

**PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO PARANÁ  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E AMBIENTAIS  
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO *STRICTO SENSU*  
NÍVEL DE MESTRADO EM CIÊNCIA ANIMAL**

**BRUNA DZYEKANSKI**

**ACHADOS DE EXAME FÍSICO, ENDOSCÓPICO E CITOLÓGICOS DE  
LAVADO TRAQUEAL E BRONCOALVEOLAR DE EQUINOS COM E  
SEM TOSSE**

*(Findings of physical examination, airway endoscopy, bronchoalveolar and tracheal wash fluids cytology of horses with and without cough)*

**SÃO JOSÉ DOS PINHAIS**

**2012**

**BRUNA DZYEKANSKI**

**ACHADOS DE EXAME FÍSICO, ENDOSCÓPICO E CITOLÓGICO DE  
LAVADO TRAQUEAL E BRONCOALVEOLAR DE EQUINOS COM E  
SEM TOSSE**

*(Findings of physical examination, airway endoscopy, bronchoalveolar and tracheal wash fluids cytology of horses with and without cough)*

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal. Área de concentração: Saúde Animal, Clínica e Cirurgia, Escola de Ciências Agrárias e Medicina Veterinária da Pontifícia Universidade Católica do Paraná, para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal.

Orientador: Prof. Dr. Pedro Vicente Michelotto Junior.

**SÃO JOSÉ DOS PINHAIS**

**2012**

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço ao professor Doutor Pedro Michelotto Junior, pela disponibilidade na orientação deste trabalho, pelos conselhos e esclarecimentos científicos, revisão crítica dos textos, além da exigência, sem a qual não seria possível a realização do mesmo.

Aos graduandos Daniel C. Coatti Roch e Sandra R. Pepicelli Almeida pelo apoio, parceria e dedicação na realização dos exames e estudos científicos.

À professora Doutora Cláudia Turra Pimpão, a qual, sempre esteve disponível, mesmo dispondo de tantas outras orientações.

Ao professor Doutor Luiz Ernandes Kozicki, o qual foi diretor do Mestrado em Ciência Animal, além de ter fornecido muitas contribuições à realização desta dissertação. À Professora Doutora Cristina Santos Sotomaior, quem assumiu a diretoria do curso e continuou com tamanha dedicação e disponibilidade aos alunos.

Agradeço ainda à professora Doutora Andressa Silveira pelos conselhos e apoio sempre que solicitado.

Aos meus pais Nivaldo e Eliane, pelo apoio, confiança e amor incondicional, que tornaram minha trajetória mais suave e feliz. Às minhas irmãs, pelo carinho, companhia e entusiasmo. Além dos outros familiares que torceram e acompanharam esta conquista, mesmo não podendo estar sempre por perto.

Agradeço ainda às minha amigas de faculdade, por sempre me apoiarem e suportarem os momentos de dificuldade.

Aos amigos residentes do Hospital Veterinário da UNIFEQB, pela amizade sólida apesar de recente, pela compreensão nas minhas ausências, pelas risadas e por tudo que estão me ensinando.

Agradeço a todos que, de uma forma ou de outra, contribuíram para esta conquista. E a todos os cavalos do mundo, por tanto me ensinarem e me lembrarem de que este é apenas o começo.

Por fim, a Deus, por tornar tudo possível.

## SUMÁRIO

<b>RESUMO.....</b>	<b>8</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>9</b>
<b>CAPÍTULO 1.....</b>	<b>10</b>
<b>1 INTRODUÇÃO.....</b>	<b>12</b>
1.1 TOSSE.....	12
1.2 DOENÇA INFLAMATÓRIA DE VIAS AÉREAS.....	13
1.2.1 Epidemiologia.....	14
1.2.2 Etiologia.....	15
1.2.3 Patofisiologia.....	16
1.2.4 Sinais Clínicos da DIVA.....	17
1.3 OBSTRUÇÃO RECORRENTE DE VIAS AÉREAS.....	19
1.3.1 Epidemiologia.....	19
1.3.2 Etiologia.....	20
1.3.3 Patofisiologia.....	20
1.3.4 Sinais Clínicos da ORVA.....	21
1.4 DIAGNÓSTICO DA DIVA E ORVA.....	23
1.4.1 Histórico e Sinais Clínicos.....	23
1.4.2 Exame Físico.....	24
1.4.3 Exame Endoscópico.....	24
1.4.4 Lavado Traqueal (LT).....	25
1.4.5 Lavado Broncoalveolar (LBA).....	26
1.4.6 Teste de Função Pulmonar.....	28
<b>2 REFERÊNCIAS.....</b>	<b>29</b>
<b>CAPÍTULO 2.....</b>	<b>36</b>
<b>1 INTRODUÇÃO.....</b>	<b>39</b>
<b>2 MATERIAIS E MÉTODOS.....</b>	<b>40</b>
2.1 ANIMAIS.....	40
2.2 HISTÓRIA.....	41
2.3 EXAME FÍSICO.....	41
2.4 EXAME ENDOSCÓPICO E LAVADO TRAQUEAL (LT).....	42
2.5 LAVADO BRONCOALVEOLAR (LBA).....	42
2.6 ANÁLISES ESTATÍSTICAS.....	43
<b>3 RESULTADOS.....</b>	<b>44</b>

3.1 ANIMAIS E EXAME FÍSICO .....	44
3.2 EXAME ENDOSCÓPICO E LAVADO TRAQUEAL (LT).....	45
3.3 LAVADO BRONCOALVEOLAR (LBA).....	46
<b>4 DISCUSSÃO .....</b>	<b>48</b>
<b>5 CONCLUSÃO .....</b>	<b>52</b>
<b>6 REFERÊNCIAS .....</b>	<b>53</b>

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Graduação de muco traqueal equino via exame endoscópico.....	25
Figura 2 - Graduação de muco traqueal equino via exame endoscópico.....	<u>25</u>

## LISTA DE TABELAS

**Tabela 1** - Resultados (médias  $\pm$  desvio padrão da média) dos principais tipos celulares encontrados nas avaliações citológicas de lavado traqueal (LT) de cavalos com tosse (grupo GT), e saudáveis (grupo GST).....45

**Tabela 2** - Resultados (médias  $\pm$  desvio padrão da média) dos principais tipos celulares encontrados nas avaliações citológicas de lavado broncoalveolar (LBA) de cavalos com tosse (grupo GT) e saudáveis (grupo GST).....46

## LISTA DE QUADROS

<b>QUADRO 1</b> – Valores de referência para achados de citologia de lavado broncoalveolar (LBA) em cavalos de diferentes idades.....	27
---	----

## RESUMO

**Objetivo:** O presente estudo visou avaliar, em âmbito ambulatorial e laboratorial clínico, a comparação entre cavalos com e sem tosse. **Hipótese:** A hipótese levantada é que cavalos com tosse apresentam inflamação em vias aéreas. **Material e Métodos:** Para isto, foram avaliados 50 equinos, 16 fêmeas e 34 machos, entre 2 e 16 anos de idade, de diversas raças, com peso corporal variando entre 410 e 500 kg. Destes, 36 cavalos, foram avaliados por apresentarem tosse e constituíram o grupo Tosse (GT), enquanto 14 animais clinicamente saudáveis foram avaliados concomitantemente e formaram o grupo Sem Tosse (GST), para o qual considerou-se como fator de exclusão qualquer sinal sugestivo de qualquer manifestação clínica. Para cada cavalo obteve-se histórico e se realizou exame físico. Em seguida, os animais foram tranquilizados com acepromazina (0,03 mg/kg, IM) e após 30 minutos, xilazina (0,3 mg/kg, IV) e, procedeu-se à avaliação endoscópica das vias aéreas até a bifurcação da traqueia. A presença de muco traqueal foi graduada de 0 a 5. Com o endoscópio posicionado próximo à carina, foi realizado o lavado traqueal (LT) utilizando um tubo de polietileno introduzido pelo canal de trabalho do aparelho e instilando-se 30 mL de solução fisiológica de cloreto de sódio 0,9% estéril, aspirada em seguida e levada imediatamente para o laboratório, centrifugada a 340g por seis minutos e o *pellet* obtido foi usado para a confecção das lâminas, coradas pela técnica de Romanowski, onde 300 células contadas no aumento de 1000X. Após, procedeu-se o lavado broncoalveolar (LBA) utilizando-se uma sonda própria para LBA de equinos, introduzida via nasotraqueal até se alojar em um brônquio e 300 mL de solução fisiológica de cloreto de sódio 0,9% estéril, pré-aquecida a 37°C foram infundidos em alíquotas de 120 mL, aspirando-se após cada alíquota e dispensando-se o LBA recolhido em frascos plásticos estéreis, repetindo-se o procedimento até completar o volume total. No laboratório, o processamento foi o mesmo do LT. **Resultados:** Com relação ao histórico, 31 dos cavalos do GT eram mantidos em cocheiras enquanto que cinco ficavam a campo. No exame físico, a frequência respiratória de 14 cavalos do GT esteve acima do limite considerado para cavalos normais (20 movimentos/min) contra nenhum do GST ( $p = 0,030$ ). Doze (33,3%) cavalos do GT apresentaram alteração em auscultação pulmonar (crepitação e/ou sibilos) em relação a um (7,1%) no GST ( $p = 0,05$ ). Na avaliação endoscópica, os graus de muco traqueal não diferiram entre os grupos ( $2,8 \pm 1,3$  vs.  $2,0 \pm 1,0$ ,  $p = 0,057$ ), apesar de graus 4 e 5 terem sido observados somente no grupo T. No LT, o GT apresentou porcentual de neutrófilos significativamente maior ( $44,8 \pm 30,0\%$  vs.  $19,5 \pm 22,9\%$ ,  $p = 0,003$ ) e o porcentual de células epiteliais menor em relação ao grupo C ( $11,8 \pm 16,1\%$  vs.  $31,8 \pm 25\%$ ,  $p = 0,003$ ). No LBA, o porcentual médio de linfócitos foi significativamente menor ( $26,5 \pm 17,0\%$  vs.  $48,8 \pm 14,7\%$ ,  $p = 0,017$ ), enquanto que o de neutrófilos foi maior ( $30,6 \pm 27,6\%$  vs.  $5,0 \pm 4,2\%$ ,  $P < 0,004$ ) no GT em relação ao GST. LT e LBA coincidiram em 78,6% das avaliações. No presente estudo, sugerimos o valor de neutrófilos para o LT de cavalos normais como 24%, sendo que o LBA dos cavalos resultou normal e houve correlação positiva entre neutrofilia em LT ( $>24\%$ ) e em LBA (considerando  $>5\%$   $p = 0,003$ ,  $r = 0,4412$  ou  $>10\%$   $p = 0,038$   $r = 0,3221$ ). Escores elevados de muco traqueal ( $>2$  ou  $>3$ ) correlacionaram com neutrofilia em LT ( $p > 0,05$ ), mas não em LBA. **Conclusão:** Cavalos com tosse têm inflamação em vias aéreas em nível traqueobrônquico e pulmonar e o exame físico e endoscópico, combinados com as técnicas citológicas do lavado traqueal e broncoalveolar, resultam em diagnóstico mais preciso.

**Palavras-chave:** Cavalos; Endoscopia; Inflamação pulmonar; Neutrófilo.

## ABSTRACT

**Objective:** The present study aimed to evaluate horses with and without cough, on an outpatient basis and clinical laboratory. **Hypothesis:** The hypothesis is that horses with cough have airway inflammation. **Material and Methods:** For this, there were 50 horses, 16 females and 34 males, between 2 and 16 year-old, of different breeds, ranging from 410 to 500 kg of body weight. Of these, 36 horses were evaluated because of cough embracing the Cough group (GT), while 14 healthy horses were evaluated concomitantly embracing the Control group (GST), for which it was considered as an exclusion factor any sign suggestive of a disease. History was obtained and physical examination was performed. Then, the animals were sedated with acepromazine (0.03 mg / kg IM) and after 30 minutes, xylazine (0.3 mg / kg, IV) for the airways endoscopic examination. Tracheal mucus score was graded 0-5. With the endoscope positioned near the carina, tracheal wash (TW) was proceeded using a polyethylene tube inserted through the working channel of the apparatus and instilling 30mL of a sterile solution of 0.9% sodium chloride, immediately aspirated. TW was centrifuged at 340 g for 6 min for slides preparation, stained by Romanowski for differential cytology counting 300 cells. Bronchoalveolar lavage (BAL) was proceeded using an equine BAL catheter blindly introduced via nasotracheal up to a bronchus and 300 mL pre-warmed sterile 0.9% sodium chloride were infused, immediately aspirated and dispensed in sterile plastic bottles. In the laboratory, the recovered BAL was processed in the same way as TW. **Results:** With respect to history, 31 horses of Co group were maintained in stables while five of them lived in pasture conditions. On physical examination, respiratory rate of 14 horses of the GT group were above the limit considered for normal horses (20 movements/min) versus none in GST group ( $p = 0.030$ ). Twelve (33.3%) horses in GT group had abnormal lung sounds (crackles and/or wheezing) versus one (7.1%) horse in the GST group ( $p = 0.05$ ). Endoscopic mucus grade did not differ between groups ( $2.8 \pm 1.3$  vs.  $2.0 \pm 1.0$ ,  $p = 0.057$ ) although grades 4 and 5 were detected only in GT group. Concerning to the TW, the GT group showed significantly higher percentage of neutrophils ( $44.8 \pm 30.0\%$  vs.  $19.5 \pm 22.9\%$ ,  $p = 0.003$ ) while the percentage of epithelial cells was significantly lower, in comparison with GST group ( $11.1 \pm 8\%$  vs.  $31.8 \pm 25\%$ ,  $p = 0.003$ ). Concerning to the BAL, the average percentage of lymphocytes was significantly lower ( $26.5 \pm 17.0\%$  vs.  $48.8 \pm 14.7\%$ ,  $p = 0.017$ ), whereas that of neutrophils was higher ( $30.6 \pm 27.0\%$  vs.  $6.5 \pm 4.2\%$ ,  $p < 0.004$ ) in the GT group in comparison with GST group. TW and BAL coincided in 78.6% of evaluations. In the present study we suggest as 24% the percentage of neutrophils of TW of normal horses as horses' BAL fluid cytology were normal and resulting in a positive correlation between TW ( $> 24\%$ ) and BAL neutrophilia (considering BAL neutrophil count  $> 5\%$   $p = 0.003$ ,  $r = 0.4412$  or  $> 10\%$   $p = 0.038$   $r = 0.3221$ ). Increased mucus grades ( $>2$  ou  $>3$ ) correlated with TW neutrophilia ( $p > 0.05$ ) but not with BAL neutrophilia. **Conclusion:** Horses with cough present airway inflammation in tracheobronchial and pulmonary level and physical examination and endoscopic evaluation, together with tracheal wash and bronchoalveolar lavage, resulted in a more complete diagnosis.

**Keywords:** Horse; Endoscopy; Lung inflammation; Neutrophil.

## **CAPÍTULO 1**

### **A TOSSE NAS DOENÇAS RESPIRATÓRIAS INFLAMATÓRIAS NO CAVALO – Revisão de literatura**

*(Cough related to inflammatory respiratory diseases in horses – Literature review)*

## **A TOSSE NAS DOENÇAS RESPIRATÓRIAS INFLAMATÓRIAS NO CAVALO – Revisão de literatura**

*(Cough related to inflammatory respiratory diseases in horses – Literature review)*

Bruna Dzyekanski<sup>1</sup>; Pedro Vicente Michelotto Junior<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Mestranda em Ciência Animal, Pontifícia Universidade Católica do Paraná (PUCPR),

<sup>2</sup>Professo Doutor. Mestrado em Ciência Animal, Pontifícia Universidade Católica do Paraná (PUCPR)

**RESUMO** – As afecções respiratórias são de grande importância na clínica equina e apresentam um sinal clínico em comum, a tosse. A tosse se trata de um mecanismo de defesa do organismo animal para expulsar das vias aéreas corpos estranho como muco ou partículas. Dentre as principais doenças respiratórias que acometem os cavalos estão a doença inflamatória das vias aéreas (DIVA) e a obstrução recorrente das vias aéreas (ORVA). A revisão bibliográfica teve como objetivo abranger os principais entendimentos sobre tais afecções e suas correlações com a tosse.

**Palavras-chave:** Tosse; Equinos; Inflamação pulmonar; Endoscopia.

**ABSTRACT** – The respiratory diseases are of great importance in equine practice and present a common clinical sign, cough. Cough it is a defense mechanism in the animal body to expel airway mucus and foreign material or particles. Among the major respiratory diseases that affect horses are inflammatory airway disease (IAD) and recurrent airway obstruction (ORVA). The literature review aimed to include all understanding about such disorders and their correlation with cough.

**Keywords:** Cough, Equine, Lung inflammation; Endoscopy; Bronchoalveolar.

# 1 INTRODUÇÃO

As afecções do trato respiratório constituem a segunda maior causa de atendimentos na clínica dos equinos (ALLEN et al., 2006). O trato respiratório constitui a maior superfície do organismo para contato com material potencialmente prejudicial presente no ar. Portanto, a respiração expõe o cavalo a efeitos adversos de uma mistura de gases e poluentes (ART et al., 2002). Sendo assim, pode-se justificar a alta ocorrência de afecções do trato respiratório pelo ambiente em que vivem os cavalos em treinamento, frequentemente inalando a poeira presente nas pistas, nas cocheiras e no feno ofertado na alimentação (ALLEN et al., 2006).

Na espécie equina, a tosse é um sinal clínico comum às doenças respiratórias e apesar de inespecífico sugere-se estar associada à inflamação das vias aéreas (ROBINSON et al., 2005). Constitui um achado clínico presente nas principais doenças inflamatórias das vias aéreas dos equinos, como a doença inflamatória das vias aéreas (DIVA) e a obstrução recorrente das vias aéreas (ORVA) (McGORUM et al., 2007).

Os objetivos desta revisão foram conhecer o funcionamento da tosse, bem como suas causas, influência e função nas doenças respiratórias de equinos

## 1.1 TOSSE

A tosse é iniciada com uma profunda inspiração seguida de expiração forçada, a qual encontra a glote fechada. No momento em que esta se abre, ocorre a fase de expulsão de ar (WIDDICOMBE; SINGH, 2006). Sendo assim, trata-se de uma expulsão repentina de ar através da glote, com a finalidade de eliminar das vias aéreas as partículas invasoras. De fato, é um mecanismo eficiente para limpar as vias aéreas, mas um eventual dano ou ausência dele pode ser prejudicial ou até fatal em uma doença (CHUNG, 2003; GERBER, 2008).

Contudo, apesar da tosse ser um mecanismo protetor das vias aéreas, também é um sinal comum dentre diversas doenças respiratórias (KOHN, 2004). A tosse é um dos primeiros sinais de doença respiratória, e neste caso, além de ser uma defesa, passa a ser um sinal clínico importante utilizado para a suspeita clínica

e diagnóstico (CHUNG, 2003). Quando persistente, a tosse será prejudicial ao paciente, interferindo na respiração e na qualidade de vida, causando fadiga e, desta forma, prejudicando o rendimento de animais atletas. Com isso, ela pode ser vista por três facetas, podendo ser um mecanismo de proteção dos pulmões, um sinal de alerta de doença e quando persistente, a causa de desconforto além de prejudicial para a qualidade de vida do animal (CHUNG, 2003).

Tais entendimentos sobre a tosse em humanos também servem para a medicina equina, sendo que esta deverá ser rara ou estar ausente em animais saudáveis (ROBINSON, 2007). A presença da tosse, já foi associada à inflamação das vias aéreas dos cavalos (BURRELL et al., 1996; McGORUM e DIXON, 2007), inclusive das vias aérea superiores (CHRISTLEY et al., 2001), o que não foi comprovado no estudo de Koblinger et al. (2011).

De fato, em cavalos com doença inflamatória das vias aéreas (DIVA), a tosse durante o exercício ou a alimentação constituiu na principal queixa clínica por parte dos responsáveis (CHRISTLEY e RUSH, 2007). Adicionalmente, a tosse foi associada com o aumento nas quantidades de macrófagos e diminuição significativa no percentual de linfócitos no lavado broncoalveolar (LBA) de cavalos Puro Sangue Inglês de corrida (McKANE et al., 1993), à presença de quantidades aumentadas de secreção traqueal bem como percentual aumentado de neutrófilos na secreção traqueal (CHRISTLEY et al., 2001) e quantidades maiores que 5% de neutrófilos no LBA (BEDENICE et al., 2008; MICHELOTTO JR et al., 2010).

A tosse também é um parâmetro clínico bastante importante em cavalos com obstrução recorrente das vias aéreas (ORVA). No estudo de Tilley et al. (2011), houve correlação significativa entre a tosse, quantidades aumentadas de muco traqueal, alteração no padrão radiográfico pulmonar e quantidades aumentadas de neutrófilos no LBA.

## 1.2 DOENÇA INFLAMATÓRIA DE VIAS AÉREAS (DIVA)

A doença inflamatória de vias aéreas (DIVA) é considerada como uma condição inflamatória não infecciosa afetando o trato respiratório inferior especialmente de cavalos desportistas (RUSH, 2003). Ocorre em cavalos de

qualquer idade, geralmente sem sinais clínicos evidentes quando em repouso ou em trabalho moderado (MAZAN, 2010).

Para definir o fenótipo de cavalos com DIVA, um consenso do *American College of Veterinary Internal Medicine* sugeriu algumas importantes características da doença para cavalos de qualquer idade, como: baixo rendimento desportivo, intolerância ao exercício, tosse com ou sem excesso de muco traqueal e inflamação não séptica baseada na análise citológica do LBA. Adicionalmente pode haver disfunção pulmonar detectada pela obstrução de vias aéreas ou hiperresponsividade e trocas gasosas prejudicadas durante o repouso ou exercício. Alguns critérios podem ainda ser usados como fator de exclusão para a DIVA, como sinais sistêmicos de doença infecciosa ou aumento de frequência respiratória em repouso (COUËTIL et al., 2007).

### 1.2.1 Epidemiologia

Holcombe (2005) aponta animais jovens, com menos de três anos de idade, e que recentemente entraram em treinamento como a população de maior risco de DIVA. Entretanto, Lessa et al., (2005) encontraram cavalos de 10 a 20 anos diagnosticados com DIVA.

Igualmente, não há predisposição racial, porém é comum o aparecimento da doença em raças de corrida, pois estes cavalos são submetidos a mudança ambiental importante e treinamentos intensos. A prevalência, em diferentes populações de cavalos de corrida jovens varia de 11 a 50% (CHRISTLEY e RUSH, 2007). É provável que a alta prevalência nesses cavalos de corrida se dê pelos danos causados às trocas gasosas pulmonares, os quais, por menores que sejam, prejudicam o desempenho atlético na corrida, o que não seria notado em um cavalo de atividade menos intensa. O ambiente em que esses cavalos são geralmente mantidos, ou seja, em baias, com pouca ventilação e altas concentrações de poeira; e ainda, a rotina de treinamento e viagens, com a qual os cavalos convivem, causam um determinado estresse prejudicial à resposta imunológica pulmonar desses animais (COUËTIL, 2002).

### 1.2.2 Etiologia

A etiologia da DIVA varia entre indivíduos e populações de equinos. Uma das possíveis causas é infecção por bactérias e micoplasma. Entretanto, ainda existe bastante discussão no assunto, pois a infecção, quando diagnosticada, pode ser relacionada à inflamação ou à diminuição das defesas em vias aéreas causada por tal inflamação (CHRISTLEY e RUSH, 2007).

Segundo Couëtil (2002) a presença de bactérias na traquéia dos cavalos pode indicar a causa da DIVA, porém podem estar presente apenas como um coadjuvante, diminuindo a capacidade de limpeza do mecanismo mucociliar e não uma infecção primária; ou ainda pode ser explicado porque o ambiente traqueal não é estéril, ou seja, as bactérias podem não ter relação direta com a doença. Sendo assim, já que o meio do trato respiratório superior não é asséptico, não há como diferenciar a infecção da contaminação durante a endoscopia apenas pela visualização do muco. Todavia, a variação sazonal da prevalência da DIVA em cavalos jovens submetidos a treinamento e a diminuição da doença à medida que a idade e o tempo de treinamento aumentam, são indicativos de que esses animais adquirem capacidade de defesa contra agentes etiológicos infecciosos (NEWTON et al., 2003).

O exercício também pode ser colocado como uma possível etiologia, pois, durante o treinamento, os cavalos inalam grande quantidade de partículas, além de estarem com as vias aéreas inferiores expostas ao ar não condicionado (CHRISTLEY e RUSH, 2007). Potros Puro Sangue Inglês em treinamento para corrida, apresentaram redução na capacidade fagocítica de macrófagos alveolares, bem como na capacidade destes matarem agentes invasores por meio da produção de espécies reativas do oxigênio (MICHELOTTO JR et al., 2010), agravado pela ocorrência de hemorragia pulmonar induzida pelo exercício (HPIE) (MICHELOTTO JR et al., 2011).

Virose respiratórias não aparecem como possíveis causas de DIVA. Isto se dá, principalmente, pela ausência de febre nos cavalos acometidos pela doença (BURRELL et al., 1996). Uma virose envolve a inflamação de vias aéreas, porém, surtos de viroses respiratórias não combinam com casos de DIVA em jovens cavalos em treinamento (WOOD et al., 2003). Além dos surtos não combinarem, se as viroses fossem agentes importantes, em países nos quais não há indícios deles,

como a Austrália, não haveria também diagnóstico de DIVA (CHRISTLEY e RUSH, 2007).

Altos níveis de endotoxinas, fungos, ácaros, debris de plantas e fezes, poeira inorgânica, gases tóxicos e  $\beta$ -glucanos, como a amônia podem compor o ambiente no qual vivem os cavalos estabulados (ART et al., 2002; McGORUM e PIRIE, 2003). Esses componentes são capazes de induzir inflamação de vias aéreas (HOLCOMBE et al., 2001). Além disso, também contribuem na persistência da DIVA nos cavalos estabulados (McGORUM e PIRIE, 2003). Os movimentos e comportamento dos cavalos aumentam a concentração dessas partículas na área chamada de área de respiração, ou seja, ao redor das narinas, o que induz ou agrava a inflamação (CHRISTLEY e RUSH, 2007).

### 1.2.3 Patofisiologia

As partículas, presentes no ambiente em que o cavalo vive, são capazes de passar através das vias aéreas alojando-se nos alvéolos, ainda que o equino possua um sistema de filtro no sistema respiratório que se inicia nas narinas. Uma vez que essas partículas atinjam os pulmões, inicia-se uma resposta imunológica não específica, a qual atrai células, como neutrófilos, eosinófilos e mastócitos para os alvéolos pulmonares (McKENZIE, 2011). Os macrófagos são células fagocíticas, as quais agem na atração e ativação de neutrófilos, além da produção de interleucinas pró inflamatórias (THACKER, 2006). Com a entrada de neutrófilos nos pulmões, a migração das células inflamatórias é acelerada, pois a expressão dos receptores aumenta, permitindo a resposta celular às interleucinas (ZHANG et al., 2001). Por volta de oito horas após a migração celular, os neutrófilos começam a fagocitar os patógenos presentes nos pulmões e liberam grânulos (THACKER, 2006).

Hughes et al., (2011) encontraram aumento das interleucinas pró-inflamatórias IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$  e IL-23 em cavalos com DIVA e sugeriram que os aumentos de neutrófilos e mastócitos podem estar associados ao recrutamento de células ativadas e ao processo inflamatório nas vias aéreas inferiores. Os mediadores e citocinas são produzidos por todos os tipos de células e contribuem para a regulação da resposta imunológica tanto de células vizinhas quanto distantes. Com isso, estão envolvidos na iniciação, manutenção e resolução da inflamação

(LAVOIE et al., 2011). O fator de necrose tumoral  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) e as interleucinas IL-1 ( $\alpha$  e  $\beta$ ) e IL-6 são as responsáveis pela resposta inflamatória aguda. Baixos níveis de TNF- $\alpha$  são adequados para ativar os macrófagos a fagocitar os patógenos, porém, à medida que a quantidade desta interleucina aumenta ocorrem danos no parênquima pulmonar (THACKER, 2006). Lavoie et al., (2011) encontraram TNF- $\alpha$  associado à inflamação de vias aéreas inferiores e relacionaram a IL-1 $\beta$  à neutrofilia pulmonar em cavalos com DIVA.

Quando o animal inala qualquer tipo de partícula que atinge as vias aéreas, ocorre o aumento da produção e secreção de muco para a remoção desses agentes, como um sistema de defesa. Entretanto, algumas vezes esta produção de muco é maior do que a limpeza, e neste caso, ocorrerá acúmulo nas vias aéreas (GERBER, 2001). O muco é produzido e secretado pelas células caliciformes em resposta à liberação de neutrófilos e é composto por células inflamatórias (ROBINSON et al., 2003).

Uma vez que a função do sistema respiratório é transportar oxigênio ao sangue e eliminar gás carbônico, se ocorre uma inflamação nestes locais essas trocas gasosas estarão prejudicadas (COUËTIL, 2003). Sánchez et al., (2005) relatam a diminuição de PaO<sub>2</sub> em cavalos com DIVA exercitados em esteira. Nestes cavalos, ficou evidente a diminuição da capacidade de troca gasosa em função da doença pulmonar inflamatória. A maior resistência para respirar ocorre nas vias aéreas maiores, por isso, quando há obstrução em vias inferiores (bronquíolos e alvéolos), como na DIVA, o animal só demonstrará sinais quando a obstrução for extensa, ou quando em recrutamento mais intenso dessas vias, como no exercício. Sendo assim, essa obstrução em vias aéreas menores prejudica a ventilação nas regiões das trocas gasosas, dificultando o transporte de oxigênio e prejudicando o desempenho atlético do cavalo (ROBINSON et al., 2003). Segundo Nyman (2003), além da distribuição de oxigênio estar limitada, ocorrem hipoventilação e hipoperfusão alveolares.

#### 1.2.4 Sinais Clínicos da DIVA

Dentre os sinais clínicos associados à DIVA, a tosse crônica e intermitente geralmente está presente, ocorrendo no repouso ou durante o exercício (MOORE et

al., 1995; MAZAN, 2010), sendo que durante a alimentação e o exercício é mais comumente relatada (CHRISTLEY e RUSH, 2007). Contudo, a ausência de tosse não exclui a doença (COUËTIL et al., 2007), visto que no estudo de Lessa et al. (2005), dentre quatro cavalos com DIVA apenas um apresentava tosse de forma importante.

Os cavalos com DIVA não apresentam sinais clínicos de doença sistêmica, assim como infecções e, sendo assim, não há a presença de febre ou alterações hematológicas (McKENZIE, 2011).

A diminuição do rendimento atlético (MOORE et al., 1995) ou intolerância ao exercício (MAZAN, 2010) e recuperação respiratória prolongada após um treinamento (HARE et al., 1998) são também sinais importantes na DIVA. A diminuição do rendimento desportivo é relativa à expectativa de trabalho do treinador ou proprietário, ou seja, um cavalo de corrida exigido em alto nível poderá demonstrar maior diminuição no rendimento do que um cavalo de passeio. Sendo assim, um cavalo com baixa demanda aeróbica pode não ter os sinais notados até que apresente tosse e corrimento nasal significativos (MAZAN, 2010). É provável que essa queda de desempenho ocorra devido à desigual distribuição de ventilação, a qual acentua a hipoxemia induzida pelo exercício (ROBINSON, 1997).

Anormalidades na auscultação pulmonar nem sempre estão presentes nestes animais, contudo é possível que haja aumento nos sons respiratórios, crepitação e até sibilos (DIXON et al., 1995; LESSA et al., 2005; COUËTIL et al., 2007). O exercício, a utilização de uma bolsa de reinalação no focinho ou a oclusão das narinas por um tempo aumentam a probabilidade identificação de sons anormais na auscultação (ROBINSON, 1997).

Apesar do esforço respiratório aumentado durante o repouso ser um fator de exclusão para a DIVA (ROBINSON, 2001), pode-se encontrar, em casos mais avançados, um leve aumento na frequência respiratória. A DIVA é considerada uma doença sem manifestações no repouso (COUËTIL et al., 2007), mas, os sinais clínicos podem se tornar evidentes em regiões de climas quentes e úmidos (MAZAN et al., 2002). De qualquer forma, os aspectos mencionados com relação ao quadro clínico tornam o diagnóstico da DIVA um desafio para o clínico médico veterinário.

### 1.3 OBSTRUÇÃO RECORRENTE DE VIAS AÉREAS (ORVA)

A forma mais severa de doença crônica de vias aéreas nos cavalos é a obstrução recorrente de vias aéreas (ORVA) (ROBINSON, 1997). Caracterizada pelo estreitamento reversível das vias aéreas devido ao broncoespasmo, a ORVA é muito comparada com a asma humana (ROBINSON, 2001) e trata-se de uma obstrução inflamatória de vias aéreas inferiores (MAIR e DERKSEN, 2000).

Segundo Deaton et al. (2007), a ORVA é caracterizada pelo desenvolvimento da fase tardia da resposta alérgica, na qual ocorre obstrução, inflamação e hiperresponsividade das vias aéreas, semelhante ao que ocorre na asma humana após a exposição à poeira orgânica. A obstrução é resultado de inflamação neutrofílica associada à broncoespasmo e acúmulo de muco no lúmen das vias aéreas (ROBINSON, 1997).

#### 1.3.1 Epidemiologia

De acordo com Rush e Grady (2008), não há predisposição racial nem de gênero para a doença. Cavalos com mais de sete anos de idade desenvolvem a ORVA, geralmente quando estabulados (ROBINSON, 1997). Segundo Riihimäki et al. (2008) há uma predisposição para problemas respiratórios durante o inverno, uma vez que os animais são mantidos mais tempo estabulados, fazendo com que a poeira e partículas no ar se acumulem mais nos estábulos. Mair e Derksen (2000) relatam a maior incidência em climas temperados e ainda comentam a prevalência no hemisfério norte, onde os cavalos são alimentados com feno, o qual é produzido durante o verão úmido.

É citada a predisposição genética para o desenvolvimento da doença, mas os fatores e genes envolvidos ainda não foram determinados (LAVOIE, 2007).

### 1.3.2 Etiologia

Fatores ambientais, como poeira orgânica de feno mofado e palha, podem levar ao desenvolvimento de episódios de obstrução (RUSH e GRADY, 2008), devido à resposta alérgica da qual é desencadeada (MAIR e DERKSEN, 2000).

Altos níveis de endotoxinas bacterianas, ácaros, fungos, restos vegetais, poeira e até gases tóxicos podem estar presentes no estábulo do cavalo. A inalação dessas partículas apresenta muita importância na etiologia da ORVA (McGORUM, 2002). Os cavalos mantidos estabulados ficam expostos à poeira, a qual contém mais de 50 espécies de fungos, actinomicetos, ácaros de forrageiras, endotoxinas e componentes inorgânicos, ou seja, uma mistura de agentes que podem induzir ou exacerbar uma inflamação pulmonar. É provável que a patogenicidade de alguns desses agentes seja potencializada por outros (ROBINSON, 2001). Esses aerocontaminantes são suspensos no ar pelo movimento do animal e tendem a ter maior concentração ao redor das fossas nasais do que no resto do ambiente (ARAYA, 1999). Além disso, muitas dessas partículas possuem diâmetro suficientemente pequeno para atingir e se depositar nos bronquíolos (MAIR e DERKSEN, 2000).

O ponto crítico, que leva à contaminação microbiana do feno é a quantidade de água presente no enfardamento (MAIR e DERKSEN, 2000).

Tal como ocorre na asma, a ORVA equina também ocorre pela influência genética, todavia não bem esclarecida, mas que em combinação com os fatores ambientais descritos e a falta de ventilação nas baias, desencadeiam a doença (ARAYA, 1999; ROBINSON, 2001).

### 1.3.3 Patofisiologia

A inflamação é a base das mudanças que ocorrem em um cavalo com ORVA e a ação celular é emergente (ROBINSON, 1997; LAVOIE, 2007). A exposição do cavalo suscetível à poeira desencadeia inflamação, onde os macrófagos alveolares e linfócitos produzem interleucinas que promovem a quimiotaxia pulmonar de neutrófilos (MAIR e DERKSEN, 2000). Entre os principais promotores de neutrofilia

estão a interleucina 8 (IL-8), o fator de necrose tumoral  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), a interleucina 1 $\beta$  (IL- $\beta$ ) e a proteína inflamatória de macrófago (MIP) (FRANCHINI et al., 2000).

A neutrofilia pulmonar ocorre em até seis horas após a exposição ao agente (FAIRBAIRN et al., 1993; PIRIE et al., 2001). Os neutrófilos pulmonares, quando ativados, liberam interleucinas, as quais causam danos aos pulmões, além de produzirem mediadores inflamatórios e outras interleucinas (LAVOIE, 2007).

Em resposta à liberação de neutrófilos, a produção e secreção de muco é aumentada devido à metaplasia calciforme sofrida pelo epitélio respiratório, ou seja, uma alteração fenotípica pela qual aumenta a proporção de células calciformes em relação às células epiteliais no epitélio respiratório (ROBINSON et al., 2001)

Além da inflamação nas vias aéreas, ocorre também a broncoconstrição em resposta à exposição aos alérgenos (RUSH e GRADY, 2008). A obstrução das vias aéreas se dá em decorrência do broncoespasmo, além do acúmulo de muco e espessamento da parede das vias aéreas (ROBINSON, 2001). Essa obstrução nas vias aéreas inferiores pode ocasionar uma distribuição anormal na ventilação na região de trocas gasosas, mesmo antes de o animal apresentar sinais clínicos, e devido a isso, a troca de oxigênio fica prejudicada, interferindo no desempenho atlético do cavalo (ROBINSON, 2001).

Adicionalmente, as pressões intrapleurais positivas durante a expiração contribuem para o colapso das vias aéreas inflamadas, comprimindo-as, dificultando a expulsão de ar do trato respiratório inferior (RUSH e GRADY, 2008).

Finalmente, mudanças estruturais ocorrem primariamente nos bronquíolos, através de espessamento de parede por depósito de colágeno, e seguem nos brônquios e na traquéia (ROBINSON, 2001).

#### 1.3.4 Sinais Clínicos da ORVA

A ORVA se manifesta por tosse durante o exercício ou no momento da alimentação, e taquipnéia com fase expiratória mais acentuada caracterizada por esforço abdominal. O componente abdominal da respiração pode resultar em uma linha de hipertrofia no músculo oblíquo abdominal externo. Grande parte do volume corrente de ar do pulmão é exalada no início da expiração. No final da fase de expiração, nos cavalos com ORVA, há necessidade do emprego da musculatura

abdominal para empurrar volume de ar residual aprisionado nas vias obstruídas (PETSCHÉ et al., 1994). Isto resulta em um padrão respiratório típico destes cavalos, no qual a fase expiratória é mais elaborada e prolongada, diferentemente da curta fase inspiratória (RUSH; GRADY, 2008).

A obstrução das vias aéreas pode resultar em sibilos na auscultação pulmonar. Desta forma, esses sons pulmonares anormais são originados à medida que a obstrução se torna mais severa, aparecendo aumentados na traquéia e nos brônquios. Sibilos ocorrem a partir do estreitamento das vias aéreas periféricas, sendo audíveis no final da expiração uma vez que neste momento o estreitamento é mais acentuado (ROBINSON, 1997; RUSH; GRADY, 2008). Contudo, crepitação também é comumente presente e está associada à presença de quantidade excessiva de muco (RUSH; GRADY, 2008).

Adicionalmente, pode haver corrimento nasal mucopurulento bilateral persistente ou intermitente e aumento de campo de percussão pulmonar. Contudo, salvo os casos avançados da doença, estes cavalos estarão alerta e afebris (SASSE, 2001; RUSH; GRADY, 2008).

A sensibilidade a antígenos e a severidade dos sinais clínicos são variáveis. Assim, animais com obstrução leve a moderada podem apresentar mínimos sinais em repouso, porém durante o exercício a tosse e a intolerância ao esforço se tornam evidentes (RUSH; GRADY, 2008). A intolerância ao exercício também é um sinal importante e tende a piorar lentamente (SASSE, 2001), sendo que em casos graves o cavalo poderá estar debilitado, em função das alterações na estrutura das vias aéreas, comprometimento à capacidade respiratória e à sua qualidade de vida (MAIR; DERKSEN, 2000).

Episódios agudos e severos podem ocorrer devido à súbita mudança de manejo ou condições ambientais, resultando em dispneia e taquipnéia intensa, narinas dilatadas, protusão do ânus a cada esforço expiratório, tosse e expressão facial de ansiedade (MAIR; DERKSEN, 2000).

Esta doença é progressiva e a angústia respiratória se torna mais severa ao longo dos anos (ROBINSON, 1997). Adicionalmente, os sinais clínicos podem aumentar ou diminuir com a variação climática ou mudança de ambiente. Segundo Sasse (2001): “Os sinais clínicos são recorrentes, a doença é permanente”.

## 1.4 DIAGNÓSTICO DA DIVA E ORVA

Os diagnósticos da DIVA e da ORVA devem ser desenvolvidos através de três componentes principais: o histórico do animal, o exame físico e exames complementares (VIEL, 2009).

### 1.4.1 Histórico e Sinais Clínicos

Uma inspeção visual do ambiente em que o cavalo vive é importante, avaliar a qualidade do feno, do material da cama e da ventilação do estábulo. Além disso, o proprietário deve ser questionado sobre medicamentos utilizados, doenças prévias e seus respectivos tratamentos, histórico de vacinação, além da descrição e duração dos sinais clínicos (VIEL, 2009).

Inicialmente, a suspeita da DIVA se dará através dos sinais clínicos. Tosse crônica, intolerância ao exercício e recuperação prolongada após o treino, que constituem as reclamações mais comuns de proprietários e treinadores (COUËTIL; HINCHCLIFF, 2004). A tosse é um sinal relativamente específico de doença respiratória de vias aéreas inferiores, sendo a DIVA a causa mais comum de tosse em cavalos jovens de corrida (HODGSON et al., 2002).

Com isso, o histórico detalhado do paciente é muito importante nesta etapa (CHRISTLEY; RUSH, 2007). Geralmente, o proprietário relata a ocorrência de infecção respiratória meses antes, a qual acometeu grande parte dos animais do mesmo haras. Após todos os cavalos se recuperarem, a tosse persistirá no cavalo com a DIVA (COUËTIL; HINCHCLIFF, 2004). Sinais de doença sistêmica, como febre, descartam a DIVA ou indicam a presença de outra doença concomitante (CHRISTLEY; RUSH, 2007). Entretanto, o caráter crônico associado à aumento de secreção traqueal com presença de quantidades elevadas de células inflamatórias, são sugestivos de DIVA (HOFFMAN, 2002).

### 1.4.2 Exame Físico

O exame físico deve ser iniciado pela avaliação da taxa e esforço respiratórios a distancia (VIEL, 2009). Das narinas, deve-se avaliar se o fluxo de ar é igual entre uma e outra e se há presença de descarga nasal, a quantidade e o tipo e ainda a simetria facial (WOODIE, 2011; VIEL, 2009).

A palpação de linfonodos é importante, principalmente o linfonodo submandibular (VIEL, 2009).

Auscultação torácica deve ser executada em ambiente silencioso, através de um bom estetoscópio e com a ajuda de um saco plástico colocado nas narinas do animal, para melhorar a qualidade da auscultação (SWEENEY, 1999).

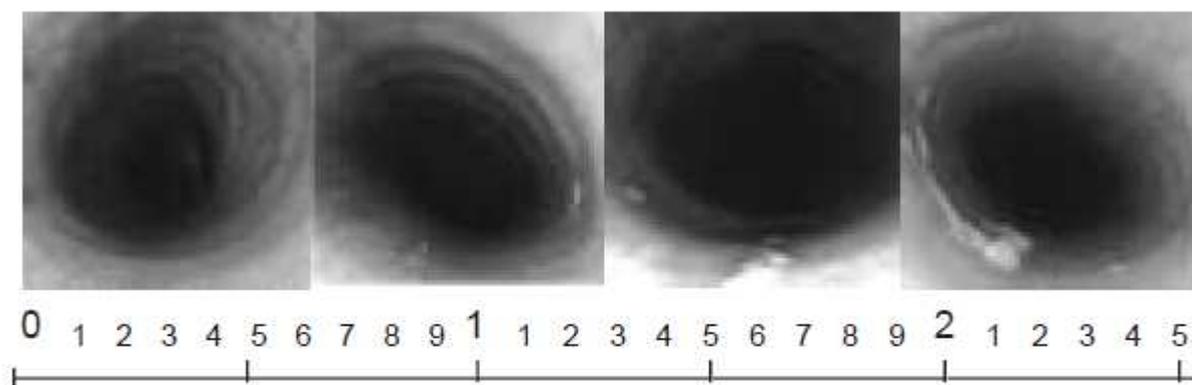
Uma vez que o cavalo com DIVA geralmente apresenta parâmetros fisiológicos normais, o diagnóstico pode ser perdido se o médico veterinário parar nesta etapa, sendo assim, é necessário que se faça uso de exames complementares (SÁNCHEZ et al., 2005).

### 1.4.3 Exame Endoscópico

Essencial na avaliação das vias aéreas dos cavalos, o exame endoscópico deve incluir a visualização de vias aéreas superiores e da árvore traqueobrônquica (ROBINSON, 1997).

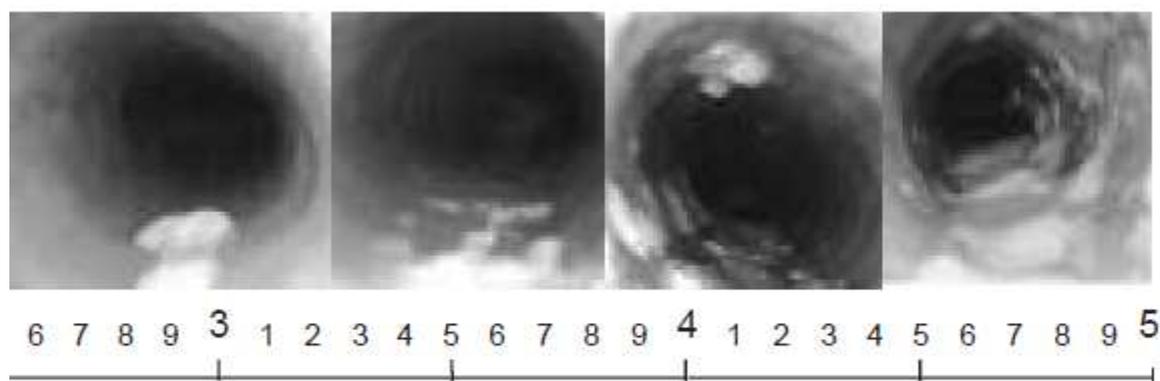
A inflamação é indicada pelas presenças de secreções no lúmen das vias aéreas. Na DIVA, ocorre aumento nas quantidades de muco claro na traquéia, associado ao acúmulo de células inflamatórias (ROBINSON, 1997). Essas quantidades de muco devem ser graduadas de 0 a 5, de acordo com Gerber et al., (2004) (figura 01).

Já obstruções severas, como a ORVA, apresentam secreções mucopurulentas, em graus superiores (ROBINSON, 1997).



**FIGURA 1** - Graduação de muco traqueal equino via exame endoscópico, 0: limpo; nenhum muco; 1: pouco; múltiplas e pequenas gotas de muco; 2: moderado; grandes gotas de muco.

**FONTE:** Adaptado de GERBER et al., 2004.



**FIGURA 2** - Graduação de muco traqueal equino via exame endoscópico, 3: marcado, formação de filete; 4: formação de grandes coleções de muco; 5: grande quantidade de muco.

**FONTE:** Adaptado de GERBER et al., 2004.

Entretanto, esse método não especifica a natureza nem a origem da inflamação (MAZAN, 2010). Sendo assim, são necessárias avaliações citológicas das secreções, obtidas especialmente através de lavados traqueal e broncoalveolar.

#### 1.4.4 Lavado Traqueal (LT)

Trata-se de uma técnica para obtenção de amostras de muco acumulado na traquéia de cavalos com problemas respiratórios (SWEENEY, 1999). Existem dois métodos que podem ser adotados para obter tais amostras, o transtraqueal ou

através do canal de biópsia do endoscópio (HEWSON; VIEL, 2002). Entretanto, tem se preconizado a escolha do método através da endoscopia, pois é menos invasivo e proporciona menos efeitos indesejáveis (HODGSON et al., 2006). Uma vez que o endoscópio tenha atingido a região final da traquéia, um cateter de polietileno é introduzido pelo canal de biópsia do endoscópio e, com a visualização do local de acúmulo de muco, 30 a 50 mL de solução salina estéril são instilados com posterior aspiração da amostra (HEWSON; VIEL, 2002).

Os valores citológicos de LT em cavalos normais são <10% de linfócitos, <1% de eosinófilos e < 20% de neutrófilos (ROBINSON, 2003; HODGSON; HODGSON, 2007).

Muitos médicos veterinários utilizam do lavado traqueal para investigar doenças respiratórias em cavalos de corrida com problemas de desempenho desportivo (MALIKIDES et al., 2007). Porém, a citologia do lavado traqueal não é suficiente para o diagnóstico da DIVA, pois alguns estudos demonstraram discordância entre as citologias do LT e LBA (COUËTIL et al., 2007). Os resultados de lavado traqueal são limitados a patologias na área traqueobronquial (ERCK, 2009). Sendo assim, para um diagnóstico completo, devem ser efetuadas ambas as técnicas. Entretanto, a técnica de LBA exige sedação, instilação de altos volumes de fluido no pulmão e ainda um repouso do animal após o procedimento, fatores estes que limitam a utilização deste método diagnóstico, pois não é aceito por muitos proprietários e treinadores (CARDWELL et al., 2011).

#### 1.4.5 Lavado Broncoalveolar (LBA)

Segundo McGorum et al. (1993), uma única amostra de lavado broncoalveolar representa a condição de todo o pulmão de um cavalo saudável ou com uma afecção inflamatória difusa, como a DIVA ou a ORVA. O lavado broncoalveolar demonstra problemas em vias aéreas distais e pulmões (ERCK, 2009).

O exame é feito com a instilação de alíquotas de solução salina pré-aquecida a 37°C, via sonda nasotraqueal própria (SWEENEY, 1999). Ao total, devem ser instilados 250 a 500 ml de solução salina, seguido de aspiração em seringas de 60 mL (HODGSON, 2006). Aproximadamente 40 a 60% do volume instilado é

recuperado, porém, é comum a obtenção de volumes bem menores na presença de obstrução respiratória (HEWSON e VIEL, 2002; MICHELOTTO JR, 2010).

Cavalos saudáveis apresentam no lavado broncoalveolar, cerca de 60% de macrófagos alveolares, 30 a 40% de linfócitos e menos de 5% de neutrófilos (Quadro 1). Em contrapartida, os cavalos com inflamação nas vias aéreas exibem aumento no percentual de neutrófilos. Neste caso, um cavalo com DIVA pode exibir contagem de células em torno de 2 a 5% de mastócitos, 10 a 40% de eosinófilos e 10 a 15% de neutrófilos (ROBINSON, 1997; RUSH e GRADY, 2008). Já um cavalo com ORVA pode demonstrar um aumento severo de neutrófilos, acima de 20% podendo chegar a mais de 90% (ROBINSON, 1997; RUSH e GRADY, 2008).

**QUADRO 1** – Valores de referência para achados de citologia de lavado broncoalveolar (LBA) em cavalos de diferentes idades.

autor	n	Vol.	Macr.	Macr. Mult.	Linf.	Neutr.	Mast.	Eosin.	Hemos	Cél. Ep.
Rush Moore	n = 6 (2.7 +/- 1.1)	300 mL	65 +/- 5	NA	28 +/- 3	4 +/- 0.3	0.3 +/- 0.3	1.2 +/- 0.8	NA	NA
Mc Kane	n = 62 (2.8 +/- 1.4)	65 mL	59 +/- 10	NA	31 +/- 9	9 +/- 6.3	NA	0.5 +/- 3.1	NA	0.4 +/- 0.8
Hare	n = 12 (3.1 +/- 0.9)	500 mL	60 +/- 5	NA	37 +/- 5	2 +/- 1.5	0.4 +/- 0.4	0.03 +/- 0.1	NA	0.4 +/- 0.5
Fogarty	n = 11 (3.2 +/- 1.2)	120 mL	65 +/- 6	NA	28 +/- 6	7 +/- 3.3	0.2 +/- 0.6	0 +/- 0	NA	NA
Clark	n = 10 (4 to 6)	200 mL	56 +/- 1	NA	37 +/- 2	6 +/- 0.5	0.8 +/- 0.2	0.5 +/- 0.1	NA	NA
Derkse n	n = 10 (6.9 +/- 2.1)	300 mL	45 +/- 3	NA	43 +/- 3	9.0 +/- 1.2	1.2 +/- 0.3	<1.0	NA	3.5 +/- 0.7
Traub- Dargatz	n = 9 (4 - 14)	180- 500 mL	31 +/- 6	NA	60 +/- 6	5 +/- 1.6	2.7 +/- 0.7	1.2 +/- 0.4	NA	0.9 +/- 0.6
Sween ey	n = 7 (8.8 +/- 5.2)	300 mL	46 +/- 11	NA	47 +/- 11	2.3 +/- 2.2	4.4 +/- 2.0	0	NA	NA
La pointe	n = 6 (12.5 +/- 5.1)	500 mL	26 +/- 6	NA	69 +/- 3	2.2 +/- 1.9	0.2 +/- 0.3	0.0 +/- 0.0	NA	NA
Lessa	n=15 (15.2 +/- 3.4)		53.1 +/- 7,8	0.21 +/- 0.3	41.3 +/- 9.6	2.3 +/- 1.2	2.4 +/- 2.3	0.42 +/- 1.0	1.69 +/- 4.2	0.23 +/- 0.43
Michelo	n=45	300 mL	67.3	0.4	29.4	2.3	0.05	0.5	NA	NA

tto Jr	(1,0 +/- 0,4)		+/- 7.9	+/- 0.7	+/- 7.1	+/- 2.0	+/- 0.2	+/- 1.5		
--------	---------------	--	---------	---------	---------	---------	---------	---------	--	--

n, número de cavalos (idade em anos); vol., volume de salina infundido (mL), macr., macrófagos; macr. multi., macrófagos multinucleados; linf., linfócitos; neutr., neutrófilos; mast., mastócitos; eosin., eosinófilos; hemos., Hemossideróforos; cél. ep., células epiteliais; NA, não avaliado.

#### 1.4.6 Teste de Função Pulmonar

O teste de função pulmonar proporciona grande ajuda no diagnóstico da doença, principalmente quando se trata de uma inflamação nas vias aéreas inferiores sem manifestação clínica importante (MAZAN; HOFFMAN, 2003). Os testes de função pulmonar têm a finalidade de verificar a presença ou ausência de um distúrbio mecânico, o qual vem acarretando os sinais como tosse e queda de desempenho atlético (HOFFMAN, 2002).

Uma vez que a queda do desempenho desportivo é uma questão variável, pois depende da percepção do treinador e/ou proprietário ou ainda, de diferentes tipos de métodos diagnósticos utilizados pelos clínicos veterinários, avaliar a função pulmonar pode ser de grande valia para definir tal diagnóstico. Além disso, a avaliação pulmonar pode ser utilizada para verificação da resposta do animal ao tratamento instituído (MAZAN e HOFFMAN, 2003).

## 2 REFERÊNCIAS

ALLEN, K.J., TREMAINE, W.H., FRANKLIN, S.H. Prevalence of inflammatory airway disease in National Hunt horses referred for investigation of poor athletic performance. **Equine Veterinary Journal**, v. 36, p; 529-534, 2006.

ARAYA, O. Enfermedades respiratorias crónicas en caballos y su relación com estabulación deficiente em Chile. **Curso de afecciones respiratórias em caballos**, Hospital Veterinario, Universidad Austral de Chile, Valdivia, Chile, 1999.

ART, T., McGORUM, B.C., LEKEUX, P. Environmental control of respiratory disease. In: LEKEUX, P. **Equine Respiratory Diseases**. Ithaca: International Veterinary Information Service, 2002. Disponível em <[http://www.ivis.org/special\\_books/Lekeux/art2/fig4.asp?Style=1](http://www.ivis.org/special_books/Lekeux/art2/fig4.asp?Style=1)> Acesso 15fev2011.

BEDENICE, D.; MAZAN, M.R.; HOFFMAN, A.M. Association between cough and cytology of bronchoalveolar lavage fluid and pulmonary function in horses diagnosed with inflammatory airway disease. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 22, p. 1022-1028, 2008.

BURRELL, M.H.; WOOD, J.L.; WHITWELL, K.E.; CHANTER, N.; MACKINTOSH, M.E.; MUMFORD, J.A. Respiratory disease in thoroughbred horses in training: the relationship between disease and viruses, bacteria and environment. **Veterinary Record**, v. 139, n. 13, p. 308-313, 1996.

CARDWELL, J.M., CHRISTLEY, R.M., GERBER, V., MALIKIDES, N., WOOD, J.L.N., NEWTON, J.R., HODGSON, J.L. What's in a name? Inflammatory airway disease in racehorses in training. **Equine Veterinary Journal**, v. 43, n. 6, p. 756-758, 2011.

CARDWELL, J.M., WOOD, J.L.N., SMITH, K.C., NEWTON, J.R. Descriptive results from a longitudinal study of airway inflammation in British National Hunt racehorses. **Equine Veterinary Journal**, v.43, n.6, p. 750-755, 2011.

CHRISTLEY, R.M., HODGSON, D.R., ROSE, R.J., HODGSON, J.L., WOOD, J.L.N., REID, S.W.J. Coughing in thoroughbred racehorses: risk factors and tracheal endoscopic and cytological findings, **The Veterinary Record**, p. 99-104, 2001.

CHRISTLEY, R., RUSH, B.R. Inflammatory airway disease. In: McGORUM, B.C., DIXON, P.M., ROBINSON, N.E., SCHUMACHER, J.(Eds). **Equine Respiratory Medicine and Surgery**. Saunders, 2007, p. 591-600.

CHUNG, K.F., The clinical and pathophysiological challenge of cough. In: CHUNG, K.F., WIDDICOMBE, J.G., BOUSHEY, H.A. **Cough: Causes, Mechanisms and Therapy**. 1.ed. p. 3-10. 2003.

CLARK, C.K., LESTER, G.D., VETRO, T. Bronchoalveolar lavage in horses: effect of exercise and repeated sampling on cytology. **Australian Veterinary Journal**, v. 72, p. 249-252, 1995.

COUËTIL, L.L. IAD: Cough, poor performance, mucus in the airways – what is so important about that? **Proceedings of the Annual Convention of the AAEP**, v. 48, p. 200-207, 2002.

COUËTIL, L.L. Inflammatory airway disease and clinical exercise testing. **Proceedings of a workshop on Inflammatory Airway Disease: Functional significance**, v.9, p. 84-86, 2003.

COUËTIL, L.L., HINCHCLIFF, K.W. Non-infectious diseases of the lower respiratory tract. In: HINCHCLIFF, K.W., KANEPS, A.J., GEOR, R.J. (Org.). **Equine Sports Medicine and Surgery**, v.1, p.613-654, 2004.

COUËTIL, L.L., HOFFMAN, A.M., HODGSON, J.; BUECHNER-MAXWELL, V.; VIEL, L.; WOOD, J.L.N.; LAVOIE, J.P. Inflammatory airway disease of horses. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 21, p. 356-361, 2007.

DEATON, C., DEATON, L., JOSE-CUNILLERAS, E., VINCENT, T., BAIRD, A., DACRE, K., MARLIN, D. Early onset airway obstruction in response to organic dust in the horse. **Journal of Applied Physiology**, v. 102, p. 1071-1077, 2007.

DERKSEN, F.J., BROWN, C.M., SONEA, I. Comparison of transtracheal aspirate and bronchoalveolar lavage cytology in 50 horses with chronic lung disease. **Equine Veterinary Journal**, v. 21, p. 23-26, 1989.

DIXON, P. Collection of tracheal respiratory secretions in the horse. **In Practice**, v.17, p. 67-69, 1995.

ERCK, E. Sampling the respiratory tract: techniques and interpretation. **11<sup>th</sup> Geneva Congress on Equine Medicine and Surgery**. P. 45-47, 2009.

FAIRBAIRN, S.M., PAGE, C.P., LEES, P., CUNNINGHAM, F.M. Early neutrophil but not eosinophil or platelet recruitment to the lungs of the allergic horses following antigen exposure. **Clinical and experimental allergy: journal of the British Society for Allergy and Clinical Immunology**, v. 10, p. 821-828, 1993.

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

FRANCHINI, M., GILL, U., VON FELLEBERG, R., BRACHER, V.V. Interleukin-8 concentration and neutrophil chemotactic activity in bronchoalveolar lavage fluid of horses with chronic obstructive pulmonary disease following exposure to hay. **American Journal Veterinary Research**, v. 11, p. 1360-1374, 2000.

GERBER, V. Mucus in equine lower airway disease. **Proceedings of Second World Equine Airways Symposium**, p. 1-12, 2001.

GERBER, V., STRAUB, R., MARTI, E., HAUPTMAN, J., HERHOLZ, C., KING, M., IMHOF, A., TAHON, L., ROBINSON, N.E. Endoscopic scoring of mucus quantity and quality: observer and horse variance and relationship to inflammation, mucus viscoelasticity and volume. **Equine Veterinary Journal**, v. 36, p. 576-582, 2004

GERBER, V. Chronic cough. **Proceedings of the 10<sup>th</sup> International Congress of World Equine Veterinary Association**, p. 55-57, 2008.

HARE, J.E., VIEL, L., O'BYRNE, P.M. Effect of sodium cromoglycate on light racehorses with elevated metachromatic cell numbers on bronchoalveolar lavage and reduced exercise tolerance. **Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics**, v. 17, p. 237-244, 1994.

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

HEWSON, J., VIEL, L. Sampling, microbiology and cytology of the respiratory tract. In: LEKEUX, P. **Equine Respiratory Diseases**. Ithaca: International Veterinary Information Service, 2002. Disponível em <[http://www.ivis.org/special\\_books/Lekeux/viel/chapter\\_frm.asp?LA=1](http://www.ivis.org/special_books/Lekeux/viel/chapter_frm.asp?LA=1)>. Acesso 20out2010.

HODGSON, J. L.; HODGSON, D. R. Inflammatory airway disease. In: LEKEUX, P. **Equine respiratory disease**. Ithaca: International Veterinary Information Service, 2002. Disponível em: [http://www.ivis.org/special\\_books/Lekeux/hodgson/chapter\\_frm.asp?LA=1](http://www.ivis.org/special_books/Lekeux/hodgson/chapter_frm.asp?LA=1). Acesso: 10jan. 2011.

HODGSON, D.R., BAILEY, C.J., ROSE, R.J., REID, S.W.J. Factors affecting lost training days in athletic horses. **Proceedings of the 9<sup>th</sup> International Congress of World Equine Veterinary Association**, p.271-272, 2006.

HODGSON, J.L.; HODGSON, D.R. Collection and analysis of respiratory tract samples. In: McGORUM, B.C.; DIXON, P.M.; ROBINSON, N.E.; SCHUMACHER, J. **Equine Respiratory Medicine and Surgery**, Philadelphia: Saunders Elsevier, 2007, p. 119-150.

HOFFMAN, A. Newest diagnostic methods for inflammatory airway disease (IAD). **Proceedings of the Annual Convention of the AAEP**, v. 48, p. 208-217, 2002

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

HOLCOMBE, S.J. Epidemiology of airway inflammation and mucus in horses. **Proceedings of the Annual Convention of the AAEP**, v.51, p. 2005.

HUGHES, K.J., NICOLSON, L., COSTA, N., FRANKLIN, S.H., ALLEN, K.J., DUNHAM, S.P. Evaluation of cytokine mRNA expression in bronchoalveolar lavage cells from horses with inflammatory airway disease, **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v.140, p. 82-89, 2011.

KOBLINGER, K., NICOL, J., McDONALD, K., WASKO, A., LOGIE, N., WEISS, M., LÉGUILLETTE, R. Endoscopic assessment of airway inflammation in horses. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 25, n. 5, p. 1118-1126, 2011.

KOHN, C.J. Cough. In: REED, S.M., BAYLY, W.M., SELTON, D.C. (Org.) **Equine Internal Medicine**, 2 ed., 2004, P. 142-148.

LAVOIE, J.P. Recurrent airway obstruction (heaves) and summer-pasture-associated obstructive pulmonary disease. **Equine Respiratory Medicine and Surgery**. P. 565-584, 2007.

LAVOIE, J.P., CESARINI, C., LAVOIE-LAMOUREUX, A., MORAN, K., LUTZ, S., PICANDET, V., JEAN, D., MARCOUX, M. Bronchoalveolar lavage fluid cytology and cytokine messenger ribonucleic acid expression of racehorses with exercise intolerance and lower airway inflammation. **Journal Veterinary Internal Medicine**, v.2, p. 1-8, 2011.

LAPOINTE, J.M., VRINS, A., LAVOIE, J.P. Effects of centrifugation and specimen preparation technique on bronchoalveolar lavage analysis in horses. **Equine Veterinary Journal**, v. 26, p. 227-229, 1994.

LESSA, D.A.B., MACHADO, C.H., DUARTE, C.S., WACHHOLS, L., LIMA, J.R.P.A., FERNANDES, W.R. Enfermidades do trato respiratório posterior em equinos de equitação no Rio de Janeiro: prevalência e aspectos clínico-laboratoriais. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, v.12, n.1/3, p. 77-83, 2005.

LESSA, D.A.B., JORGE, M.L.L.A., VIANA, E.B., ALENCAR, N.X., FERNANDES, W.R. Análise do líquido broncoalveolar de equinos portadores de doença inflamatória das vias aéreas. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 48, p. 123-130, 2011.

MAIR, T.S., DERKSEN, F.J. Chronic obstructive pulmonary disease: a review. **Equine Veterinary Education**, v. 12, P. 35-44, 2000.

MALIKIDES, N., HUGHES, K.J., HODGSON, J.L. Comparison of tracheal aspirates before and after high-speed treadmill exercise in racehorses. **Australian Veterinary Journal**, v.85, n.10., p. 414-419, 2007.

MAZAN, M.R., HOFFMAN, A.M., MACORDES, B. Inflammatory airway disease: effect of discipline, ROBINSON N.E., HOFFMAN, A. eds. 9<sup>th</sup> ed. Newmarket, England: R&W Publication, 2002.

MAZAN, M.R., HOFFMAN, A.M. Clinical techniques for diagnosis of inflammatory airway disease in the horse. **Clinical Techniques in Equine Practice**, v.2, n.3, p. 238-257, 2003.

MAZAN, M.R. Inflammatory airway disease in the horse. **Proceedings of the AAEP Focus on Upper and Lower Respiratory Disease**. P 100-106. 2010.

McGORUM, B.C., DIXON, P.M., HALLIWELL, R.E.W. Comparison of cellular and molecular components of bronchoalveolar lavage fluid harvested from different segments of the equine lung. **Research in Veterinary Science**, v.55, p. 57-59, 1993.

McGORUM, B.C.; DIXON, P.M.; RADOSTITS, O.M.; ABBOTT, J.A. Exame Clínico do Trato Respiratório. In: RADOSTITS, O.M.; MAYHEW, I.G.; HOUSTON, D.M.

**Exame Clínico e Diagnóstico em Veterinária.** Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan, 2002, p.231-269.

McGORUM, B.C; PIRIE, R.S. Aetiological agentes: indoor environment and endotoxin. **Proceedings of a workshop on Inflammatory Airway Disease**, v. 9, p. 27-28, 2003.

McGORUM, B.C.; DIXON, P.M. Clinical examination of the respiratory tract. In: McGORUM, B.C.; DIXON, P.M.; ROBINSON, N.E.; SCHUMACHER, J. **Equine Respiratory Medicine and Surgery**. Philadelphia: Elsevier, 2007, p. 103-117.

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

McKENZIE, H.C. Rational therapy of inflammatory airway disease in equine athletes. **Proceedings of the AAEP Annual Convention**, v. 57, p. 12-15, 2011.

MICHELOTTO JR, P.V. **Efeitos do desafio ambiental e do exercício na funcionalidade dos macrófagos do lavado broncoalveolar de cavalos puro sangue inglês de corrida** (Tese de Doutorado). Curitiba: UFPR, 2010. 113 p.

MICHELOTTO JR, P.V., MUEHLMANN L.A., ZANATTA, A.L., BIEBERBACH, E.W.R., KRYCZYK, M., FERNANDES, L.C., NISHIYAMA, A. Pulmonary inflammation due to exercise-induced pulmonary haemorrhage in thoroughbred colts during race training. **The Veterinary Journal**, v. 190, p. 3-6, 2011.

MOORE, R. B., KRAKOWKA, S., ROBERTSON, J.T. Cytologic evaluation of bronchoalveolar lavage fluid obtained from Standardbred racehorses with inflammatory airway disease. **American Journal of Veterinary Research**, v. 56, p. 562-567, 1995.

NEWTON, J.R., WOOD, J.L.N., SMITH, K.C., MARLIN, D.J., CHANTER, N. Aetiological agents: bacteria. **Proceedings of a workshop on Inflammatory Airway Disease**, v. 9, p. 40-44, 2003.

NYMAN, G. Inflammatory airway disease and gas exchange. **Proceedings of a workshop on Inflammatory Airway Disease: Functional significance**, v.9, p. 75-80, 2003.

PETSCHKE, V., DERKSEN, F., ROBINSON, N. Tidal breathing flow-volume loops in horses with recurrent airway obstruction (heaves). **American Journal of Veterinary Research**, v. 55., p. 885-891, 1994.

PIRIE, R.S., DIXON, P.M., COLLIE, D.D.S., McGORUM, B.C. Pulmonary and systemic effects of inhaled endotoxin in control and heaves horses. **Equine Veterinary Journal**. V. 33, P. 311-318, 2001.

RIIHIMÄKI, M.; LILLIEHÖÖK, I.; RAINE, A.; BERG, M.; PRINGLE, J. Clinical alterations and mRNA levels of IL-4 and IL-5 in bronchoalveolar cells of horses with transient pulmonary eosinophilia. **Research in Veterinary Science**, v. 85, p. 52-55, 2008.

ROBINSON, N. Pathogenesis and management of airway disease. **Proceedings of the Annual Convention of the AAEP**. V. 43, P.106-115, 1997.

ROBINSON, N.E. International Workshop on Equine Chronic Airway Disease Michigan State University. **Equine Veterinary Journal**, v. 33, p. 5-19, 2001.

ROBINSON, N.E., BERNEY, C., DEFEIJTER-RUPP, H., JEFcoat, A.M., CORNELISSE, C., GERBER, V., DERKSEN, F.J. Mucus, cough, airway obstruction and inflammation. **Proceedings of a workshop on Inflammatory Airway Disease: Defining the syndrome**, v.9, p. 13-15, 2003.

ROBINSON, N.E. Tracheal mucus and inflammation: prevalence and consequences in midwestern horses. **Proceedings of the Third World Equine Airways Symposium**, Cornell University, July 20-22, p.45-48, 2005.

ROBINSON, N.E. How horses breathe: the respiratory muscles and the airways. In: MCGORUM, B.C.; DIXON, P.M.; ROBINSON, N.E.; SCHUMACHER, J. **Equine Respiratory Medicine and Surgery**. Philadelphia: Elsevier, 2007, p. 19-31.

RUSH, B.R. Inflammatory airway disease: A clinician's view from North America. **Proceedings of a workshop on Inflammatory Airway Disease: Defining the syndrome**, v.9, p. 3-6, 2003.

RUSH, B.R., GRADY, J.A. Recurrent airway obstruction (heaves). **Compendium Equine**. P. 198-205, 2008.

SÁNCHEZ, A., COUËTIL, L.L., WARD, M.P., CLARK, S.P. Effect of airway disease on blood gas exchange in racehorses. **Journal Veterinary Internal Medicine**, v. 19, p. 87-92, 2005.

SWEENEY, C.R., ROSSIER, Y., ZIEMER, E.L. Effect of prior lavage on bronchoalveolar lavage fluid cell population of lavaged and unlavaged lung segments in horses. **American Journal of Veterinary Research**, v. 55, p. 1501-1504, 1994.

SWEENEY, C.R. Evaluating the lungs. **Proceedings of the Annual Convention of the AAEP**, v. 45, p. 290-293, 1999.

THACKER, E.L. Lung inflammatory responses. **Edition Diffusion Presse Sciences**, v. 37, P. 469-486, 2006.

TILLEY, P., LUIS, J.P.S, FERREIRA, M.B. Correlation and discriminant analysis between clinical, endoscopic, thoracic X-ray and bronchoalveolar lavage fluid cytology scores, for staging horses with recurrent airway obstruction (RAO). **Research in Veterinary Science**, 2011, doi:10.1016/j.rvsc.2011.10.024.

TRAUB-DARGATZ, J.L., MCKINNON, A.O., BRUYNINCKX, W.J. Effect of transportation stress on bronchoalveolar lavage fluid analysis in female horses. **American Journal of Veterinary Research**, v.49, p. 1026-1029, 1988.

VIEL, L. Diagnostic methodologies: RAO and IAD, **World Equine Airways Symposium**, p.176-179, 2009.

WIDDICOMBE, J., SINGH, V. Physiological and pathophysiological down-regulation of cough. **Respiratory Physiology e Neurobiology**, v. 150, P. 105-117, 2006.

WOOD, J.L.N., NEWTON, J.R., SMITH, K.C., MARLIN, D.J. Aetiological agents: viruses and inflammatory airway disease. **Proceedings of a workshop on Inflammatory Airway Disease**, vol. 9, p. 33-36, 2003.

WOODIE, J.B. Evaluation of the upper respiratory tract at rest and during exercise. **Proceedings of the AAEP Annual Convention**, v. 57, p. 1-4, 2011.

ZHANG, H., PORRO, G., ORZECH, N., MULLEN, B., LIU, M., SLUTSKY, A.S. Neutrophil defensin mediate acute inflammatory response and lung dysfunction in dose-related fashion. **American Journal of Physiology – Lung Cellular and Molecular Physiology**, v. 280, p. 947-954, 2001.

## **CAPÍTULO 2**

### **COMPARAÇÃO DE ACHADOS DE EXAMES FÍSICO, ENDOSCÓPICO E CITOLÓGICOS DE LAVADO TRAQUEAL E BRONCOALVEOLAR DE EQUINOS COM E SEM TOSSE**

(Findings of physical examination, airway endoscopy, bronchoalveolar and tracheal wash fluid cytology, of horses with and without cough)

## COMPARAÇÃO ENTRE ACHADOS DE EXAME FÍSICO, ENDOSCÓPICO E CITOLÓGICOS DE LAVADO TRAQUEAL E BRONCOALVEOLAR DE EQUINOS COM E SEM TOSSE

(Comparison between findings of physical examination, airway endoscopy, bronchoalveolar and tracheal wash fluid cytology, of horses with and without cough)

Bruna Dzyekanski<sup>1</sup>; Daniel C. Coatti Rocha<sup>2</sup>; Sandra R. Pepicelli Almeida<sup>2</sup>; João R. Kunz<sup>3</sup>; Cláudia Turra Pimpão<sup>4</sup>; Pedro Vicente Michelotto Junior<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Mestranda em Ciência Animal, Pontifícia Universidade Católica do Paraná (PUCPR),

<sup>2</sup>Aluno de Medicina Veterinária, Pontifícia Universidade Católica do Paraná (PUCPR),

<sup>3</sup>Médico Veterinário Residente em Clínica e Cirurgia de Equinos, Pontifícia Universidade Católica do Paraná (PUCPR),

<sup>4</sup>Professora Doutora. Mestrado em Ciência Animal, Pontifícia Universidade Católica do Paraná (PUCPR),

<sup>5</sup>Professo Doutor. Mestrado em Ciência Animal, Pontifícia Universidade Católica do Paraná (PUCPR)

### Resumo:

O presente estudo visou investigar os achados obtidos em exame clínico de cavalos com e sem tosse, através de histórico, exame físico e lavados traqueal (LT) e broncoalveolar (LBA) de equinos de diversas raças. Foram avaliados 50 cavalos, com idade entre 2 e 16 anos, onde trinta e seis cavalos apresentavam tosse formando o grupo Tosse (GT), e quatorze animais saudáveis que formaram o grupo Sem Tosse (GST). Foram obtidas informações de manejo e após, realizado o exame físico. A avaliação endoscópica foi realizada com especial atenção às quantidades de muco traqueal e neste momento, o LT foi colhido instilando-se 30 mL de solução de cloreto de sódio 0,9% e aspirando em seguida para ser levado ao laboratório para processamento para avaliação citológica. Em seguida, com os cavalos tranquilizados através de injeção de acepromazina e xilazina, obteve-se o LBA utilizando-se um cateter de silicone próprio para equinos, introduzido via nasotraqueal e instilando-se 300 mL de solução de cloreto de sódio 0,9% estéril e pré-aquecida, aspirando-se em seguida e levando-se o conteúdo para processamento em laboratório para avaliação citológica. Na avaliação de LT, o grupo GT apresentou percentual de neutrófilos significativamente maior que o grupo GST ( $44,8 \pm 30,0\%$  vs.  $19,5 \pm 22,9\%$ ,  $P=0,003$ ). Em relação ao LBA, o percentual médio de linfócitos foi significativamente menor no grupo GT em comparação com o grupo GST ( $26,5 \pm 17,0\%$  vs.  $48,8 \pm 14,7\%$ ,  $P=0,017$ ), enquanto que o de neutrófilos foi maior no grupo GT em relação ao grupo GST ( $30,6 \pm 27,6\%$  vs.  $5,0 \pm 4,2\%$ ,  $P < 0,004$ ). Houve coincidência diagnóstica entre a citologia de LT e LBA em 33 (78,6%) cavalos. Assim, considerando-se especificamente o LT dos cavalos que apresentaram inflamação em vias aéreas (26 animais), 23 (88,5%) deles também apresentaram inflamação em LBA (DIVA ou ORVA). Também, de 15 cavalos que tiveram avaliação citológica normal no LT, nove (60,0%) deles tiveram LBA também

normal, quatro (26,7%) tiveram LBA indicando DIVA e 2 (13,3%) ORVA. Mas, não houve correlação entre LT >20% de neutrófilos e LBA >5% ( $p = 0,06$ ) ou >10% de neutrófilos ( $p = 0,19$ ). Adicionalmente, como 3 cavalos evidenciaram 21%, 22,3% e 23,7% de neutrófilos no LT e ao mesmo tempo tiveram <5% de neutrófilos no LBA, no presente estudo propõem-se considerar LT de cavalos normais aqueles com até 24% de neutrófilos. Desta forma, obtém-se correlação positiva entre neutrofilia no LT (>24%) e neutrofilia no LBA (>5%  $p = 0,003$   $r = 0,4412$  e >10%  $p = 0,0375$   $r = 0,3221$ ). Correlação positiva também ocorreu entre as quantidades de muco traqueal  $\geq 2$  e neutrofilia em LT >20% ( $p = 0,03$   $r = 0,3419$ ) e >24% ( $p = 0,010$   $r = 0,3979$ ), e também entre quantidades de muco  $\geq 3$  e neutrofilia em LT >20% ( $p = 0,016$   $r = 0,3732$ ) e >24% ( $p = 0,013$   $r = 0,3850$ ). Com isso, conclui-se que os cavalos que apresentam tosse sofrem de inflamação pulmonar, entretanto, a ausência da tosse não indica ausência da inflamação pulmonar.

**Palavras-chave:** Tosse; Equinos; Inflamação pulmonar; Endoscopia; Broncoalveolar.

### **Abstract:**

This study aimed to investigate the findings obtained in clinical examination of horses with and without cough by history, physical examination and washed tracheal (LT) and bronchoalveolar lavage (BAL) from horses of various breeds. There were 50 horses, aged between 2 and 16 years, where thirty-six horses forming the group had cough cough (GT) and fourteen healthy animals who formed the group No Cough (GST). We obtained information management and after, a physical examination performed. The endoscopic evaluation was performed with particular attention to the quantity of tracheal mucus and at this time, LT was collected by instilling to 30 mL of 0.9% sodium chloride and then aspirating to be taken to the laboratory for processing for cytological evaluation. Then, with horses sedated by injection of xylazine and acepromazine, BAL was obtained using a silicon catheter suitable for horses, and introduced via the nasotracheal instilled with 300 mL of sodium chloride 0.9% sterile, pre-heated, suctioning and then taking the content processing laboratory for cytological evaluation. In the evaluation of LT, the TG group had a significantly higher percentage of neutrophils that GST group ( $44.8 \pm 30.0\%$  vs.  $19.5 \pm 22.9\%$ ,  $P = 0.003$ ). Regarding the LBA, the average percentage of lymphocytes was significantly lower in the TG in comparison with the GST group ( $26.5 \pm 17.0$  vs.  $48.8 \pm 14.7\%$ ,  $P = 0.017$ ), while the of neutrophils was higher in TG compared to the GST group ( $30.6 \pm 27.6\%$  vs.  $5.0 \pm 4.2\%$ ,  $P < 0.004$ ). Correlation between cytology diagnosis of LT and BAL in 33 (78.6%) horses. Thus, considering specifically the LT of the horses that showed inflammation in the airways (26 animals), 23 (88.5%) of them also had inflammation in BAL fluid (or ORVA DIVA). Also, 15 horses had cytological normal LT, nine (60.0%) of them also had normal BAL, four (26.7%) had LBA indicating DIVA and 2 (13.3%) ORVA. But there was no correlation between LT > 20% neutrophils and BAL > 5% ( $p = 0.06$ ) or > 10% neutrophils ( $p = 0.19$ ). In addition, as three horses showed 21%, 22.3% and 23.7% neutrophils and LT in the same time had <5% in BAL neutrophils, in the present study suggest LT be considered normal horse those with up to 24 % neutrophils. Thus, we obtain a positive correlation between neutrophilia in the LT (> 24%) and neutrophils in BAL fluid (> 5%  $p = 0.003$  and  $r = 0.4412$  > 10%  $p = 0.0375$   $r = 0.3221$ ). Tambpem positive correlation occurred between the amounts of tracheal mucus  $\geq 2$  and neutrophilia in LT > 20% ( $r = 0.03$   $p = 0.3419$ ) and > 24% ( $p = 0.010$   $r = 0.3979$ ), and also between quantities sputum

neutrophilia  $\geq 3$  and LT in  $> 20\%$  ( $p = 0.016$   $r = 0.3732$ ) and  $> 24\%$  ( $p = 0.013$   $r = 0.3850$ ). This indicates that the present cough horses suffering from pulmonary inflammation, however, the absence of cough does not indicate the absence of pulmonary inflammation.

**Key-words:** Cough; Equine; Pulmonary Inflammation; Endoscopy; Bronchoalveolar.

## 1 INTRODUÇÃO

A tosse é um mecanismo de expulsão repentina de ar pela glote, com a finalidade de expelir das vias aéreas partículas invasoras. É considerada um dos importantes mecanismos não imunológicos para a proteção e a limpeza das vias aéreas (GERBER, 2008; LEE; BIRRING, 2012).

Apesar de a tosse ser um mecanismo protetor, é um sinal clínico presente nas diversas doenças respiratórias dos cavalos (KOHN, 2004). Nestes casos, além de defesa passa a ser um sinal clínico importante na formulação da suspeita clínica e diagnóstico (CHUNG, 2003). Por outro lado, quando crônica, pode tornar-se prejudicial, interferindo na respiração e na qualidade de vida do animal (LEE; BIRRING, 2012). Com isso, a tosse pode ser vista sob três facetas, podendo ser um mecanismo de proteção das vias aéreas, um sinal de alerta de doença e também algo prejudicial quando persistente (CHUNG, 2003). Tal entendimento sobre a tosse parece servir também aos cavalos, sendo que ela deverá ser rara ou estar ausente em animais saudáveis (ROBINSON, 2007).

A presença de tosse em cavalos já foi associada à inflamação das vias aéreas (BURRELL et al., 1996; McGROUM; DIXON, 2007). No estudo de Christley et al. (2001) a presença da tosse esteve associada à inflamação das vias aérea superiores, contudo, isto não foi comprovado nos estudos de Koblinger et al. (2011) e Silva et al. (2011). Em cavalos Puro Sangue Inglês (PSI) de corrida, a tosse foi associada com a presença de quantidades aumentadas de secreção traqueal (CHRISTLEY et al., 2001; SILVA et al., 2011), com percentual aumentado de neutrófilos na secreção traqueal (CHRISTLEY et al., 2001), com o aumento nas quantidades de macrófagos e diminuição no percentual de linfócitos no lavado broncoalveolar (LBA) (McKANE et al., 1993) e à quantidades maiores que 5% de neutrófilos no LBA (MICHELOTTO JR, 2010).

A doença inflamatória das vias aéreas (DIVA), que acomete especialmente cavalos desportistas, também pode se manifestar através da tosse (COUËTIL et al., 2007). De fato, na DIVA, a tosse durante o exercício ou alimentação foi a principal queixa relatada pelos proprietários (CHRISTLEY e RUSH, 2007) e também esteve associada à quantidades maiores que 5% de neutrófilos no LBA (BENEDICE et al., 2008; MICHELOTTO JR, 2010).

Adicionalmente, a tosse também constitui parâmetro clínico presente em cavalos com obstrução recorrente das vias aéreas (ORVA), quadro inflamatório não séptico das vias aéreas afetando cavalos com mais de sete anos de idade (ROBINSON, 2001). No estudo de Tilley et al. (2011) verificou-se correlação significativa entre a tosse, quantidades aumentadas de muco traqueal, alteração no padrão radiográfico pulmonar e quantidades aumentadas de neutrófilos no LBA.

Apesar do LBA ser o método preferido para a avaliação citológica pulmonar (COUËTIL et al., 2007), o lavado traqueal (LT) descrito inicialmente por Mansmann e Knight (1972) foi recentemente correlacionado com alterações inflamatórias pulmonares (EVANS et al., 2010) e tem sido empregado em alguns estudos recentes (KOBLINGER et al., 2011). Contudo, o significado bem como a correlação entre os achados de exame físico, LT e LBA não foi descrita, bem como os achados nestes três exames em cavalos com e sem tosse.

Portanto, a hipótese do presente estudo é que cavalos com tosse podem estar com inflamação em vias aéreas e que a avaliação envolvendo exame físico, endoscópico e citológico dos lavados traqueal e broncoalveolar, pode resultar em diagnóstico preciso. Assim, o objetivo deste trabalho foi investigar cavalos com tosse, através de exames físico, endoscópico e citológicos de LT e LBA.

## **2 MATERIAL E MÉTODOS**

### **2.1 ANIMAIS**

Foram avaliados cavalos atendidos aleatoriamente apresentando tosse ou não e estes foram separados em dois grupos. Os cavalos avaliados por apresentarem tosse, constituíram o grupo Tosse (GT) e os cavalos considerados

como clinicamente saudáveis, foram avaliados concomitantemente e formaram o grupo sem tosse (GST), para o qual se considerou como fator de exclusão qualquer sinal sugestivo de alguma afecção respiratória ou em outro sistema. Os animais estudados eram empregados em atividades de corrida, hipismo, provas de baliza ou três tambores e trabalhos em lavoura, na região metropolitana de Curitiba, Paraná, Brasil. O presente estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Pontifícia Universidade Católica do Paraná sob o registro número 542.

## 2.2 HISTÓRIA

A história de cada animal foi obtida previamente ao exame físico, e incluiu informações sobre manejo, alimentação, desverminação e vacinação. Além disso, foi feita uma anamnese detalhada de cada cavalo, compreendendo doenças prévias e seus respectivos tratamentos instituídos, além do tempo em que o animal apresentava os sinais clínicos de doenças respiratórias.

## 2.3 EXAME FÍSICO

O exame físico propriamente dito compreendeu a avaliação geral e específica do sistema respiratório (presença de corrimento nasal e aspecto, movimentação das narinas, palpação dos linfonodos submandibulares e retrofaringeanos, movimentação abdominal, auscultação traqueal e pulmonar) (SWEENEY, 1999; VIEL, 2009; WOODIE, 2011). Para isto, os animais foram contidos apenas com cabresto e as avaliações foram feitas sempre pelo mesmo avaliador.

Especificamente com relação à frequência respiratória, considerou-se de 8 a 20 movimentos por minuto, durante a avaliação com o cavalo em repouso, como normal (McGORUM et al., 2002).

## 2.4 EXAME ENDOSCÓPICO E LAVADO TRAQUEAL (LT)

A avaliação endoscópica das vias aéreas foi realizada utilizando-se um colonoscópio Olympus de 180 cm de comprimento e 12 mm de diâmetro. Todos os animais foram avaliados tranquilizados através da administração de acepromazina<sup>1</sup> (0,03 mg/kg, IM) e após 30 minutos, administrou-se de xilazina<sup>2</sup> (0.3 mg/kg, IV). Avaliaram-se as estruturas das vias aéreas superiores e inferiores até a bifurcação da traquéia, com especial interesse à presença de muco no lume traqueal e sua quantificação através de escore de 0 a 5 (GERBER et al., 2004). Com o endoscópio localizado próximo à bifurcação da traquéia, introduziu-se um cateter de polietileno pelo canal de trabalho instilando-se 30 mL de solução de cloreto de sódio 0,9% estéril, imediatamente aspirada (MANSMANN; KNIGHT, 1972). A amostra foi processada sendo centrifugada<sup>3</sup> a 340g (1.300 rpm) por seis minutos e o *pellet* formado foi usado para a confecção das lâminas para a avaliação citológica. As lâminas foram coradas pela técnica de Romanowski<sup>4</sup> e 300 células foram contadas em aumento de 1.000X (HODGSON; HODGSON, 2003).

Considerou-se como dentro da normalidade o Lavado traqueal (LT) com <10% de linfócitos, <1% de eosinófilos e <20% de neutrófilos (ROBINSON, 2003; HODGSON; HODGSON, 2007).

## 2.5 LAVADO BRONCOALVEOLAR (LBA)

O LBA foi obtido utilizando-se um cateter flexível de silicone<sup>5</sup> próprio para equinos, de 300 cm de comprimento e 8 mm de diâmetro. Este foi introduzido via nasotraqueal até se alojar em um brônquio, quando o *cuff* na extremidade distal era inflado com 5-10 mL de ar. Instilou-se 300 mL de solução de cloreto de sódio 0,9% estéril, pré-aquecida a 37<sup>0</sup>C (HOFFMAN, 1999; PICKLES et al., 2002a,b,c; MORI et al., 2003; RIIHIMÄKI et al., 2008b), em alíquotas de 120 mL (HEWSON e VIEL,

---

<sup>1</sup> Acepran 1%, Univet, São Paulo, Brasil;

<sup>2</sup> Sedomin, König, Buenos Aires, Argentina.

<sup>3</sup> Centrífuga Quimis para tubos de 50 mL, São Paulo, Brasil;

<sup>4</sup> Panótico, Laborclin, Pinhais, PR, Brasil;

<sup>5</sup> V-PBAL-300, Cook Vet Products, Hamburg, Alemanha

2002), aspirando-se após cada alíquota e dispensando-se o LBA recolhido em frascos plásticos estéreis mantidos em isopor com gelo até a chegada ao laboratório. Este procedimento foi repetido até completar o volume total de 300 mL. O material recolhido era imediatamente levado ao laboratório para a avaliação em menos de uma hora (PICKLES et al., 2002c; VIEL e HEWSON, 2003). No laboratório, o LBA era centrifugado a 340g (1.300 rpm) por seis minutos e o *pellet* obtido era ressuspenso em 1 mL de solução salina para a contagem do número total de células nucleadas (NTCN) em câmara de Neubauer.

Para a avaliação citológica diferencial do LBA, lâminas para microscopia foram preparadas a partir de 10 µL da suspensão de células distribuídas de forma circular sobre a lâmina, secadas ao ar e coradas com coloração de Romanowski<sup>6</sup> (HEWSON e VIEL, 2002) e 300 células foram contadas em aumento de 1.000X.

Como achado citológico normal para o LBA considerou-se duas opções. Primeiramente, considerou-se normal o LBA contendo em média, 60% de macrófagos, 35% de linfócitos, <5% de neutrófilos, <2% de mastócitos, <1% de eosinófilos (ROBINSON, 2003; MAZAN e HOFFMAN, 2003; RICHARD et al., 2009; MICHELOTTO JR et al., 2010). Em seguida, considerou-se normal o LBA contendo < 1% de eosinófilos, < 2% de mastócitos e < 10% de neutrófilos (KOBLINGER et al., 2011). Os achados citológicos de LBA dos 50 cavalos foram avaliados das duas formas e os resultados estão apresentados separadamente.

Adicionalmente, para efeito de diagnóstico, considerou-se doença inflamatória das vias aéreas (DIVA) o LBA que continha até 20% de neutrófilos e acima deste valor, considerou-se o diagnóstico de obstrução recorrente das vias aéreas (ORVA) (COUËTIL et al., 2007).

## 2.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os achados das avaliações citológicas foram comparados entre os grupos através do teste não paramétrico de Mann Whitney. Em seguida, considerou-se as avaliações dos 50 cavalos estudados para as correlações feitas através de teste de Pearson. As análises foram realizadas usando o software *Graphpad Prism* para

---

<sup>6</sup> Panótico, Laborclin, Pinhais, PR, Brasil.

Windows versão 5.0 (San Diego, USA) e considerou-se o valor de  $p < 0,05$  como significativo. Os resultados estão apresentados como média  $\pm$  desvio padrão da média (SD).

### 3 RESULTADOS

#### 3.1 ANIMAIS E EXAME FÍSICO

Foram avaliados 50 equinos, com idade entre 2 e 16 anos, das raças Brasileiro de Hipismo, Lusitano, Crioulo, Quarto de Milha, Puro Sangue Inglês e mestiços, com peso corporal variando entre 410 e 500 kg. Destes, trinta e seis cavalos foram avaliados por apresentarem tosse, constituindo o grupo Tosse (GT). Os outros quatorze animais foram considerados clinicamente saudáveis e formaram o grupo sem tosse (GST).

Dos 50 cavalos estudados, 16 eram fêmeas e 34 machos, sendo no GT 12 fêmeas e 24 machos e no GST 4 fêmeas e 10 machos. A idade média dos grupos T e ST foi similar ( $10,9 \pm 3,9$  anos vs  $9,9 \pm 3,9$  anos,  $p > 0,05$ ). Todos os cavalos do GST e a maioria dos cavalos do GT ficavam em cocheira na maior parte do dia, saindo somente em período de treinamento por 1 a 2 horas no máximo. Cinco cavalos do GT, utilizados em trabalho em lavoura, eram mantidos soltos todo o tempo.

A frequência cardíaca dos cavalos esteve dentro dos parâmetros de normalidade para os dois grupos. Com relação à frequência respiratória, encontrou-se 14 cavalos do GT acima de 20 movimentos por minuto em comparação a nenhum no GST ( $21,1 \pm 6,3$  movimentos/min vs.  $15,6 \pm 3,4$  movimentos/min,  $p = 0,030$ ).

Adicionalmente, 12 (33,3%) cavalos do GT apresentaram alteração em auscultação pulmonar (crepitação e/ou sibilos) em relação a um (7,1%) cavalo no GST ( $p = 0,05$ ).

### 3.2 EXAME ENDOSCÓPICO E LAVADO TRAQUEAL (LT)

Durante a avaliação endoscópica das vias aéreas todos os animais permitiram a realização do exame e foram tranquilizados com o intuito de se obter maior conforto para os mesmos. Com a introdução do endoscópio na traquéia os cavalos tossiram, mas conforme o endoscópio foi aprofundado, a tosse diminuiu. A avaliação não resultou em achados anormais importantes para quaisquer dos grupos, com relação ao desenvolvimento de folículos linfóides faríngeos ou função laringeana.

Igualmente, a média dos graus de muco traqueal não diferiu entre os grupos ( $2,8 \pm 1,3$  vs.  $2,0 \pm 1,0$ ,  $p = 0,057$ ).

Trinta e um cavalos do GT tiveram avaliação citológica diferencial de LT e este grupo apresentou porcentual de neutrófilos maior que o GST ( $46,4 \pm 30,8\%$  vs.  $19,5 \pm 22,9\%$ ,  $p = 0,003$ ) (TABELA 1). Considerando-se as quantidades de neutrófilos e de eosinófilos no LT para cavalos normais, no GT se encontrou 22 (71,0%) cavalos com LT compatível com inflamação das vias aéreas, sendo 18 (60,0%) cavalos com neutrofilia, dois (6,7%) com eosinofilia e dois (6,7%) deles com ambos. No GST se observou neutrofilia no LT de 4 (28,6%) cavalos.

**TABELA 1** – Resultados (médias  $\pm$  desvio padrão da média) dos principais tipos celulares encontrados nas avaliações citológicas de lavado traqueal (LT) de cavalos com tosse (grupo GT), e saudáveis (grupo GST).

	Macrof	Macrof Multi	Linfoc	Neutrof	Eosino	Mastoc	Céls. Epit
<b>Grupo</b>	34,5	0,2	13,5	19,5	0,5	0,025	31,8
<b>GST</b>	$\pm 14,5$	$\pm 0,3$	$\pm 4,8$	$\pm 23,0$	$\pm 0,9$	$\pm 0,09$	$\pm 25,0$
<b>Grupo</b>	26,2	0,3	10,9	46,4	$4,2 \pm$	0,2	$11,8 \pm$
<b>GT</b>	$\pm 16,8$	$\pm 0,6$	$\pm 5,6$	$\pm 30,8^{\text{¶}}$	13,2	$\pm 0,4$	$16,1^{\text{£}}$

Macrof, macrófagos; Macrof Multi, macrófagos multinucleados; Linfoc, linfócitos; Neutrof, neutrófilos; Eosino, eosinófilos; Mastoc, mastócitos; Céls Epit, células epiteliais.

$^{\text{¶}}p = 0,003$  e  $^{\text{£}}p = 0,015$  vs. grupo C.

Adicionalmente, se observou o porcentual de células epiteliais significativamente menor no GT em relação ao GST ( $11,8 \pm 16,1\%$  vs.  $31,8 \pm 25\%$ ,  $p=0,003$ ) (TABELA 1).

### 3.3 LAVADO BRONCOALVEOLAR (LBA)

O LBA ocorreu de sem eventualidades, onde os animais estavam tranquilizados e aceitaram bem a introdução da sonda nasotraqueal. Todos tossiram no momento que a sonda ultrapassou a carina mas logo acalmaram com o início da instilação da solução salina. Na contagem do NTCN no LBA não se encontrou diferença entre os grupos estudados.

Na avaliação citológica diferencial, o percentual médio de linfócitos foi menor no GT em relação ao GST ( $25,8 \pm 17,3\%$  vs.  $48,8 \pm 14,7\%$ ,  $p = 0,004$ ). Contudo, o GT evidenciou percentual de neutrófilos maior em relação ao GST ( $30,3 \pm 27,3\%$  vs.  $5,0 \pm 4,2\%$ ,  $p = 0,001$ ) (TABELA 2).

**TABELA 2** - Resultados (médias  $\pm$  desvio padrão da média) dos principais tipos celulares encontrados nas avaliações citológicas de lavado broncoalveolar (LBA) de cavalos com tosse (grupo GT) e saudáveis (grupo GST).

	Macrof	Macrof Multi	Linfoc	Neutrof	Eosino	Mastoc
<b>Grupo</b>	44,9	0,2	48,8	5,0	0,3	0,1
<b>GST</b>	$\pm 14,4$	$\pm 0,5$	$\pm 14,7$	$\pm 4,2$	$\pm 0,5$	$\pm 0,3$
<b>Grupo</b>	40,2	0,7	25,8	30,3	2,9	0,1
<b>GT</b>	$\pm 17,8$	$\pm 1,0$	$\pm 17,3^{\text{¶}}$	$\pm 27,3^{\text{£}}$	$\pm 7,4$	$\pm 0,3$

Macrof, macrófagos; Macrof Multi, macrófagos multinucleados; Linfoc, linfócitos; Neutrof, neutrófilos; Eosino, eosinófilos; Mastoc, mastócitos.

$^{\text{¶}}p = 0,004$  e  $^{\text{£}}p = 0,001$  vs. grupo C.

Considerando como normal o LBA com  $<1\%$  de eosinófilos e  $<5\%$  de neutrófilos, no GT, 31 (86,1%) cavalos evidenciaram neutrofilia, eosinofilia ou ambos. Especificamente, 20 (64,5%) deles tiveram neutrofilia, três (9,7%) eosinofilia e oito (25,8%) com ambos, sendo que cinco (13,9%) deles tiveram resultados de citologia dentro dos valores considerados para cavalos normais. Adicionalmente, cinco (35,7%) dos cavalos avaliados no GST apresentaram quantidades de neutrófilos e/ou eosinófilos aumentadas.

Considerando-se os resultados de citologia de LBA para diagnóstico das principais afecções inflamatórias pulmonares dos cavalos avaliados, no GT houve 14

(38,9%) cavalos com DIVA e 17 (47,2%) com ORVA. No GST, os 5 cavalos com aumento de células inflamatórias em LBA foram considerados como DIVA.

Analisando-se conjuntamente os 50 cavalos estudados, obteve-se análise conjunta de LT e de LBA para 42 deles. Considerando-se os diagnósticos de inflamação em vias aéreas (<20% de neutrófilos e/ou <1% de eosinófilos) ou normal, para o LT e, inflamação pulmonar (DIVA ou ORVA) ou normal, para o LBA, houve coincidência diagnóstica entre a citologia de LT e LBA em 33 (78,6%) cavalos. Assim, considerando-se especificamente o LT dos cavalos que apresentaram inflamação em vias aéreas (26 animais), 23 (88,5%) deles também apresentaram inflamação em LBA (DIVA ou ORVA). Também, de 15 cavalos que tiveram avaliação citológica normal no LT, nove (60,0%) deles tiveram LBA também normal, quatro (26,7%) tiveram LBA indicando DIVA e 2 (13,3%) ORVA.

Entretanto, também se avaliou os resultados dos 50 cavalos estudados considerando o LBA com <5% de neutrófilos e posteriormente com <10% de neutrófilos, como normais. Desta forma, no presente estudo não houve correlação entre LT >20% de neutrófilos e LBA >5% ( $p = 0,06$ ) ou >10% de neutrófilos ( $p = 0,19$ ). Adicionalmente, como 3 cavalos evidenciaram 21%, 22,3% e 23,7% de neutrófilos no LT e ao mesmo tempo tiveram <5% de neutrófilos no LBA, no presente estudo propõem-se considerar LT de cavalos normais aqueles com até 24% de neutrófilos. Desta forma, obtém-se correlação positiva entre neutrofilia no LT (>24%) e neutrofilia no LBA (>5%  $p = 0,003$   $r = 0,4412$  e >10%  $p = 0,0375$   $r = 0,3221$ ).

Outrossim, houve correlação positiva entre as quantidades de muco traqueal  $\geq 2$  e neutrofilia em LT >20% ( $p = 0,03$   $r = 0,3419$ ) e >24% ( $p = 0,010$   $r = 0,3979$ ), e também entre quantidades de muco  $\geq 3$  e neutrofilia em LT >20% ( $p = 0,016$   $r = 0,3732$ ) e >24% ( $p = 0,013$   $r = 0,3850$ ). Não houve correlação entre quantidades aumentadas de muco traqueal e neutrofilia em LBA.

Considerando-se a presença do eosinófilos em LT e LBA, iniciando pela avaliação de LT, quatro cavalos (dois em cada grupo) apresentaram porcentual de eosinófilos igual a 1,0%, 1,7%, 2,4% e 2,3% enquanto tiveram respectivamente, 0,3%, 0%, 0,3% e 1,0% de eosinófilos no LBA. As quantidades de neutrófilos que estes mesmos cavalos apresentaram foi respectivamente de 5,7%, 13,3%, 21,0%, 15,6% em LT e 0%, 13,3%, 4,0% e 4,6% no LBA, ainda, seis outros cavalos (cinco do GT e um do GST) apresentaram >1% de eosinófilos no LBA, variando entre 1,3% e 5,7% e, tiveram quantidade de eosinófilos que variou entre 0% e 0,3% no LT.

Destes seis cavalos, quatro deles também tiveram neutrofilia (>20%) em LT e todos apresentaram neutrofilia (>5%) em LBA, sendo quatro diagnosticados com DIVA e dois com ORVA.

Contudo, três cavalos apresentaram 24%, 59% e 39% de eosinófilos no LT enquanto tiveram 22%, 26% e 30,6% de eosinófilos no LBA, respectivamente.

## 4 DISCUSSÃO

O estudo do significado da tosse em cavalos tem sido realizado de diferentes maneiras e abordando-se diferentes e específicos aspectos. No presente estudo, procurou-se avaliar a tosse com uma abordagem clínica e laboratorial ao alcance da maioria dos médicos veterinários de equinos, em cavalos de diversas idades, raças, origens e atividades, que tinham em comum a reclamação por parte de seus responsáveis da presença de tosse persistente. Apesar de haver um sinal clínico consistente entre os cavalos estudados, procurou-se conduzir, de forma aleatória, as mesmas avaliações em cavalos clinicamente normais, independente de origem, raça ou atividade. Assim, o resultado foi dois grupos de idade média similar onde pode-se determinar que cavalos com tosse apresentam inflamação de vias aéreas.

A grande maioria dos cavalos avaliados no presente estudo eram mantidos em manejo intensivo em cocheiras, e desta forma expostos a alérgenos ambientais oriundos da cama e do feno conforme demonstrado em estudos prévios (WOODS et al., 1993; CLEMENTS; PIRIE, 2007; BERNDT et al., 2008). Em cavalos Puro Sangue Inglês de corrida em treinamento, houve associação entre a tosse e a inflamação das vias aéreas inferiores, e envolvimento de agentes infecciosos bacterianos (BURREL et al., 1996; HUGHES et al., 2011). Não se realizou cultura bacteriana dos cavalos avaliados no presente estudo, apesar de que nenhum deles apresentava apatia ou febre na avaliação clínica (dados não demonstrados) como sinais de infecção e, se encontravam em plena atividade. Estas informações corroboram com a definição do caráter não séptico das principais doenças pulmonares inflamatórias dos cavalos, DIVA e ORVA (ROBINSON, 2001; COUËTIL et al., 2007). Contudo, cinco cavalos do grupo T eram mantidos a campo e foram avaliados nos meses de abril, maio e início de junho (outono) devido a quadro iniciado no momento ou pouco (verão). Com relação à avaliação citológica de LBA

destes cavalos, três deles apresentaram ORVA, e poderia se tratar de ORVA associada à pastagem, e dois tinham DIVA.

No exame físico, se encontrou 14 cavalos com frequência respiratória acima de 20 movimentos por minuto no grupo T, sendo que 9, 4 e um deles apresentavam citologia de LBA compatível com ORVA, DIVA e normal, respectivamente. Contudo, os demais cavalos apresentaram parâmetros clínicos compatíveis com valores de normalidade, evidenciando a importância do exame físico mas que mesmo assim, muitos cavalos com doença pulmonar poderão não evidenciar alterações importantes em exame físico, visto que somente 12 dos cavalos com tosse apresentaram alteração em auscultação pulmonar. Portanto, demonstrando a importância de se associar técnicas complementares para diagnóstico das afecções respiratórias, como a endoscopia e a citologia das secreções das vias aéreas.

No exame endoscópico das vias aéreas superiores, não se encontrou alterações em quaisquer dos grupos. A tosse pode ter relação com a inflamação das vias aéreas superiores em pessoas (LEE; BIRRING, 2012) e a afecção inflamatória das vias aéreas superiores dos cavalos, a hiperplasia folicular linfóide (HFL), esteve presente em graus mais elevados em cavalos com tosse no estudo de Christley et al. (2001). A HFL não teve importância nos animais com tosse avaliados no presente estudo, possivelmente por estar presente em graus mais elevados em cavalos jovens (SILVA et al., 2011; KAISELER et al., 2012) e praticamente inexistindo a partir dos 6 anos de idade (HOBBO et al., 1995).

Contudo, com relação aos graus de muco traqueal, apesar de não se ter observado diferença entre as médias dos grupos, os cavalos do GST não apresentaram graduação de muco  $>3$ , enquanto no GT se encontrou cavalos com graus 4 e 5. De fato, no estudo de Widmer et al. (2009), cavalos de hipismo que tiveram graduação de muco traqueal  $\geq 3$  foram os que apresentaram menor disposição ao trabalho. No estudo de Silva et al. (2011), por sua vez, 81,7% dos cavalos Puro Sangue Inglês de corrida avaliados por causa da tosse tiveram muco traqueal  $\geq 2$ . Adicionalmente, quantidades de muco traqueal  $\geq 2$  chegaram a interferir no rendimento desportivo de cavalos de corrida (HOLCOMBE et al., 2006). Provavelmente os níveis de intensidade de exercício possam ter influenciado na manifestação clínica nos cavalos nos estudos citados. Portanto, o presente estudo utilizou ambas as informações para graduação aumentada de muco traqueal ( $\geq 2$  e  $\geq 3$ ) para avaliar a correlação do aumento da quantidade de muco com os achados citológicos.

O LT traqueal foi a técnica citológica inicialmente utilizada para diagnóstico de inflamação das vias aéreas nos cavalos do presente estudo e, apesar de não caracterizar as doenças inflamatórias como a DIVA ou a ORVA (ROBINSON, 2001; COUËTIL et al., 2007) é especialmente útil por ser de fácil realização e conter secreções provenientes de várias regiões da árvore brônquica (HODGSON; HODGSON, 2007; MICHELOTTO JR et al., 2007a). No GT se observou aumento na quantidade relativa de neutrófilos em relação ao GST, além da quantidade média de neutrófilos ser maior que os 20% considerados para cavalos normais. Esta informação é o primeiro achado demonstrando que os cavalos com tosse no presente estudo apresentavam inflamação em vias aéreas. Contudo, 4 cavalos do GST, apesar de não apresentarem sinais clínicos, tiveram mais de 20% de neutrófilos no LT, como ocorreu no estudo de Robinson et al.(2006) onde 70% dos cavalos de montaria assintomáticos tiveram >20% de neutrófilos no LT. Neste estudo, os autores propuseram que se utilizasse um valor para a quantidade de neutrófilos no LT >20% para cavalos normais, mas não sugeriram um número. No presente estudo, como três dos cavalos avaliados (2 no grupo GT e 1 no grupo GST) tiveram mais que 20% e menos que 24% de neutrófilos no LT e tiveram porcentual de neutrófilos no LBA <5%, nós propomos o valor de 24% para a quantidade máxima de neutrófilos no LT de cavalos normais, e sugerimos a utilização deste valor em novos estudos a fim de se comprovar a validade do mesmo. Corroborando, Michelotto Jr et al. (2007b) avaliou 27 cavalos Quarto de Milha considerados saudáveis, entre 3 a 13 anos de idade após prova de três tambores, através de endoscopia e citologia traqueal, encontrando uma média de neutrófilos de 23,1%.

Na avaliação citológica diferencial do LBA, o aumento do porcentual de neutrófilos no GT em relação ao GST evidenciou inflamação pulmonar nos cavalos com tosse. Além disso, o porcentual médio de neutrófilos no LBA do GT foi superior aos 5% considerados para cavalos normais (HOFFMAN, 1999; MICHELOTTO JR et al., 2010) e 10% (KOBLINGER et al., 2011). Isto corrobora com os achados em potros Puro Sangue Inglês de corrida em treinamento os quais tiveram tosse e >5% de neutrófilos no LBA (MICHELOTTO JR, 2010). Além disso, cavalos desportistas de várias atividades e que apresentavam rendimento reduzido em trabalho, tiveram tosse associada à >5% de neutrófilos no LBA (BEDENICE et al., 2009).

A tosse é um sinal clínico comum às doenças respiratórias dos cavalos, mas não é específico, e pôde-se observar isso no presente estudo onde os cavalos do

GT tiveram diagnósticos de DIVA e ORVA e em quantidade semelhante. Contudo, apesar da tosse ser sinal clínico importante no diagnóstico da DIVA, esta afecção nem sempre pode ter manifestação clínica evidente, e isto também foi observado no presente estudo, já que se evidenciaram cinco cavalos com DIVA no GST. Três deles apresentavam neutrofilia também no LT, um teve LT com citologia dentro da normalidade e o quinto não teve avaliação do LT. Assim, enfatiza-se o emprego da avaliação citológica das secreções respiratórias para o diagnóstico da DIVA. Contudo, para a ORVA, Tilley et al. (2011) evidenciaram que a tosse esteve associada a escores aumentados de muco traqueal bem como a porcentuais elevados de neutrófilos no LBA.

Com relação à observação de eosinófilo nas secreções respiratórias, pode-se tratar de um achado transitório, mesmo repetindo-se avaliações após 24 h (VIEL; HEWSON, 2003). No presente estudo, não se encontrou correlação entre a observação de eosinofilia (>1%) em LT e LBA. Para os cavalos que apresentaram entre >1% e <2,3% de eosinófilos em LT, a quantidade de eosinófilos no LBA foi normal, assim como a quantidade de neutrófilos em LT e, somente um deles teve neutrofilia em LBA compatível com DIVA. O inverso também ocorreu, pois os cavalos com eosinofilia no LBA não tiveram eosinofilia em LT. Entretanto, estes últimos apresentaram neutrofilia em LT e também em LBA, e apesar da DIVA poder se manifestar através de uma inflamação pulmonar mista (COUËTIL et al., 2007), quatro destes foram diagnosticados com DIVA mas dois apresentaram ORVA. A eosinofilia em LBA foi associada à hiperresponsividade de vias aéreas em cavalos Puro Sangue Inglês de corrida jovens (HARE; VIEL, 1998). No presente estudo, pode-se dizer que a eosinofilia no LBA dos cavalos avaliados esteve associada à neutrofilia, na DIVA ou ORVA.

Adicionalmente, três cavalos avaliados no GT tiveram eosinofilia em LT que variou entre 24% e 59% e nestes, houve confirmação no LBA. Possivelmente, a eosinofilia mais acentuada nestes cavalos se devesse à resposta alérgica, já que eram cavalos de equitação sem o convívio com asininos ou muares, mas não se pode descartar a participação de parasitas pulmonares, pois este fator não foi controlado no presente estudo.

## 5 CONCLUSÃO

No presente estudo, com a associação de exame físico, endoscópico, análise do muco traqueal e das citologias de LT e LBA concluiu-se que cavalos com tosse apresentam inflamação nas vias aéreas em diferentes níveis. Entretanto, uma vez que houve alguns cavalos com porcentual de neutrófilos em vias aéreas um pouco acima, porém, muito próximos do valor de referência para cavalos normais <20% no LT e ao mesmo tempo tiveram <5% de neutrófilos no LBA este valor deve ser aumentado para 24%, como a quantidade relativa de neutrófilos para o LT de cavalos normais, para melhor um diagnóstico mais preciso.

## 6 REFERÊNCIAS

BEDENICE, D.; MAZAN, M.R.; HOFFMAN, A.M. Association between cough and cytology of bronchoalveolar lavage fluid and pulmonary function in horses diagnosed with inflammatory airway disease. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 22, p. 1022-1028, 2008.

BERNDT, A.; DERKSEN, F.J.; ROBINSON, N.E. Endotoxin concentrations within the breathing zone of horses are higher in stables than on pasture. **The Veterinary Journal**, 2008.

BURRELL, M.H.; WOOD, J.L.; WHITWELL, K.E.; CHANTER, N.; MACKINTOSH, M.E.; MUMFORD, J.A. Respiratory disease in thoroughbred horses in training: the relationship between disease and viruses, bacteria and environment. **Veterinary Record**, v. 139, n. 13, p. 308-313, 1996.

CHRISTLEY, R.M., HODGSON, D.R., ROSE, R.J., HODGSON, J.L., WOOD, J.L.N., REID, S.W.J. Coughing in thoroughbred racehorses: risk factors and tracheal endoscopic and cytological findings, **The Veterinary Record**, v.148, p. 99-104, 2001.

CHRISTLEY, R., RUSH, B.R. Inflammatory airway disease. In: MCGORUM, B.C., DIXON, P.M., ROBINSON, N.E., SCHUMACHER, J.(Eds). **Equine Respiratory Medicine and Surgery**. Saunders, 2007, p. 591-600.

CHUNG, K.F., The clinical and pathophysiological challenge of cough. In: CHUNG, K.F., WIDDICOMBE, J.G., BOUSHEY, H.A. **Cough: Causes, Mechanisms and Therapy**. 1.ed. p. 3-10. 2003.

CLEMENTS, J.M., PIRIE, R.S. Respirable dust concentrations in equine stables. Part 1: Validation of equipment and effect of various management systems. **Research in Veterinary Science**, v. 83, p. 256-262, 2007.

CLEMENTS, J.M., PIRIE, R.S. Respirable dust concentrations in equine stables. Part 2: The benefits of soaking hay and optimising the environment in a neighbouring stable. **Research in Veterinary Science**, v. 83, p. 263-268, 2007.

COUËTIL, L.L., HOFFMAN, A.M., HODGSON, J.; BUECHNER-MAXWELL, V.; VIEL, L.; WOOD, J.L.N.; LAVOIE, J.P. Inflammatory airway disease of horses. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 21, p. 356-361, 2007.

EVANS, D.L., KIDDELL, L., SMITH, C.L. Pulmonary function measurements immediately after exercise are correlated with neutrophil percentage in tracheal aspirates in horses with poor racing performance. **Research in Veterinary Science**, 2010, DOI:10.1016/J.RVSC.2010.07.003.

GERBER, V., STRAUB, R., MARTI, E., HAUPTMAN, J., HERHOLZ, C., KING, M., IMHOF, A., TAHON, L., ROBINSON, N.E. Endoscopic scoring of mucus quantity and quality: observer and horse variance and relationship to inflammation, mucus viscoelasticity and volume. **Equine Veterinary Journal**, v. 36, p. 576-582, 2004

GERBER, V. Chronic cough. **Proceedings of the 10<sup>th</sup> International Congress of World Equine Veterinary Association**, p. 55-57, 2008.

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

HEWSON, J., VIEL, L. Sampling, microbiology and cytology of the respiratory tract. In: LEKEUX, P. **Equine Respiratory Diseases**. Ithaca: International Veterinary Information Service, 2002. Disponível em <[http://www.ivis.org/special\\_books/Lekeux/viel/chapter\\_frm.asp?LA=1](http://www.ivis.org/special_books/Lekeux/viel/chapter_frm.asp?LA=1)>. Acesso 20out2010.

HOBO, S.; MATSUDA, Y.; YOSHIDA, K. Prevalence of Upper Respiratory Tract Disorders detected with a flexible videoendoscope in Thoroughbred racehorses. *The Journal of Veterinary Medical Science*, v. 57, n.3, p.409-413, 1995.

HODGSON, J.L.; HODGSON, D.R. Tracheal aspirates: indications, technique, and interpretation. In: ROBINSON, N.E. **Current Therapy in Equine Medicine**, 5.ed. St. Louis: Saunders, 2003, p. 401-407.

HODGSON, J.L.; HODGSON, D.R. Collection and analysis of respiratory tract samples. In: MCGORUM, B.C.; DIXON, P.M.; ROBINSON, N.E.; SCHUMACHER, J. **Equine Respiratory Medicine and Surgery**, Philadelphia: Saunders Elsevier, 2007, p. 119-150.

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

HOLCOMBE, S.J., ROBINSON, N.E., DERKSEN, F.J., BERTOLD, B., GENOVESE, R., MILLER, R., DE FEITER RUPP, H., CARR, E.A., EBERHART, S.W., BORUTA, D., KANEENE, J.B. Effect of tracheal mucus and tracheal cytology on racing performance in Thoroughbred racehorses. **Equine Veterinary Journal**, v. 38, p. 300–304, 2006.

HUGHES, K.J., NICOLSON, L., COSTA, N., FRANKLIN, S.H., ALLEN, K.J., DUNHAM, S.P. Evaluation of cytokine mRNA expression in bronchoalveolar lavage cells from horses with inflammatory airway disease, **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v.140, p. 82-89, 2011.

KAISELER, P.H.; DZYEKANSKI; SCHIEFELBEIN, R.; SILVEIRA, R.G.; PIMPÃO, C.T.; MICHELOTTO JR, P.V. Upper airway evaluations of Thoroughbred racehorses in a private clinic in Curitiba, Brazil – resting endoscopic findings in 587 horses. **Archives of Veterinary Science**, v.17, n.1, 2012.

KOBLINGER, K., NICOL, J., McDONALD, K., WASKO, A., LOGIE, N., WEISS, M., LÉGUILLETTE, R. Endoscopic assessment of airway inflammation in horses. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 25, n. 5, p. 1118-1126, 2011.

KOHN, C.J. Cough. In: REED, S.M., BAYLY, W.M., SELTON, D.C. (Org.) **Equine Internal Medicine**, 2 ed., 2004, P. 142-148.

LEE, K.K., BIRRING, S.S. Cough. **Medicine**, v.40, n.4, p. 173-176, 2012.

MANSMANN, R.A.; KNIGHT, H.D. Transtracheal aspiration in the horse. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v.160, n.11, p.1527-1529, 1972.

MAZAN, M.R., HOFFMAN, A.M. Clinical techniques for diagnosis of inflammatory airway disease in the horse. **Clinical Techniques in Equine Practice**, v.2, n.3, p. 238-257, 2003.

McGORUM, B.C.; DIXON, P.M. Clinical examination of the respiratory tract. In: McGORUM, B.C.; DIXON, P.M.; ROBINSON, N.E.; SCHUMACHER, J. **Equine Respiratory Medicine and Surgery**. Philadelphia: Elsevier, 2007, p. 103-117.

McGORUM, B.C.; DIXON, P.M.; RADOSTITS, O.M.; ABBOTT, J.A. Exame Clínico do Trato Respiratório. In: RADOSTITS, O.M.; MAYHEW, I.G.; HOUSTON, D.M. **Exame Clínico e Diagnóstico em Veterinária**. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan, 2002, p.231-269.

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

MICHELOTTO JR., P.V.; BONFÁ, A.F.; MACHADO, C.D.; DECONTO, I.; CRUZ, L.A. Evidence of lower respiratory airway inflammation in healthy Thoroughbred yearlings before starting training. **Archives of Veterinary Science**, v.11, n.3, p.26-31, 2007a.

MICHELOTTO JR, P.V.; BIAVA, J.S.; GONÇALVES, R.C.; CASSOU, F.; BONFÁ, A.F.; MACHADO, C.D. Aspirado traqueal de cavalos clinicamente sadios da raça Quarto de Milha após prova de três tambores. **Archives of Veterinary Science**, v.12, n.2, p.1-7, 2007b.

MICHELOTTO JR, P.V. **Efeitos do desafio ambiental e do exercício na funcionalidade dos macrófagos do lavado broncoalveolar de cavalos puro sangue inglês de corrida** (Tese de Doutorado). Curitiba: UFPR, 2010. 113 p.

MICHELOTTO JR, P.V.; MUEHLMANN, L.A.; ZANATTA, A.L.; BIEBERBACH, E.W.R.; FERNANDES, L.C.; NISHIYAMA, A. Platelet-activating factor and evidence of oxidative stress in the bronchoalveolar fluid of Thoroughbred colts during race training. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v.24, p.414-419, 2010.

MORI, E.; MORI, C.M.C.; DELLA LIBERA, A.M.M.P.; LARA, M.C.C.S.H.; FERNANDES, W.R. Evaluation of alveolar macrophage function after experimental infection with equine herpesvirus-1 in horses. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 55, n. 3, p. 271-278, 2003.

PICKLES, K.; PIRIE, R.S.; RHIND, S.; DIXON, P.M.; McGORUM, B.C. Cytological analysis of equine bronchoalveolar lavage fluid. Part 1: comparison of sequential and pooled aliquots. **Equine Veterinary Journal**, v. 34, n. 3, p. 288-291. 2002a.

PICKLES, K.; PIRIE, R.S.; RHIND, S.; DIXON, P.M.; McGORUM, B.C. Cytological analysis of equine bronchoalveolar lavage fluid. Part 2: comparison of smear and cytocentrifuged preparations, **Equine Veterinary Journal**, v. 34, n. 3, p. 292-296. 2002b.

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

RICHARD, E.A., FORTIER, G.D., DENOIX, J.M., ART, T., LEKEUX, P.M., VAN ERCK, E. Influence of subclinical inflammatory airway disease on equine respiratory function evaluated by impulse oscillometry. **Equine Veterinary Journal**, v. 41, p. 384-389, 2009.

RIIHIMÄKI, M.; LILLIEHÖÖK, I.; RAINE, A.; BERG, M.; PRINGLE, J. Clinical alterations and mRNA levels of IL-4 and IL-5 in bronchoalveolar cells of horses with transient pulmonary eosinophilia. **Research in Veterinary Science**, v. 85, p. 52-55, 2008.

ROBINSON, N.E. International Workshop on Equine Chronic Airway Disease. **Equine Veterinary Journal**, v.33, n.1, p.5-19, 2001.

ROBINSON, N.E., BERNEY, C., DEFEIJTER-RUPP, H., JEFCOAT, A.M., CORNELISSE, C., GERBER, V., DERKSEN, F.J. Mucus, cough, airway obstruction and inflammation. **Proceedings of a workshop on Inflammatory Airway Disease: Defining the syndrome**, v.9, p. 13-15, 2003.

ROBINSON, N.E., KARMAUS, W., HOLCOMBE, S.J., CARR, E.A., DERKSEN, F.J. Airway inflammation in Michigan pleasure horses: prevalence and risk factors. **Equine Veterinary Journal**, v. 38, p. 293–299, 2006.

ROBINSON, N.E. How horses breathe: the respiratory muscles and the airways. In: MCGORUM, B.C.; DIXON, P.M.; ROBINSON, N.E.; SCHUMACHER, J. **Equine Respiratory Medicine and Surgery**. Philadelphia: Elsevier, 2007, p. 19-31.

SILVA, M.M.; SILVEIRA, R.G.; KAISELER, P.H.; PIMPÃO, C.T.; MICHELOTTO JÚNIOR, P.V. Achados de exames endoscópicos em vias aéreas de cavalos de corrida da raça Puro Sangue Inglês e sua relação com a tosse. **Revista Acadêmica Ciências Agrárias e Ambientais**, v. 9, p. 403-406, 2011

SWEENEY, C.R. Evaluating the lungs. **Proceedings of the Annual Convention of the AAEP**, v. 45, p. 290-293, 1999.

TILLEY, P., LUIS, J.P.S, FERREIRA, M.B. Correlation and discriminant analysis between clinical, endoscopic, thoracic X-ray and bronchoalveolar lavage fluid cytology scores, for staging horses with recurrent airway obstruction (RAO). **Research in Veterinary Science**, 2011, doi:10.1016/j.rvsc.2011.10.024.

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

VIEL, L. Diagnostic methodologies: RAO and IAD, **World Equine Airways Symposium**, p.176-179, 2009.

WIDMER, A.; DOHERR, M.G.; TESSIER, C.; KOCH, C.; RAMSEYER, A.; SATRAUB, R.; GERBER, V.; Association of increased tracheal mucus accumulation

with poor willingness to perform in show-jumpers and dressage horses. **The Veterinary Journal**, v. 182, p. 430-435, 2009.

WOODIE, J.B. Evaluation of the upper respiratory tract at rest and during exercise. **Proceedings of the AAEP Annual Convention**, v. 57, p. 1-4, 2011.

WOODS, P.S., ROBINSON, N.E., SWANSON, M.C., REED, C.E., BROADSTONE, R.V., DERKSEN, F.J. Airborne dust and aeroallergen concentration in a horse stable under two different management systems. **Equine Veterinary Journal**, v. 25, p. 208-213, 1993.