais.

Apesar do lavado traqueobrônquico ser bastante utilizado em várias espécies, em caprinos a literatura é escassa. Isto dificulta uma avaliação fidedigna de valores encontrados em animais com enfermidades respiratórias. Por isso, neste trabalho não foi observada influência de temperatura e umidade na população de células dos pulmões. Porém os valores encontrados podem ser utilizados como parâmetros normais da celularidade pulmonar de caprinos no estado do Paraná.

**SILVA, T.G. Celularidade pulmonar: influência das condições de temperatura e umidade em ovinos e caprinos com o uso do lavado traqueobrônquico. 2013, 58f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2013.**