



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

FLÁVIA NESI MARIA

**AVALIAÇÃO ENDOSCÓPICA E PERFIL CITOLÓGICO DO
ASPIRADO TRAQUEOBRONQUIAL DE EQUINOS DA
REGIÃO METROPOLITANA DE LONDRINA**

Londrina
2019

FLÁVIA NESI MARIA

**AVALIAÇÃO ENDOSCÓPICA E PERFIL CITOLÓGICO DO
ASPIRADO TRAQUEOBRONQUAL DE EQUINOS DA
REGIÃO METROPOLITANA DE LONDRINA**

Dissertação apresentada ao Departamento de Clínicas Veterinárias do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Estadual de Londrina, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Clínicas Veterinárias.

Orientador: Prof. Dr. Augusto José Savioli de Almeida Sampaio

Londrina
2019

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UEL

Maria, Flávia Nesi.

Avaliação endoscópica e perfil citológico do aspirado traqueobronquial de equinos da região metropolitana de Londrina. / Flávia Nesi Maria. - Londrina, 2019.
56 f. : il.

Orientador: Augusto José Savioli de Almeida Sampaio.

Dissertação (Mestrado Profissional em Clínicas Veterinárias) - Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Clínicas Veterinárias, 2019.

Inclui bibliografia.

1. Equinos - Tese. 2. Endoscopia - Tese. 3. Aspirado traqueal - Tese. 4. Citologia - Tese. I. Sampaio, Augusto José Savioli de Almeida. II. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em Clínicas Veterinárias. III. Título.

FLÁVIA NESI MARIA

**AVALIAÇÃO ENDOSCÓPICA E PERFIL CITOLÓGICO DO ASPIRADO
TRAQUEOBRONQUIAL DE EQUINOS DA REGIÃO
METROPOLITANA DE LONDRINA**

Dissertação apresentada ao Departamento de Clínicas Veterinárias do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Estadual de Londrina, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Clínicas Veterinárias.

BANCA EXAMINADORA

Orientador: Prof. Dr. Augusto J. S. A. Sampaio
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Prof^a. Dr^a. Janis Regina Messias Gonzales
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Prof^a. Dr^a. Priscilla Fajardo V. Pereira
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Londrina, 21 de janeiro de 2019.

AGRADECIMENTOS

A DEUS por permitir chegar até aqui!

Gratidão imensa a minha família, Pai, Mãe e Ludmila, que me deram suporte financeiro, emocional, espiritual, técnico e tudo o que foi necessário para que pudesse concluir esta fase, sem nunca medir esforços para que isso fosse possível, obrigada por todo o cuidado e carinho que sempre me trataram, fazendo das minhas escolhas uma prioridade para que tudo acontecesse! A Mari, que também faz parte da família, por todo o cuidado e preocupação que tem comigo. A todos os familiares que estiverem torcendo para que esse ciclo terminasse com sucesso.

Em especial, com muito carinho, ao Maicon por me fazer encarar esse desafio, pela paciência de Buda em estar ao meu lado, pelas coisas supérfluas e essenciais que me proporciona, por assumir diversas funções, quando não, duas ao mesmo tempo, que ajudaram a resolver os problemas que surgiram no meio do caminho, mas principalmente por acreditar na minha evolução e por se tornar companheiro de crescimento pessoal e profissional. Espero que outras conquistas venham ao seu lado.

Não posso deixar de agradecer com muito gosto a família que adquiri ao longo do tempo, Denis, Lívia Mell e Eliene, além de Claudia e Pedro que abriram as portas da casa, deixando um lugar especial para me acolher quando cheguei à Londrina. Todos foram fundamentais nesse processo, obrigada pelos almoços, passeios, conversas, distrações, conselhos e todo suporte presencial sempre que precisei. Vocês foram substanciais.

Ao Prof. Dr. Augusto J. S. de A. Sampaio pelo tempo direcionado na realização deste trabalho. Ao projeto A.M.I.G.A. e sua coordenação por fornecer os recursos necessários para execução.

Aos alunos de graduação do curso de medicina veterinária da UEL e da UniFil e aos colaboradores externos que disponibilizaram seu tempo para que as coletas fossem possíveis.

Aos que ajudaram a encontrar os animais necessários para esse trabalho M.V. Daniela B. Becegatto, Daniela Briega, M.V. Adilson C. Lúcio e em particular Isabella Ikeda por ser essencial nesse momento e a todos os equinos que proporcionaram esse estudo.

A todos os proprietários e responsáveis que permitiram a realização desta pesquisa em seus animais: Sargento Adilson Balbino responsável pelo 5º Batalhão da Cavalaria da Polícia Militar de Londrina/PR e ao soldado Carlos Melanda pelo auxílio no manejo com esses animais. Isabella Ikeda, Luiz Henrique e ao Centro Hípico do Norte do Paraná, Fábio e Rancho Trindade, Guilherme Eik, Prof^a. Dr^a. Mariana Cosenza diretora do Hospital Veterinário do Centro Universitário Filadélfia, M. V. Daniela B. Becegatto e ao M. V. Sérgio Garla.

A Giovana Balarin pela ajuda no início do trabalho laboratorial e a Prof^a. Dr^a Ellen de Souza Marques responsável pelo Laboratório de Patologia Clínica por permitir o processamento laboratorial da Universidade Estadual do Norte do Paraná (UENP), em especial ao Residente de Patologia Clínica da UENP Vinícius Prado de Oliveira por ser fundamental no auxílio à leitura das lâminas citológicas, sem sua ajuda não seria possível.

Agradeço a Prof^a. Dr^a. Giovana Wingeter Di Santis pela atenção com as fotografias das lâminas citológicas.

Ao Prof. Dr. Francisco A. de A. Souza, Prof^a. Dr^a. Janis R. M. Gonzales e Prof^a. Dr^a. Priscilla F. V. Pereira pela rica colaboração e sugestões claras para a correção deste trabalho.

Obrigada aos colegas que estiveram dividindo as mesmas angústias, preocupações, alegrias e conquistas ao longo desse período.

Aos amigos presentes e mesmo os distantes que nunca deixaram de ser! Obrigada pelos conselhos, opiniões e força que sempre me mandaram! Em especial a Ana P. A. Rennó que veio para uma visita e acabou trabalhando nas coletas também! E a Ana L. Yoshida pelo apoio e referencial teórico sempre que precisei. As pessoas que pude cativar como novos amigos, criando laços que serão para a vida, por conta do desenrolar dessa fase.

A todos que de uma forma ou de outra contribuíram para a realização e conclusão deste trabalho.

*“...Porque se a estrada me cobra, pago seu preço
e desabrigo o caminho pra o meu sustento
mesmo que o mundo desabe num tempo feio
sei o que as asas do poncho trazem por dentro.”*

Luiz Marengo

MARIA, Flávia Nesi. **Avaliação endoscópica e perfil citológico do aspirado traqueobronquial de equinos da região metropolitana de Londrina**. 2019. 56 folhas. Dissertação (Mestrado em Clínicas Veterinárias) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2019.

RESUMO

Doenças do sistema respiratório ocupam o segundo lugar na restrição do desempenho em equinos e muitas vezes não apresentam sinais clínicos específicos ou apresentam sinais discretos que podem passar despercebidos. Este trabalho teve como objetivo a identificação da porcentagem de participação dos tipos celulares presentes na secreção traqueobronquial dos equinos da região metropolitana de Londrina e sua relação com características básicas de manejo dos animais. Foram avaliados 76 equinos de diversas raças através de preenchimento de uma ficha epidemiológica (contendo informações sobre: identificação, finalidade, alimentação e criação), realização de exame específico do sistema respiratório (percussão pulmonar) e exame endoscópico. A percussão pulmonar alterada foi adotada como critério de exclusão para análises estatísticas. A avaliação do escore de muco e do escore de espessamento de carina deu-se pela endoscopia. A secreção traqueobronquial foi colhida através do canal de trabalho do endoscópio, esse material foi processado laboratorialmente pela técnica “squash”, e a coloração utilizada foi Panótico Rápido. Os dados da ficha epidemiológica foram avaliados com frequência absoluta e relativa; A celularidade foi avaliada pela contagem diferencial e o perfil citológico foi estabelecido pela média aritmética e desvio padrão de cada tipo celular dos equinos avaliados sem alteração na percussão pulmonar e/ou relato de sinais clínicos; Dados comparativos da celularidade entre as categorias formadas pela avaliação da ficha epidemiológica foram avaliados pela Anova e teste de comparação de médias Tukey, com significância de 5%. Os resultados mostraram percussão pulmonar alterada em 9,20% (7/76) dos animais. Foi observado acúmulo de muco grau 0 em: nenhum (0/76) dos animais; Grau 1: 21,1% (16/76); Grau 2: 47,4% (36/76); Grau 3: 23,7% (18/76); Grau 4: 5,3% (4/76) e Grau 5: 2,6% (2/76). Foi observado espessamento de carina de grau 0 em 1,3% (1/76) dos animais; Grau 1: 41,3% (33/76); Grau 2: 34,2% (26/76) e Grau 3: 21,10% (16/76). Na citologia foi encontrada participação de 67,40% ($\pm 27,37$) de células epiteliais; 27,06% ($\pm 23,47$) de macrófagos; 6,73% ($\pm 14,78$) de neutrófilos; 1,84% ($\pm 2,78$) de linfócitos; 3,22% ($\pm 5,01$) de eosinófilos; 0,5% ($\pm 0,24$) de mastócitos, espirais de Curshmann foram observadas em quatro animais. Observou-se maior participação de macrófagos em animais direcionados a trabalhos pedagógicos e maior participação de neutrófilos em animais que recebiam alimentação concentrada de ração e aveia. Conclui-se que o perfil citológico da secreção traqueobronquial dos equinos da região metropolitana de Londrina é composto predominantemente por células epiteliais e macrófagos, o acúmulo de muco e espessamento de carina foram observados com frequência e as características de manejo parecem ter influência no perfil citológico identificado nos animais avaliados.

Palavras-chave: Citologia. Endoscopia. Espessamento de carina. Acúmulo de muco.

MARIA, Flávia Nesi. **Endoscopic evaluation and cytological profile of tracheobronchial aspirate of horses from metropolitan region of Londrina.** 2019. 56 sheets. Dissertation (Masters in Veterinary Clinics) - Londrina State University, Londrina, 2019.

ABSTRACT

Respiratory system diseases occupy the second place in the performance restriction in equines and often do not present specific clinical signs or present discrete signals that can go unnoticed. The purpose of this work was to identify the percentage of cell types present in the tracheobronchial secretion of equines from Londrina metropolitan region and its relationship with basic animal management characteristics. A total of 76 horses of different breeds were evaluated by completing an epidemiological record (containing information about: identification, function, feeding and breeding), specific examination of the respiratory system (lung percussion) and endoscopic examination. The altered lung percussion was adopted as exclusion criterion for statistical analysis. The mucus score evaluation and the carina thickening score were done by endoscopy. The tracheobronchial secretion was collected through the endoscope's working channel, this material was processed by the squash technique, and the coloring method used was Diff Quick. Epidemiological data were evaluated with absolute and relative frequency. The cellularity was measured by the differential count and the cytological profile was established by the arithmetic mean and standard deviation of each cell type of the horses valued without alteration in the pulmonary percussion and / or reporting of clinical signs. Comparative data of the cellularity among the categories formed by the evaluation of the epidemiological record were measured by the Anova and Tukey averages comparison tests with significance of 5%. The results presented altered pulmonary percussion in 9.20% (7/76) of the animals. Mucus accumulation of grade 0 was not observed in any animal (0/76); Grade 1: 21.1% (16/76); Grade 2: 47.4% (36/76); Grade 3: 23.7% (18/76); Grade 4: 5.3% (4/76) and Grade 5: 2.6% (2/76). It was possible to verify carina thickening of grade 0 in 1.3% (or 1/76) of the animals; Grade 1: 41.3% (33/76); Grade 2: 34.2% (26/76) and Grade 3: 21.10% (16/76). The cytological analysis presented a participation of 67.40% (± 27.37) of epithelial cells; 27.06% (± 23.47) of macrophages; 6.73% (± 14.78) neutrophils; 1.84% (± 2.78) of lymphocytes; 3.22% (± 5.01) eosinophils; 0.5% (± 0.24) mast cells, Curshmann spirals were observed in four animals. It was observed a greater participation of macrophages in animals directed to pedagogical work and greater participation of neutrophils in animals that received concentrated feed of ration and oats. In conclusion the cytological profile of the tracheobronchial secretion of horses from metropolitan region of Londrina is predominantly composed of epithelial cells and macrophages, mucus accumulation and carina thickening were frequently observed and management characteristics seems to influence the identified cytological profile in the evaluated animals.

Key words: Cytology. Endoscopy. Carina thickening. Mucus accumulation.

LISTA DE GRÁFICOS

- Gráfico 1** – Avaliação endoscópica e perfil citológico do aspirado traqueobronquial de equinos da região metropolitana de Londrina, variação na porcentagem de macrófagos conforme a atividade desempenhada pelos equinos, (Londrina/PR, 2019)34
- Gráfico 2** – Avaliação endoscópica e perfil citológico do aspirado traqueobronquial de equinos da região metropolitana de Londrina, variação na porcentagem de neutrófilos conforme a alimentação concentrada, (Londrina/PR, 2019)35

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1** – Avaliação endoscópica e perfil citológico do aspirado traqueobronquial de equinos da região metropolitana de Londrina, (Londrina, 2019) A: exame endoscópico; B: esquema ilustrando o método e local de colheita.....26
- Figura 2** – Avaliação endoscópica e perfil citológico do aspirado traqueobronquial de equinos da região metropolitana de Londrina, celularidade avaliada nas lâminas citológicas da secreção traqueobronquial de equinos com coloração Panótico Rápido. (Londrina/PR, 2019). A: Seta fina: Célula epitelial ciliada; seta mediana: Célula epitelial calciforme; seta larga: Célula epitelial cubóide; B: Seta fina: Bactéria. Seta larga: célula escamosa; C: Seta fina: macrófago reativo; seta larga: macrófago não reativo; D: Seta fina: neutrófilo; Seta mediana: neutrófilo degenerado; Seta larga: linfócito; E: Seta: eosinófilos; F: espiral de Curshmann33

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1** – Avaliação endoscópica e perfil citológico do aspirado traqueobronquial de equinos da região metropolitana de Londrina, distribuição dos dados pela estatística descritiva dos 76 equinos avaliados pela ficha epidemiológica em relação ao sexo, raça, idade, finalidade, alimentação volumosa e concentrada, ambiente de criação e tipo de cama utilizado. (Londrina/PR, 2019).....30
- Tabela 2** – Avaliação endoscópica e perfil citológico do aspirado traqueobronquial de equinos da região metropolitana de Londrina, distribuição dos dados pela estatística descritiva dos 76 equinos avaliados na percussão torácica e pelo exame endoscópico em relação ao escore de muco e escore de espessamento de carina, (Londrina/PR, 2019).....32
- Tabela 3** – Avaliação endoscópica e perfil citológico do aspirado traqueobronquial de equinos da região metropolitana de Londrina, média e desvio padrão da contagem celular e número de amostras em que foi encontrado cada tipo celular na citologia da secreção traqueobronquial de 63 equinos avaliados, (Londrina/PR, 2019).....32

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AT	Aspirado traqueobronquial
CEUA	Comitê de Ética de Uso Animal
cm	Centímetro
DIVA	Doença Inflamatória das Vias Aéreas
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
EIC	Espaço Intercostal
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
LBA	Lavagem ou Lavado Bronquioalveolar
LT	Lavagem ou Lavado Traqueobronquial
mL	Mililitro
mm	Milímetro
mg/m ³	Miligramas por metro cúbico
mg/kg	Miligramas por quilo
ORVA	Obstrução Recorrente das Vias Aéreas
PSI	Puro Sangue Inglês
SRD	Sem Raça Definida
TR	Trato Respiratório
UEL	Universidade Estadual de Londrina
UENP	Universidade Estadual do Norte do Paraná
VAI	Vias Aéreas Inferiores
VAS	Vias Aéreas Superiores
° C	Graus Celsius
°	Indicativo de grau
>	Maior que
<	Menor que
®	Marca Registrada
±	Para mais ou para menos
%	Porcentagem

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
2	REVISÃO DE LITERATURA	15
2.1	AVALIAÇÃO RESPIRATÓRIA E DOENÇAS RESPIRATÓRIAS	15
2.2	SECREÇÃO TRAQUEOBRONQUIAL E APARELHO MUCOCILIAR	16
2.3	EXAME ENDOSCÓPICO	17
2.4	EXAME CITOLÓGICO.....	19
3	MATERIAIS E MÉTODOS	25
4	RESULTADOS	30
5	DISCUSSÃO	36
6	CONCLUSÕES	44
7	REFERÊNCIAS	45
	ANEXOS	52
	ANEXO A - FICHA EPIDEMIOLÓGICA	53
	ANEXO B – GABARITO DE ESCORE DE ESPESAMENTO DE CARINA.	55
	ANEXO C - APROVAÇÃO PELO COMITÊ DE ÉTICA DE USO ANIMAL DA UNIVERSIDADE ESTADUAL DE LONDRINA.....	56

1 INTRODUÇÃO

A última atualização feita pelo IBGE (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística) (IBGE, 2017), no rebanho efetivo de equinos, o Brasil conta com aproximadamente 5,6 milhões animais. O estado do Paraná contabiliza 280.629 animais e a região metropolitana de Londrina conta com uma população equina de 5.406 animais.

Há muito tempo os equinos têm-se tornado extremamente importantes para as pessoas, pois podem ser parceiros nas atividades esportivas e no trabalho, além de um suporte financeiro. Os equinos também ocupam lugar na vida de muitas pessoas, como um amigo exclusivo e companheiro. Por isso, a saúde e a integridade desses animais são muito importantes (MELO *et al.*, 2006).

Desde a sua domesticação, o equino tem sido cada vez mais utilizado nos diversos tipos de trabalho e desempenho atlético. Como consequência, os animais são exigidos acima de seus limites naturais (MARANHÃO *et al.*, 2006 apud GOODSHIP; BIRCH, 2001), o que pode predispor a algumas doenças.

A habilidade única do cavalo como atleta é dependente da integração do sistema respiratório com vários outros sistemas corporais, como os sistemas músculoesquelético, nervoso e cardiovascular. A disfunção clínica ou subclínica de qualquer um desses sistemas pode resultar em intolerância ao exercício, mas para o cavalo saudável o sistema respiratório é o fator limitante no desempenho atlético (RUSH; MAIR, 2004).

As doenças do sistema respiratório estão em segundo lugar em importância na limitação do desempenho atlético dos cavalos, perdem apenas para os distúrbios do sistema músculoesquelético. Devido a isso, os proprietários estão sujeitos à grandes perdas econômicas quando essas doenças interrompem os programas de treinamento dos equinos ou quando eles devem ser retirados devido aos danos pulmonares causados pelas doenças respiratórias. Assim, a detecção e o tratamento de problemas respiratórios precocemente são essenciais para o rápido retorno a atividade dos animais (AINSWORTH; HACKETT, 2004).

A falta de sinais clínicos específicos associados com doença do trato respiratório e ainda a evidência de queda do rendimento, podem ser indicativos de enfermidade pulmonar de baixo grau ou subclínica. São nessas situações que os testes de diagnósticos auxiliares podem detectar mudanças sutis no trato

respiratório que não são discerníveis em uma simples avaliação clínica de rotina (HODGSON, 2006; HODGSON; HODGSON, 2007).

A endoscopia de fibra óptica constitui um meio de valor incalculável para a avaliação do trato respiratório equino, sendo extremamente útil não só para a inspeção direta das vias aéreas como serve também para colheita de secreções do trato respiratório para análises laboratoriais (AINSWORTH; HACKETT, 2004; MAZAN, 2010; COUETIL, 2012).

A avaliação das secreções traqueobronquiais pelo exame citológico tem sido usada para auxílio no diagnóstico de afecções respiratórias em equinos e nos últimos anos se tornou um método confiável de diagnóstico de forma pouco invasiva (PIOTTO JUNIOR, 2000).

Tendo em vista a importância da integridade do sistema respiratório desses animais, tanto para manter plena sua saúde como para desenvolver as atividades em que são propostos, estima-se que a celularidade das secreções do trato respiratório associada às condições de criação forneçam informações relevantes sobre a higidez dos animais avaliados.

O objetivo desse trabalho foi identificar o perfil citológico da secreção traqueobronquial dos equinos da região metropolitana de Londrina através da mensuração da média de participação dos tipos celulares, e verificar a existência de uma possível relação da celularidade encontrada com as condições básicas de manejo desses animais.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 AVALIAÇÃO RESPIRATÓRIA E DOENÇAS RESPIRATÓRIAS

As principais manifestações de doenças do sistema respiratório são resultado de obstruções, redução das trocas gasosas, inflamação, septicemia, toxemia e neoplasias. Elas são representadas através de intolerância ao exercício, sons respiratórios anormais, tosse, febre e corrimentos nasais (SPEIRS, 1999).

As principais causas que levam os equinos para uma avaliação respiratória são os exames pré-compra, corrimento nasal, ruídos respiratórios anormais, tosse aguda ou crônica, taquipneia pós exercício prolongado, fadiga no exercício e baixo desempenho (RUSH; MAIR, 2004).

O exame do sistema respiratório equino pode ser dividido em três componentes críticos, incluindo informações históricas, exame físico e testes auxiliares de diagnóstico (VIEL, 2009).

No exame físico básico, a realização da percussão torácica pode fornecer respostas importantes sobre o estado pulmonar, respeitando os limites anatômicos caudoventrais para escuta do som (16° EIC – Espaço Intercostal – na altura da borda ventral da tuberosidade coxal, 14° EIC na altura da tuberosidade isquiática, 10° EIC na altura da articulação escapuloumeral, 5° EIC na altura do olécrano). O examinador avalia cada EIC em todos os campos pulmonares. O objetivo é identificar uma região de anormalidade pulmonar ou pleural (HEWSON; ARROYO, 2015; MAZAN, 2010; RUSH; MAIR, 2004; SPEIRS, 1999).

Na Obstrução Recorrente Das Vias Aéreas (ORVA) e na Doença Inflamatória Das Vias Aéreas (DIVA), a percussão do tórax identificará alvéolos excessivamente inflados devido à obstrução parcial das vias aéreas e será expressa como campos pulmonares expandidos. Essa anormalidade pode estar associada ao aprisionamento de ar nas vias aéreas inferiores e alvéolos, secundários à broncoconstrição, devido à estratégia de respirar em volumes pulmonares altos para maximizar o calibre das vias aéreas (HEWSON; ARROYO, 2015; RUSH; MAIR, 2004; VIEL, 2009).

Os achados do exame físico de um paciente com doença respiratória determinarão o uso de testes diagnósticos auxiliares, que podem ser: endoscopia de vias aéreas inferiores com colheita de líquido de lavado

broncoalveolar, amostra traqueobronquial para citologia, biópsia pulmonar e avaliação da mecânica da função pulmonar (MATHIESON, 2012; VIEL, 2009). Mckane (2010) demonstrou que examinando as características citológicas das secreções respiratórias pode-se obter tanto uma etiologia e, com amostragem repetida, uma indicação da resposta ao tratamento.

De acordo com Rush e Mair (2004) dentre as enfermidades com maior importância do trato respiratório equino estão os distúrbios não infecciosos das vias aéreas posteriores tais como ORVA, DIVA e Hemorragia Pulmonar Induzida pelo Exercício (HPIE), justamente por serem as que mais acometem os equinos, principalmente os mais jovens e atletas.

2.2 SECREÇÃO TRAQUEOBRONQUIAL E APARELHO MUCOCILIAR

O aparelho mucociliar consiste de um revestimento mucoso que recobre as vias aéreas em contato mecânico com as células ciliadas, ambos têm a função de promover a propulsão do muco em direção à laringe. Quando essa função está prejudicada ocorre a retenção de microorganismos, aumentando sua efetividade nociva e com isso expandindo a probabilidade de infecções broncopulmonares (LOPES *et al.*, 2010; ROBINSON, 1997), pois funciona como uma mecanismo de defesa do sistema respiratório. A eficiência do transporte mucociliar pode ser alterada por mudanças na função ciliar ou nas propriedades viscoelásticas das secreções das vias respiratórias (RAIDAL *et al.*, 1996).

Infecções repetidas podem levar a processos irritativos da árvore respiratória e desencadear alterações no perfil celular do epitélio e das glândulas que mudam a composição do muco. Essa composição alterada consiste no aumento da viscosidade, que altera suas propriedades físicoquímicas, resultando em retenção de muco no trato respiratório. Por se tornar mais difícil de ser eliminado aumenta a retenção de microorganismos inalados e conseqüentemente aumenta a susceptibilidade às infecções (LOPES *et al.*, 2010).

O aumento da viscoelasticidade e diminuição da depuração pode ser causado por maior quantidade de ácido desoxirribonucleico (DNA) no muco. O decréscimo na depuração ocorre durante as infecções bacterianas do pulmão quando tanto o DNA bacteriano como o de neutrófilos está presentes no muco (ROBINSON, 2007), pois a relação do aumento do percentual de neutrófilos com

sinais de inflamação do sistema respiratório como o acúmulo de muco já foi relatada (KOBLINGER *et al.*, 2011, GERBER *et al.*, 2004)

O epitélio respiratório saudável é coberto por uma fina camada de muco (5-20 microns), no entanto, qualquer acúmulo de muco visível em um exame é definido como excessivo (GERBER, 2001). Diversos fatores influenciam a produção e eliminação de muco, tais como: transporte, doenças, fatores relacionados ao manejo, cama, tipo de alimentação, ventilação adequada do local onde os animais permanecem e presença de gases tóxicos, como a amônia (ALLANO *et al.*, 2016; ART *et al.*, 2002; DIXON *et al.*, 1995; LOPES *et al.*, 2010; RAIDAL *et al.*, 1996; ROBINSON, 2007; RUSH; MAIR, 2004). Concentrações de poeira de 1 até 25 mg/m³ de ar já foram descritas na região ao redor do focinho de animais estabulados (MCGORUM *et al.*, 1998; VANDENPUT *et al.*, 1998; WOODS *et al.* 1993). Isso torna a poeira um fator importante para esses animais, pois por conter uma variedade de partículas e diferentes tipos de antígenos, que aumentam o desafio do sistema imune, torna-se capaz de induzir a inflamação das vias aéreas (HOLCOMBE *et al.*, 2001).

2.3 EXAME ENDOSCÓPICO

Para a inspeção direta das vias aéreas o exame endoscópico mostra-se como um ótimo recurso, tanto para as estruturas das vias aéreas superiores como inferiores. Embora a maioria dos cavalos tolere bem o procedimento, deve-se sempre ter cuidado para conter o animal adequadamente e ter um manipulador confiável segurando a cabeça do cavalo. A contenção física com o uso do cachimbo geralmente é o único procedimento necessário, porém sedação química pode ser utilizada caso seja preciso (MAZAN, 2010; COUROUCÉ-MALBLANC, 2013).

O comprimento e o diâmetro externo do endoscópio são importantes. Para a avaliação de traqueia, colheita de secreções respiratórias na região da poça traqueal (o ponto mais baixo da traqueia, anterior à carina) e inspeção de carina em equinos adultos, um endoscópio de aproximadamente 140-160cm é ideal. Já para a colheita de líquido de LBA, endoscópios mais longos são necessários, em torno de 160cm ou mais e com diâmetro em torno de 10mm (BARAKZAI, 2007).

Um exame endoscópico deve ser realizado de maneira sistemática no cavalo e uma rotina padrão é recomendada. O exame deve incluir as duas câmaras nasais, a nasofaringe, bolsas gútuais, epiglote, palato mole, laringe e traqueia. Além da conformação geral do lúmen da via aérea, as relações entre estruturas e suas movimentações devem ser observadas. Quanto à descarga de secreções deve-se notar sua presença, caráter e origem (BARAKZAI, 2007; RUSH; MAIR, 2004).

A ponta do endoscópio é passada através do meato ventral do nariz até a nasofaringe e posicionada no centro, bem em frente às aritenóides, uma vez que as aritenóides tenham sido abduzidas, a ponta do endoscópio deve ser passada para a traqueia, cuja mucosa normal varia entre amarelo claro a rosa pálido. O revestimento traqueal é liso com vasculatura visível e os anéis traqueais são detectáveis. A traqueia é normalmente livre de exsudato ou de descarga e a carina, brônquios principais e lobares são vistos na parte mais distal da traqueia (ABUTARBUSH; CARMALT, 2008).

Cavalos com doença pulmonar geralmente acumulam secreções respiratórias mucopurulentas ou purulentas excessivas na poça traqueal, devido à produção excessiva de muco e ao transporte mucociliar reduzido. Essas secreções podem transitoriamente cobrir as paredes da traqueia, em vez de permanecer em uma poça, principalmente se o cavalo tiver acabado de tossir (BARAKZAI, 2007).

Vários sistemas subjetivos de graduação têm sido empregados para quantificar o acúmulo de muco visível na endoscopia da traqueia (GERBER, 2001). Gerber *et al.*, (2004) relataram que a os escores de acúmulo de muco estudados são uma medida reprodutível dos volumes de muco na traqueia e que a classificação endoscópica do acúmulo de muco é uma ferramenta clínica e de pesquisa confiável.

O muco é a testemunha de inflamação e/ou infecção que pode ser caracterizada por outros testes (aspirado traqueobronquial e/ou lavado broncoalveolar). Esse acúmulo de muco pode refletir, por exemplo, a existência de uma doença inflamatória ou obstrutiva nas vias aéreas inferiores ou ainda uma infecção bacteriana (COUROUCÉ-MALBLANC, 2013). O acúmulo de muco também já foi evidenciado em diversas categorias de equinos como em potros em treinamento, equinos de corrida, hipismo, provas de laço, patrulhamento e animais do setor pedagógico de hospitais escola (BECEGATTO, 2017; PIRES *et al.*, 2017). Maiores escores de muco (2 a 5 – múltiplas bolhas até ocupação de 25% do lúmen

traqueal) foram associados a baixo desempenho em equinos em relação a escores menores escores (0 e 1 – sem acúmulo ou pequenas bolhas) (HOLCOMBE *et al.*, 2001).

A carina é a estrutura que divide a traqueia nos brônquios principais, em sua aparência normal apresenta-se como um septo afiado. Quando o revestimento mucoso do TR está inflamado, a carina pode ser uma aparência arredondada (BARAKZAI, 2007; HEWSON; ARROYO, 2015). Escore para espessamento de carina já foi descrito, demonstrando que essas medidas são reprodutíveis, porém são insuficientes quando analisadas de forma isolada para diferenciar indivíduos com doenças inflamatórias do TR de indivíduos saudáveis (BREDA, 2014; KOCH, *et al.*, 2007).

Uma alternativa cada vez mais popular para a colheita de AT é através de um endoscópio de fibra ótica ou videoendoscópio. O método é bem tolerado por cavalos e a endoscopia permite a visualização do TR no momento da amostragem, que pode auxiliar na interpretação dos resultados citológicos e microbiológicos. Para realizar o AT através de um endoscópio, o ponto mais baixo da traqueia, anterior à carina e nivelado com a entrada torácica (poça traqueal), deve ser visualizado, então um pequeno cateter de polietileno é passado através do canal de biópsia e instilados 10 a 30 mL de solução salina isotônica estéril. O fluido acumular-se-á na poça traqueal de onde pode ser aspirado. Também é possível fazer a recuperação direta da secreção traqueobronquial se estiver acumulada. O principal uso de amostras colhidas por essa técnica é para avaliação citológica (HODGSON; HODGSON, 2007; MARR, 2012; MATHIESON, 2012).

2.4 EXAME CITOLÓGICO

A avaliação das secreções traqueobronquiais pelo exame citológico tem sido usada como diagnóstico de afecções respiratórias em equinos e em humanos. Com o uso da broncoscopia, com endoscópio flexível, a técnica de aspirado traqueobronqueal, através do canal de trabalho do endoscópio, passou a ser predominante (PIOTTO JUNIOR, 2000).

A secreção traqueobronquial pode ser recolhida por aspiração direta ou lavagem da luz traqueal através de cateterismo transcutâneo ou através de um endoscópio. A citologia normal do fluido traqueobronquial geralmente contém os

neutrófilos representando menos de 20% de células nucleadas totais. No entanto, o exame citológico de muco traqueobronquial em cavalos livres da doença respiratória é altamente variável com percentuais de neutrófilos que variam entre 3 e 83% de células nucleadas totais (COUETIL, 2012).

Geralmente a contagem diferencial de células tem maior valor do que a contagem total de células, e elas são classificadas em células epiteliais, macrófagos, neutrófilos, linfócitos, eosinófilos, mastócitos e outras células (por exemplo, células escamosas). As células epiteliais podem ainda ser divididas em células colunares, cuboidais e caliciformes (ZINKL, 2002). A contagem diferencial deve ser determinada com base em 200-300 células consecutivas (COUETIL, 2012).

Michelotto Júnior (2008) observou células epiteliais ciliadas, células caliciformes, macrófagos alveolares, macrófagos multinucleados, linfócitos, neutrófilos, eosinófilos e mastócitos como os possíveis tipos celulares, além de espirais de Curschmann, que podem ser encontrados em aspirados ou lavados traqueobronquiais e bronquioalveolares em cavalos saudáveis ou com problemas respiratórios.

Em cavalos saudáveis as amostras são compostas principalmente por células epiteliais ciliadas e não ciliadas. Elas podem ser caracterizadas por núcleos basais pequenos, redondos, com cromatina finamente granular e moderada quantidade de citoplasma. Os cílios estão localizados no lado apical da membrana citoplasmática, de frente para o lúmen. A capacidade de visualizar cílios pode variar com o frescor da amostra, a presença ou ausência de fixação e o método de coloração (CIAN *et al.*, 2015).

Células caliciformes podem ser observadas intercaladas entre as células epiteliais. O aumento no número de células epiteliais nas amostras é relativamente raro, e as alterações na sua estrutura são mais comuns e ajudam a indicar a enfermidade pulmonar, porém mudanças leves podem ocorrer em cavalos normais e provavelmente representam o desgaste normal ou o “turnover” das células (HODGSON, 2006).

A porcentagem de células epiteliais é muito variável, sua participação entre 49 a 79% na contagem diferencial já foi demonstrada (FORTES JÚNIOR, 2005; MAIR *et al.*, 1987; PIOTTO JUNIOR, 2000); Fernandes *et al.* (2000) encontraram apenas 5% de células epiteliais em lavado traqueobronquial de equinos saudáveis.

As amostras das vias aéreas inferiores representam o epitélio normal dessa região e também podem estar presentes células inflamatórias de primeira linha de mecanismos de defesa respiratória (HODGSON, 2006). Por isso além das células epiteliais é comum a visualização de alguns macrófagos (CIAN *et al.*, 2015; ZINKL, 2002). O fluido normal do lavado traqueobronquial deve conter na maioria macrófagos (30-70%), e células epiteliais, porém, as células epiteliais podem aparecer em maior número quando colhido com cateter através do endoscópio (COUETIL, 2012).

Os macrófagos já foram caracterizados no lavado traqueobronquial como células redondas ou ovais, com abundante citoplasma, que frequentemente contêm material fagocitado ou pequenos vacúolos. O núcleo pode ser central ou periférico, arredondado ou em forma de rim, também é possível observar macrófagos gigantes que são caracterizados por mais de um núcleo. Estes são encontrados em baixo número em cavalos sem sinais de inflamação e seu aumento está relacionado com inflamação crônica, mas ainda assim é um achado inconsistente (HODGSON, HODGSON, 2007; WITHWHEEL; GREET, 1984).

Em cavalos saudáveis a representatividade de macrófagos na contagem diferencial já foi relatada com valores variando entre 24 e 79% (DERKSEN *et al.*, 1989; RICHARD *et al.*, 2010b).

Wysocka e Klucinski (2015) encontraram no lavado traqueobronquial de equinos com DIVA e ORVA uma redução respectiva de 61,5% e aproximadamente 90% dos macrófagos na contagem diferencial em comparação com animais controle, que não possuíam histórico e nem sinais clínicos de doença respiratória.

Rossi *et al.* (2018) também encontraram diferença na média de macrófagos em lavado traqueais de equinos clinicamente sadios e entre aqueles que continham um sinal de doença respiratória ou doença respiratória confirmada, a contagem reduziu em até 58% no último grupo em relação aos animais saudáveis.

Outro fator que exerce influência nos macrófagos está relacionado à atividade física. Maiores números de macrófagos já foram observados em animais que estavam afastados das atividades de serviço em relação aos que estavam em trabalho (COSTA; MACORIS, 2007). Porém o exercício físico moderado parece estar relacionado ao aumento da resposta dos mecanismos de defesa orgânica, enquanto que o exercício físico intenso e prolongado ou o treino excessivo parecem

enfraquecê-la (LEANDRO *et al.*, 2002; MICHELOTTO JÚNIOR, 2010). No entanto, o aumento de macrófagos também já foi detectado em animais que apresentavam tosse crônica (MCKANE *et al.*, 1993).

Os neutrófilos geralmente têm um núcleo lobulado com um padrão de cromatina grosseira e citoplasma relativamente incolor. A proporção relativa dessas células encontradas nas vias aéreas dos cavalos é considerada baixa, principalmente em cavalos sem lesões das VAI (vias aéreas inferiores). No entanto, os neutrófilos respondem a uma variedade de estímulos, e seus números podem variar rapidamente. São encontrados em maiores proporções no aspirado e lavado traqueobronquial do que no LBA de cavalos normais. Isso possivelmente reflete a maior exposição a influências nocivas que ocorrem nas vias aéreas maiores (HODGSON; HODGSON, 2007; ZINKL, 2002).

Os valores de neutrófilos em LT de cavalos saudáveis variando de 4,6 e 32% já foram relatados (RICHARD *et al.*, 2010a). No entanto um valor de neutrófilos em LT considerado adequado para cavalos saudáveis está relacionado com a participação desse tipo celular em até 20% na contagem diferencial, em LBA a sua participação não pode exceder 5% (BAIN, 1997; COUETIL, 2012).

Quando os neutrófilos estão aumentados em números considera-se que há uma inflamação neutrofílica, que pode estar associada a causas sépticas ou não sépticas. As causas sépticas estão relacionadas à agentes bacterianos, fúngicos, protozoários, parasitários e virais, já a DIVA e a ORVA são as causas mais comuns da inflamação neutrofílica não séptica (CIAN *et al.*, 2015). Em algumas condições de doença como ORVA, HPIE e alguns casos de DIVA, os neutrófilos são principalmente maduros, sem alterações degeneradas ou tóxicas, os neutrófilos degenerados e tóxicos estão relacionados com agentes bacterianos e fúngicos (MAIR, 1987; HODGSON, 2006). Outra circunstância de aumento dos neutrófilos é por uma reação de defesa à poeira presente dos estábulos (SGORBINI *et al.*, 2010).

Morfologicamente, os eosinófilos são idênticos aos esfregaços de sangue periférico, eles são ligeiramente maiores que os neutrófilos, com um núcleo lobulado e grânulos citoplasmáticos uniformemente grandes, redondos e vermelho vivo (HODGSON; HODGSON, 2007).

Na avaliação citológica de equinos saudáveis, eosinófilos devem ter participação inferior a 1% em LT e 0,1% em LBA (COUETIL, 2012; HODGSON; HODGSON, 2007; RICHARD *et al.*, 2010a; ROBINSON; HOFFMAN, 2003). Apesar

do aumento de eosinófilos ser considerado incomum, geralmente um aumento na porcentagem é atribuído a vermes pulmonares e aumentos menores estão relacionados à doença respiratória alérgica (HODGSON, 2006; MCKANE, 2010).

Em geral os aspirados traqueais devem ter muito poucos mastócitos e o valor de corte para a porcentagem normal de mastócitos em LBA é de <2% (HODGSON, 2006; ROBINSON; HOFFMAN, 2003). Em equinos normais, os mastócitos em LT são raros em contraste com LBA, no qual um número maior de mastócitos pode ser observado. Essa diferença pode ser explicada pela distribuição predominante de mastócitos equinos dentro das pequenas vias aéreas e alvéolos. Um aumento da porcentagem de mastócitos em LBA foi correlacionado com aumento da hiperreatividade das vias aéreas e diminuição da tolerância ao exercício (COUETIL, 2012; HODGSON, 2006; HODGSON; HODGSON, 2007; HUGUES *et al.*, 2003).

Os linfócitos estão presentes em números baixos na LT, mas ocorrem em proporções mais elevadas no LBA. Aparecem como células esféricas de tamanho pequeno a médio com uma borda escassa de citoplasma basofílico e seu núcleo é relativamente grande (HODGSON; HODGSON, 2007). Geralmente a sua proporção em LT de animais saudáveis não ultrapassa os 10% e no LBA a variação entre 30 e 60% com uma média de 35% (HODGSON, 2006; MCKANE, 2010; ROBINSON; HOFFMAN, 2003).

Mesmo Tyler *et al.* (2002) descreverem que o aumento desse tipo celular pode estar relacionado à inflamação alérgica crônica a diminuição da contagem dessas células pode acontecer em animais que apresentam DIVA e ORVA e esse decréscimo pode ser ainda maior na ORVA (WYSOCKA; KLUCINSKI, 2015).

As espirais de Curschmann, após coloração, apresentam uma tonalidade escura, são matrizes de muco, moldes dos pequenos bronquíolos, que obstruem as pequenas vias aéreas, são geralmente encontradas em animais com produção prolongada e excessiva de muco (MICHELOTTO JÚNIOR, 2008; ZINKL, 2002). Na citologia de cavalos com ORVA grandes quantidades de muco são comumente vistas, e as espirais de Curschmann podem ser evidentes (ERCK, 2009; FERNANDES *et al.*, 2006; MAZAN, 2015). Elas são comuns em condições inflamatórias crônicas e podem estar aumentadas em número em relação a cavalos normais (HODGSON; HODGSON, 2007; WHITWELL; GREET, 1984).

Em algumas circunstâncias a DIVA pode ser difícil de distinguir da ORVA, os cavalos afetados apresentam aumento de neutrófilos significativo em resposta à inalação de alérgenos específicos e a contagem dessa célula pode subir até 80-100% em LT e LBA (ERCK, 2009). Franklin e Allen (2008) encontraram aumento desse tipo celular em 50% dos animais avaliados com histórico de baixo desempenho.

O principal achado citológico da DIVA é a presença de inflamação pelo aumento dos neutrófilos no lavado traqueobronquial (SMITH *et al.*, 2003) Kusano *et al.* (2008) encontram uma média de 55% de neutrófilos na contagem diferencial de equinos com DIVA em relação aos animais saudáveis que apresentaram apenas 5% de neutrófilos. Na ORVA também se observa aumento de neutrófilos, Fernandes *et al.* (2006) encontraram esse tipo celular aumentado no LBA em 87,5% dos animais com ORVA.

As amostras de LT desses casos apresentam aumento das contagens celulares totais, com aumento na porcentagem de neutrófilos. A grande variação na gravidade da doença no momento do exame pode ajudar a explicar a grande variação nas contagens de neutrófilos (MAIR, 1987).

No LT os neutrófilos chegaram a representar 61,5% das células encontradas durante o exame citológico de animais enfermos (MAIR, 1987). Porém o LBA se tornou mais fidedigno para diagnóstico dessa condição (MAZAN, 2015).

É impossível fazer uma distinção definitiva entre DIVA e ORVA apenas analisando a citologia, mas a DIVA geralmente consiste no aumento leve de neutrófilos (> 20%), e leve de eosinófilos (> 1%), e aumento de mastócitos (>0,2%) ou combinações destes. Já a citologia na ORVA é principalmente marcada pelo aumento de neutrófilos, em vezes até 100% de todas as células são neutrófilos, os mastócitos são raramente identificados, grande quantidade de muco é um achado comum e espirais de Curschmann podem ser evidenciadas (MAZAN, 2015).

3 MATERIAIS E MÉTODOS

Foram utilizados 76 equinos da região metropolitana de Londrina sem predileção por raça, sexo ou idade. Sendo 21 fêmeas e 55 machos, dos quais 48 castrados. Os animais utilizados não passaram por nenhuma alteração de manejo durante a realização desse trabalho e eram pertencentes a haras, fazendas, fazendas escolas, polícia militar e pequenas propriedades.

No intuito de encontrar uma relação entre o perfil celular encontrado e o sistema de manejo dos animais avaliados foi aplicada uma ficha epidemiológica (Anexo A), na qual foram colhidas informações sobre sistema de criação, características da alimentação, locais de permanência e função destes equinos.

No item designado ao sistema respiratório foi registrada informação em relação à presença de sinal clínico ou não, de acordo com relato do proprietário, porém essas informações não foram consideradas para análises, pela subjetividade de avaliação dos responsáveis. Também foi registrado se o animal já havia realizado o procedimento de endoscopia. Na segunda parte da ficha foram registradas informações sobre o resultado da percussão pulmonar e a avaliação endoscópica sendo elas, a presença de muco e espessamento de carina de acordo com escores estabelecidos.

Para delimitação do campo de percussão pulmonar eram tomados como pontos de referência o 16° EIC na altura do limite ventral da tuberosidade coxal; 14° EIC na altura do limite ventral da tuberosidade isquiática; 10° EIC na altura do trocanter maior do úmero e 5° EIC na altura do olécrano (SPEIRS, 1999). O resultado alterado deste exame serviu como um critério de exclusão para análises estatísticas.

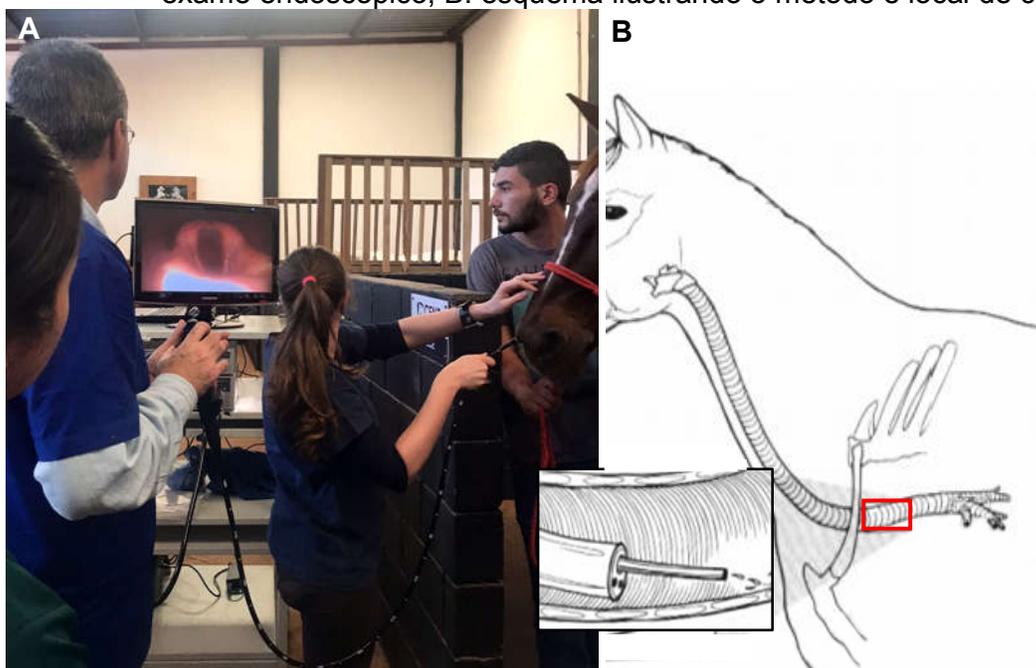
Os animais foram submetidos ao exame endoscópico com um Vidoendoscópio flexível modelo 60118 NKS (KARL STORZ®, Tuttlingen, Baden-Württemberg, Alemanha) de 180cm de comprimento e 10,4 mm de diâmetro, com processador de vídeo modelo 692360 10 (KARL STORZ®, Tuttlingen, Baden-Württemberg, Alemanha) e uma fonte de luz 201325 01 (KARL STORZ®, Tuttlingen, Baden-Württemberg, Alemanha). O programa utilizado para registro e análise das imagens foi o Infoco 2 Lite (LPT4 tecnologia de informação®, Curitiba, Paraná, Brasil). As imagens foram visualizadas e examinadas pelos mesmos avaliadores através de um monitor de televisão Sync Master T200M (SAMSUNG®, Seul, Coreia

do Sul). Todo equipamento para realização deste procedimento foi gentilmente cedido pela Universidade Estadual de Londrina (UEL).

Durante o exame os animais permaneceram com contenção física pelo uso do cachimbo ou tronco específico para a espécie quando disponível. Quando necessário utilizou-se sedação prévia (acepromazina 1% na dose de 0,1mg/kg, aplicação intravenosa).

A endoscopia foi realizada como sugerido por Barakzai (2007). O aparelho era direcionado até a traqueia, local de avaliação visual da secreção traqueobronquial, espessamento da carina, e colheita de secreção traqueobronquial (Figura 1).

Figura 1 – Avaliação endoscópica e perfil citológico do aspirado traqueobronquial de equinos da região metropolitana de Londrina, (Londrina, 2019). A: exame endoscópico; B: esquema ilustrando o método e local de colheita.



Fonte: A: o próprio autor; B: adaptado de Speirs (1999).

A secreção traqueobronquial foi classificada em uma escala de 0 a 5 conforme a presença e quantidade de muco baseada na escala de Gerber *et al.* (2004) que corresponde a seguinte descrição:

- 0: traqueia normal, sem secreção.
- 1: pequenas bolhas de secreção, localizadas.
- 2: leve quantidade de secreção, bolhas generalizadas de secreção.

3: moderada quantidade de secreção, confluência de bolhas e formação de poças.

4: intenso quantidade de secreção, grande fluxo de secreção, formação de várias poças.

5: quantidade profusa, abundante.

A colheita de secreção traqueobronquial deu-se com auxílio de cateter de polietileno introduzido no canal de trabalho do próprio endoscópio e a secreção traqueobronquial foi aspirada com seringa estéril, após a colheita o cateter foi acondicionado em caixa térmica na temperatura de 4°C até o processamento laboratorial cujo tempo de espera não foi superior a 6 horas.

Para o avaliação da carina, neste trabalho, foi desenvolvida uma escala de espessamento de 0 a 3 (Anexo B) conforme o espessamento dessa estrutura, semelhante a descrita por Koch *et al.* (2007). Sendo:

0: carina normal.

1: espessamento leve.

2: espessamento moderado.

3: espessamento intenso.

Na confecção das lâminas foi aplicada a técnica de “squash” como descrito por Meinkoth *et al.*, (2009) e a coloração empregada foi Panótico Rápido (LABORCLIN®, Lagoa da Prata, Minas Gerais, Brasil). A leitura das lâminas foi realizada no Laboratório de Patologia Clínica da Universidade Estadual do Norte do Paraná (UENP), as lâminas foram avaliadas sempre pelo mesmo avaliador, em microscópio óptico na objetiva de imersão (aumento de 100 vezes). Foram contabilizadas 300 células as quais correspondiam a 100% para realizar a contagem diferencial que foi realizada por regra de três simples cujo resultado foi multiplicado por 100% para representar os valores percentuais da contagem diferencial, como realizado por Piotto Júnior (2000).

Para a contagem diferencial as células, quando encontradas, foram classificadas em células epiteliais (ciliadas, cubóides, caliciformes e escamosas), macrófagos, neutrófilos, linfócitos, eosinófilos, mastócitos e foram observadas a presença ou ausência de estruturas espirais de Curshmann.

Após a análise das fichas epidemiológicas os animais foram classificados em três categorias conforme sua finalidade, esporte: correspondendo aos animais que praticavam laço, três tambores e salto. Patrulha: animais que

realizavam patrulhamento, e categoria pedagógicos: animais de fazendas escolas e projetos sociais.

Para a forma de criação foram divididos em três categorias, sendo, intensivo: animais criados apenas em baias. Semi intensivo: animais que permaneciam algum período do dia em baia e extensivo: animais criados exclusivamente a pasto.

Também foram categorizados conforme o tipo de alimentação que recebiam. Três categorias para alimentação volumosa: feno seco: animais que recebiam feno seco. Feno úmido: animais que recebiam feno umidificado e capim fresco: animais que se alimentavam de capim diretamente no pasto. Quatro categorias para alimentação concentrada, ausente: animais que não recebiam nenhum tipo de concentrado. Ração peletizada: animais que recebiam apenas ração peletizada. Aveia: animais que recebiam apenas aveia, e ração peletizada mais aveia, animais que recebiam esses dois tipos de concentrados.

Todas as categorias relacionadas à finalidade, forma de criação e manejo alimentar tiveram suas celularidade comparadas.

De acordo com as observações realizadas dos locais de permanência dos equinos esses puderam ser agrupados em categorias conforme características em comum, a saber:

- exclusivamente a pasto.
- baias fechadas em pavilhões fechados com pé direito acima de 5m de altura.
- baias em meia parede em pavilhão fechado com pé direito acima de 5m de altura.
- baias fechadas em linhas em pavilhão aberto com portas voltadas para o exterior e pé direito abaixo de 4m de altura.

Toda análise estatística foi realizada utilizando a versão R 3.3.3 (R CORE TEAM, 2017). Para a composição do perfil citológico e para as análises comparativas os animais com resultado alterado da percussão pulmonar e qualquer relato de sinal clínico foram excluídos dessas avaliações. O perfil citológico foi estabelecido pela média aritmética e desvio padrão de cada tipo celular dos equinos avaliados. Os fatores relacionados ao manejo finalidade de criação, sistema de criação, alimentação concentrada e volumosa tiveram sua celularidade comparada entre grupos, conforme os registros da ficha epidemiológica. Esses dados foram

submetidos aos testes de normalidade (Shapiro-Wilk) e homogeneidade (Bartlett) e em seguida à análise de variância (ANOVA), quando encontrado diferença, foi realizado o teste de Tukey para comparação das médias aritméticas, adotando um valor de significância de 5%. Os dados foram submetidos à transformação Box-Cox, quando não atingiram normalidade e homogeneidade.

Este trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética de Uso Animal da Universidade Estadual de Londrina (CEUA-UEL) sob registro de número 23638.2017.56 (Anexo C).

4 RESULTADOS

A média de idade dos 76 equinos avaliados foi de 9,7 (\pm 6,7) anos. A tabela 1 apresenta a estatística descritiva da distribuição dos dados dos animais avaliados conforme o sexo, raça, faixa etária, finalidade, alimentação e ambiente de criação e tipo de cama utilizado.

Tabela 1 - Avaliação endoscópica e perfil citológico do aspirado traqueobronquial de equinos da região metropolitana de Londrina, distribuição dos dados pela estatística descritiva dos 76 equinos avaliados pela ficha epidemiológica em relação ao sexo, raça, idade, finalidade, alimentação volumosa e concentrada, ambiente de criação e tipo de cama utilizado. (Londrina/PR, 2019).

		Número de animais	%
Sexo	Macho castrado	48	63,00%
	Macho inteiro	7	9,00%
	Fêmea	21	28,00%
Raça	Apaloosa	2	2,60%
	BH	2	2,60%
	Mangalarga	1	1,30%
	Ponei	1	1,30%
	QM	55	72,40%
	Sela Belga	1	1,30%
	SRD	14	18,40%
Idade	<5 anos	25	32,90%
	6-10 anos	28	36,80%
	> 10 anos	23	30,30%
Finalidade	Pedagógicos	5	6,60%
	Esporte (3 tambores)	7	9,20%
	Esporte (laço)	48	63,20%
	Esporte (salto)	5	6,60%
	Patrulha	11	14,50%
Criação	Extensivo	13	17,10%
	Intensivo	42	55,30%
	Semi intensivo	21	27,60%
Alimento volumoso	Capim fresco	13	17,10%
	Feno seco	51	67,10%
	Feno úmido	12	15,80%
Alimento concentrado	Ausente	7	9,20%
	Aveia	14	18,40%
	Ração peletizada	51	67,10%
	Ração peletizada e aveia	4	5,30%
Cama	Maravalha	63	100,00%

%; Porcentagem; >: Maior que; <: Menor que; BH: Brasileiro de hipismo; QM: Quarto de milha; SRD: Sem raça definida.

Machos castrados corresponderam à maior parte (63%) da população estudada. Em relação à raça, a Quarto de Milha (72,4%) foi a mais frequentemente observada. Já a faixa etária distribuiu-se de forma semelhante entre animais com menos de cinco anos, de seis a dez anos e superiores a dez anos de idade. E a maioria dos animais deste estudo desempenhava atividade esportiva de laço (63,20%).

Este estudo demonstrou que grande parte dos equinos da região são manejados em sistemas intensivos (55,3%), e em relação ao manejo alimentar observou-se que a maioria dos animais recebia como alimentação volumosa feno seco (67,1%) e como alimentação concentrada ração peletizada (67,1%).

No que diz respeito à endoscopia dez animais já haviam passado por esse procedimento e os outros 66 nunca havia realizado esse exame. A endoscopia permitiu que a colheita fosse ágil e precisa com mínima invasividade e sem manobras que pudessem levar algum desconforto ao animal. Durante o procedimento a maioria dos animais aceitou o uso do endoscópio somente com a contenção física, e a sedação foi necessária apenas em dois casos.

Os sinais clínicos de tosse foram relatados pelos responsáveis em cinco animais, cansaço fácil um animal, secreção nasal um animal e alergia (espirros, tosse e elevações circulares pelo corpo) um animal, e por esse motivo esses animais foram excluídos do perfil citológico e das análises comparativas.

A tabela 2 demonstra a distribuição dos dados dos 76 equinos avaliados em relação à percussão pulmonar e avaliação endoscópica de escore de muco e escore de espessamento carina.

Foram observados 9,2% dos animais com percussão pulmonar alterada, todos os animais com alteração do campo pulmonar apresentaram aumento de forma difusa em até seis cm além do normal, e por esse motivo esses animais foram excluídos do perfil citológico e das análises comparativas.

O escore de acúmulo de muco registrado com maior frequência foi o de grau dois (47,7%). Constatou-se também que o espessamento de carina mais observado foi referente ao grau um presente em 43,4% dos animais avaliados.

As alterações de acúmulo de muco e espessamento de carina foram frequentes nos animais avaliados e aconteceram em concomitância em 98,70% dos animais deste estudo.

Tabela 2 - Avaliação endoscópica e perfil citológico do aspirado traqueobronquial de equinos da região metropolitana de Londrina, distribuição dos dados pela estatística descritiva dos 76 equinos avaliados na percussão pulmonar e pelo exame endoscópico em relação ao escore de muco e escore de espessamento de carina, (Londrina/PR, 2019).

		Número de animais	%
Percussão pulmonar	Alterada	7	9,20%
	Normal	69	90,80%
Escore de acúmulo de muco (0-5)	0	0	00,00%
	1	16	21,10%
	2	36	47,40%
	3	18	23,70%
	4	4	5,30%
	5	2	2,60%
Escore de espessamento de carina (0-3)	0	1	1,30%
	1	33	43,40%
	2	26	34,20%
	3	16	21,10%

%; Porcentagem; Escore de acúmulo de muco 0-5 0: sem secreção, limpo; 1: várias bolhas pequenas; 2: bolhas maiores; 3: formação de fluxo confluyente; 4: formação de poças; 5: abundante quantidade (GERBER *et al.*, 2004). Escore de espessamento de carina 0-3, 0: não espessada; 1: leve espessamento; 2: moderado espessamento; 3: intenso espessamento.

A tabela 3 apresenta a estatística descritiva do perfil citológico do sistema respiratório de 63 equinos avaliados na região estudada conforme o tipo celular encontrado. Os animais com relato de sinal clínico ou percussão pulmonar alterada não participaram desta avaliação (total de 13 animais).

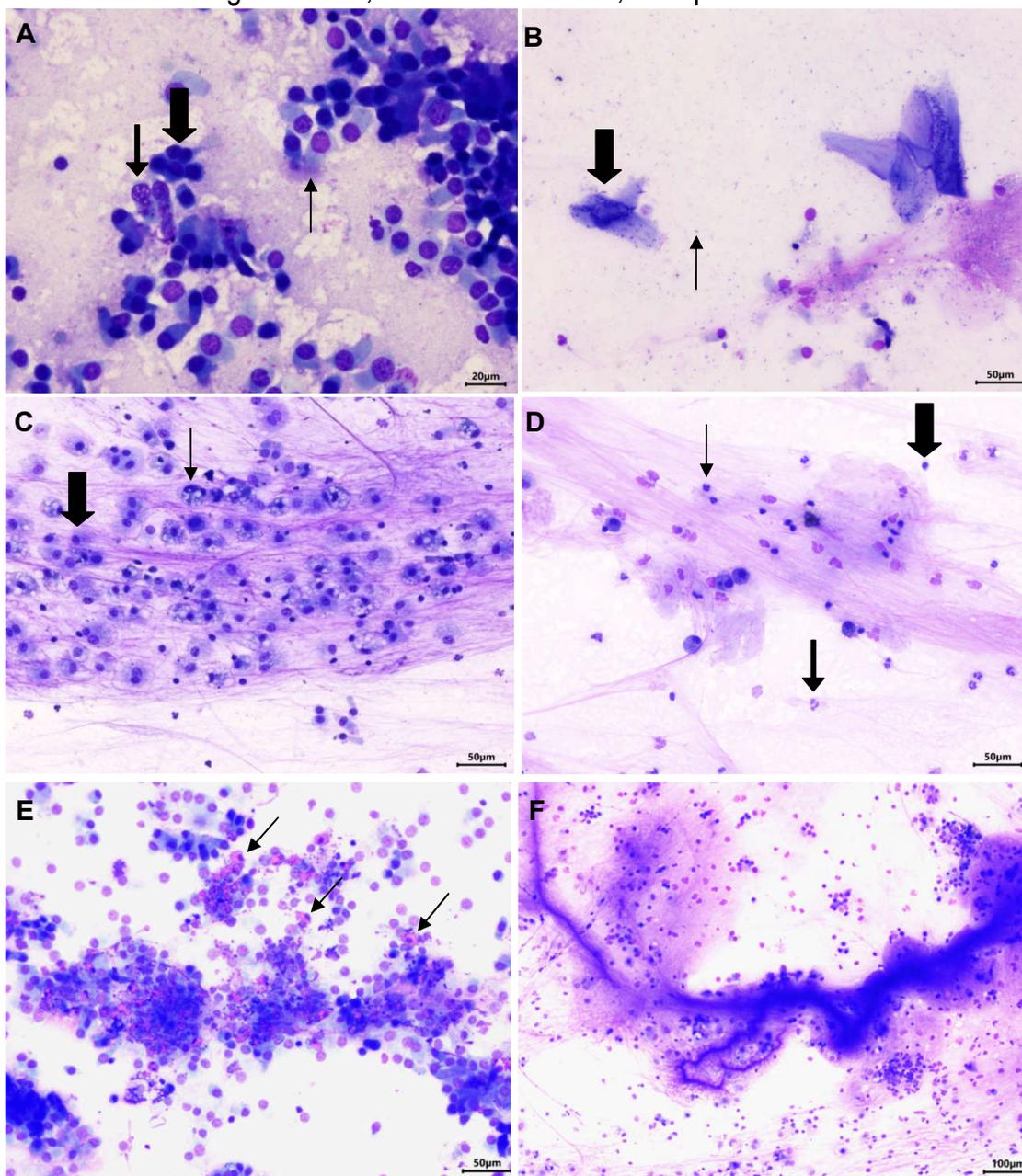
As células encontradas nesse trabalho foram células epiteliais (figura 1A), macrófagos (figura 1C), neutrófilos (figura 1D), linfócitos (figura 1D), eosinófilos (figura 1E) e mastócitos, espirais de Curshmann também foram observadas (figura 1F).

Tabela 3 - Avaliação endoscópica e perfil citológico do aspirado traqueobronquial de equinos da região metropolitana de Londrina, média e desvio padrão da contagem celular e número de amostras em que foi encontrado cada tipo celular na citologia da secreção traqueobronquial de 63 equinos avaliados, (Londrina/PR, 2019).

	Células epiteliais	Macrófagos	Neutrófilos	Eosinófilos	Linfócitos	Mastócitos
Média	67,40%	27,06%	6,73%	3,22%	1,84%	0,5%
Desvio padrão	27,37%	23,47%	14,18%	5,01%	2,78%	0,24%
Número de amostras encontradas	62	63	51	3	34	2

%; porcentagem

Figura 2 - Avaliação endoscópica e perfil citológico do aspirado traqueobronquial de equinos da região metropolitana de Londrina, celularidade avaliada nas lâminas citológicas da secreção traqueobronquial de equinos com coloração Panótico Rápido. (Londrina/PR, 2019). A: Seta fina: Célula epitelial ciliada; seta mediana: Célula epitelial caliciforme; seta larga: Célula epitelial cubóide; B: Seta fina: Bactéria. Seta larga: célula escamosa; C: Seta fina: macrófago reativo; seta larga: macrófago não reativo; D: Seta fina: neutrófilo; seta mediana: neutrófilo degenerado; Seta larga: linfócito; E: Seta: eosinófilos; F: espiral de Curshmann.

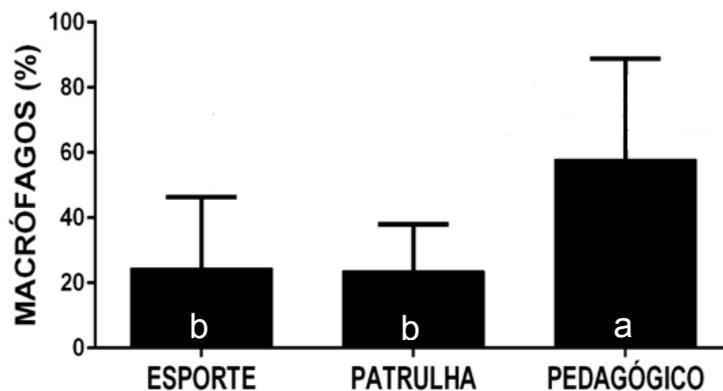


Fonte: o próprio autor.

O aspirado traqueobronquial colhido de forma direta pelo canal de trabalho do endoscópio permitiu a confecção de lâminas citológicas para todos os animais. As células epiteliais e os macrófagos apresentaram a maior representatividade encontrada na contagem diferencial, com média de 62,08% e 26,55% respectivamente. Espirais de Curshmann estiveram presentes em quatro de todos os animais avaliados.

Quando avaliado a citologia do sistema respiratório dos animais avaliados em função da finalidade exercida pelo animal (gráfico 1) encontrou-se diferença significativa ($P=0,042$) apenas para a participação de macrófagos entre os grupos de animais de esporte e patrulha em comparação com o grupo de animais com finalidades pedagógicas.

Gráfico 1 - Avaliação endoscópica e perfil citológico do aspirado traqueobronquial de equinos da região metropolitana de Londrina, variação na porcentagem de macrófagos conforme a atividade desempenhada pelos equinos, (Londrina/PR, 2019).



Letras diferentes indicam diferença significativa entre os grupos pelo teste de Tukey a 5% de significância.

Os locais de permanência, agrupados de acordo com as características observadas, resultaram em:

- quatro propriedades: exclusivamente a pasto.
- duas propriedades: baias fechadas em pavilhões fechados com pé direito acima de 5m de altura.
- duas propriedades: baias em meia parede em pavilhão fechado com pé direito acima de 5m de altura.
- três propriedades: baias fechadas em linhas em pavilhão aberto

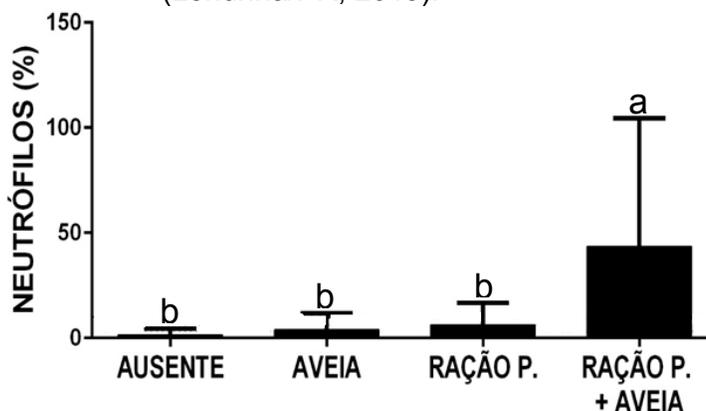
com portas voltadas para o exterior e pé direito abaixo de 4m de altura.

Não houve diferença significativa ($p>0,05$) na celularidade encontrada nos animais avaliados em relação ao sistema de criação.

Não foi possível a comparação do perfil citológico com o tipo de cama utilizado, pois todos os animais permaneciam em camas de maravalha.

Não houve diferença significativa ($p>0,05$) na celularidade em relação à alimentação volumosa, mas quando avaliado o perfil citológico encontrado em relação à alimentação concentrada obteve-se diferença ($p<0,001$) apenas para participação de neutrófilos entre os grupos de animais que não recebiam concentrado, que recebiam apenas aveia e apenas ração peletizada em comparação com os animais que recebiam ração peletizada mais aveia.

Gráfico 2 - Avaliação endoscópica e perfil citológico do aspirado traqueobronquial de equinos da região metropolitana de Londrina, variação na porcentagem de neutrófilos conforme a alimentação concentrada, (Londrina/PR, 2019).



Letras diferentes indicam diferença significativa entre os grupos pelo teste de Tukey a 5% de significância.

5 DISCUSSÃO

Piotto Júnior (2000) descreveu que animais com histórico clínico de afecções respiratórias apresentaram aumento de neutrófilos. No presente estudo animais que possuíam informações de sinais clínicos relacionados ao TR, na ficha epidemiológica, não participaram da descrição do perfil citológico e análises comparativas. A percussão torácica também foi adotada como fator de exclusão. Pois a alteração nesse exame tem relação com doenças pulmonares inflamatórias crônicas (HEWSON; ARROYO, 2015; RUSH; MAIR, 2004; VIEL, 2009).

No presente trabalho, as características de criação dos animais com alteração da percussão pulmonar podem ter atuado em conjunto e favorecido o desenvolvimento desse quadro, pois todos os sete animais permaneciam em sistemas intensivos, recebiam feno seco e ração peletizada e praticavam atividades que exigiam mais do TR, como esporte e/ou patrulha.

O método de colheita utilizado no presente estudo está de acordo com o proposto por Couetil (2012) e demonstrou-se efetivo, já que possibilitou a confecção de lâminas para todos os animais avaliados, dispensando o uso de solução fluida como indicado por Marr (2012) e Mathieson (2012). Outro fator que pode ter favorecido a eficiência na colheita da secreção foi a presença de acúmulo de muco em todos os animais, contudo o endoscópio também é uma ferramenta determinante nessa eficácia já que permitiu a localização e rápida colheita da secreção traqueobronquial, como descrito por Hodgson (2006).

Para realização da endoscopia o uso de contenção física é o mais indicado, as vezes a sedação prévia pode ser necessária (ABUTARBUSH; CARMALT, 2008; COUROUCÉ-MALBLANC, 2013; MAZAN, 2010) No presente estudo a grande maioria dos animais foi colaborativa apenas com a contenção física, o uso de sedativo restringiu-se apenas em dois animais.

De acordo com Gerber (2001) e Robinson (1997) se a produção e a secreção de muco excederem a capacidade de eliminação ocorre o acúmulo do mesmo nas vias respiratórias. No presente estudo todos os animais apresentaram acúmulo de muco.

Transporte, doença, cama, tipo de alimentação, ventilação do local e presença de gases tóxicos têm potencial causador do acúmulo de muco (ALLANO *et al.*, 2016; ART *et al.*, 2002; DIXON *et al.*, 1995; LOPES *et al.*, 2010; RAIDAL *et al.*,

1996; ROBINSON, 2007; RUSH; MAIR, 2004). O contato com a amônia pode causar prejuízo na função do aparelho mucociliar, e a poeira também atua como indutora de inflamação (HOLCOMBE *et al.*, 2001; RUSH; MAIR, 2004). Essa pode ser a causa comum desta alteração observada nos animais avaliados, já que a grande maioria dos animais viviam em sistemas intensivos e semi intensivos, e mesmo os animais que pertenciam ao sistema extensivo, permaneciam em piquetes próximos as baias e pista de treinamento.

Instalações corretas, que permitem a ventilação adequada, devem conter aberturas permanentes nas paredes e nos telhados (ART *et al.*, 2002). Art *et al.* (2002) e Couetil (2012) já relataram que a contaminação das vias aéreas pode desencadear sinais clínicos de tosse e acúmulo de muco. Nenhuma das edificações visitadas durante a realização dentre trabalho continha essa recomendação, fator que pode estar influenciando na concentração de agente irritantes nos locais de permanências dos equinos, contribuindo dessa forma com o acúmulo de muco observado nos animais avaliados.

Além disso, os sistemas clássicos de criação, com uso de cama e feno, proporcionam maiores concentrações de poeira na baia e como a ventilação não remove totalmente a poeira, a troca frequente desses itens é essencial para manter um valor adequado de poeira respirável (ART *et al.*, 2002; WOODS *et al.*, 1993). Conforme as características de criação observadas, a maioria dos animais permanecia dentro de locais que se enquadram nos sistemas clássicos, pois recebiam feno, alimentação concentrada e permaneciam em cama de maravalha, observação importante que também pode estar relacionada com o acúmulo de muco identificado neste estudos nos animais avaliados.

Quanto ao espessamento da carina, a pontuação da espessura do septo traqueal através da visualização endoscópica pode ser usada como uma ferramenta auxiliar diagnóstica para a avaliação das vias aéreas inferiores, mas suas alterações devem ser interpretadas com cautela, pois sua relação com aumento de neutrófilos e de muco, indicativos de doença inflamatória das vias aéreas, não foi comprovada por alguns autores (BREDA, 2014; KOCH *et al.*, 2007). A idealização do escore de espessamento mostrou-se útil para a classificação do grau de espessamento de carina nos animais avaliados neste estudo.

Os valores encontrados no presente estudo (tabela 2) para todas as categorias de equinos e diferentes faixas etárias foram superiores aos relatados por

Becegatto (2017), que descreveu um índice de 47,6% de espessamento de carina nos animais avaliados com uma distribuição regular entre as faixas etárias (0 a 5; 6 a 10 e mais que 10 anos) e 39,68% dos animais ainda apresentaram ambas as alterações (secreção em traqueia e espessamento de carina). Pires *et al.*, (2017) encontraram espessamento de carina em 18% dos animais avaliados e 5% apresentaram acúmulo de muco e espessamento de carina. No presente estudo, 98,70% dos animais apresentaram as duas alterações concomitantes.

A presença de muco traqueobronquial e edema de carina ao exame endoscópico são indicativos de inflamação das VAI, inclusive a mensuração do espessamento de carina pode ser utilizada em associação com outros fatores na diferenciação de ORVA e DIVA, pois equinos acometidos por ORVA exibem um espessamento maior de carina quando comparados aos acometidos pela DIVA (COUROUCÉ-MALBLANC, 2013; KOBLINGER *et al.*, 2001; WYSOCKA; KLUCINSKI, 2015).

Estudos mostraram que uma das principais causas de baixo desempenho em equinos está relacionada a distúrbios respiratórios, inclusive a inflamação das vias aéreas é um achado comum em equinos com ou sem alterações nas VAS (FRANKLIN; ALLEN, 2008; RUSH; MAIR, 2004). Neste estudo todos os animais demonstraram de alguma forma sinais de inflamação no TR, ficando evidente que os problemas inflamatórios das vias aéreas podem ser mais frequentes do que se imaginava na região geográfica estudada.

De acordo com Cian *et al.* (2015) e Hodgson (2006) as células epiteliais são o principal tipo celular encontrado em amostras de animais saudáveis. Quando observada a presença de células epiteliais escamosas é possível que tenha ocorrido a contaminação pela raspagem do endoscópio durante a passagem nasofaríngea (BAIN 1997; ZINKL, 2002). No presente estudo as células epiteliais apresentaram a maior representatividade na contagem diferencial (tabela 3), e foram observadas células escamosas (figura 1B) em apenas cinco animais, que provavelmente derivaram da contaminação com a VAS (vias aéreas superiores).

Erck (2009) atribuiu um intervalo de confiança de 0 a 35% de participação de células epiteliais no LT. No entanto a porcentagem desse tipo celular já foi relatada com uma variação de 5 até 79% de participação na contagem diferencial em cavalos saudáveis (FERNANDES *et al.*, 2000; FORTES JÚNIOR, 2005; MAIR *et al.*, 1987; PIOTTO JUNIOR, 2000). Couetil (2012) e Michelotto Júnior

(2008) relataram que as células epiteliais podem ter sua participação aumentada quando a colheita é realizada com auxílio do endoscópio. O valor encontrado no presente estudo situa-se dentro das faixas já relatadas, mas acredita-se que a participação das células epiteliais tenha sido influenciada pelo método de colheita.

Apenas dois animais não apresentaram nenhum tipo de células epiteliais. Não há um significado clínico para essa variação já que a não participação desse tipo celular é um limite normal (ERK, 2009), mas, no presente estudo, esse achado pode estar relacionado ao fato de que ambos os animais apresentaram valores de neutrófilos acima dos comumente descritos como adequados. Esses animais apresentaram valores de neutrófilos de 26,34% e 64,67% na contagem diferencial e os dois também apresentaram acúmulo de muco e espessamento de carina, indícios para investigar a presença de alguma enfermidade respiratória.

Em relação aos macrófagos os valores de referência já descritos variam entre 30 e 80% na contagem diferencial (ERK, 2009; COUETIL, 2012). Outros estudos já demonstraram a representatividade desta célula variando entre 24 e 79% na contagem diferencial, em cavalos saudáveis (DERKSEN *et al.*, 1989; RICHARD *et al.*, 2010b). Quando há diminuição dos macrófagos na contagem diferencial, pode estar associada à presença de enfermidades ou atividades físicas em excesso (LEANDRO *et al.*, 2002; MICHELOTTO JÚNIOR, 2010; ROSSI *et al.*, 2008; WYSOCKA, KLUCINSKI, 2015).

Apenas dois animais apresentaram valores de macrófagos acima de 80%. O aumento de macrófagos já foi detectado nas vias aéreas de cavalos PSI de corrida, que apresentaram tosse crônica (MCKANE *et al.*, 1993), mas no presente trabalho nenhum desses animais apresentou tosse, a única alteração encontrada em simultâneo foi a presença de muco e espessamento de carina.

A proporção relativa de neutrófilos na vias aéreas dos cavalos na contagem diferencial é considerada baixa, principalmente em cavalos sem lesões das VAI, no entanto, os neutrófilos respondem a uma variedade de estímulos e seus números podem variar rapidamente (HODGSON; HODGSON, 2007; PIOTTO JÚNIOR, 2000; ZINKL, 2002). Valores de neutrófilos entre 4,6 e 32% já foram relatados em cavalos saudáveis (RICHARD *et al.*, 2010a). Entretanto um número de neutrófilos considerado adequado está relacionado com a participação desse tipo celular em até 20% na contagem diferencial (BAIN, 1997; COUETIL, 2012).

No presente trabalho a participação de neutrófilos no perfil citológico

enquadra-se dentro dos valores recomendados, porém, mesmo com valores dentro da normalidade 12 animais apresentaram neutrófilos acima dos 20%, três deles continham neutrófilos degenerados. Todos os animais que apresentaram neutrófilos degenerados também mostraram presença de bactérias na avaliação citológica. Este aumento e a alteração de morfologia são condições prováveis de causa séptica, pelo fato de os neutrófilos degenerados e tóxicos estarem relacionados com agentes bacterianos e fúngicos (HODGSON; HODGSON, 2007; MAIR, 1987). Porém, devido à forma de colheita é possível haver contaminação durante o trajeto do endoscópio até o local de amostragem (BAIN, 1997; ZINKL, 2002; HODGSON, 2006; MARR, 2012). Com isso, não é possível afirmar a relação da presença de bactérias com essa condição no presente estudo.

Outros nove animais apresentaram neutrófilos aumentados sem alterações morfológicas. O aumento de neutrófilos maduros, sem alterações degeneradas ou tóxicas pode estar associado a causas não sépticas e as mais comuns são a DIVA e a ORVA (CIAN *et al.*, 2015; HODGSON, 2006; KUSANO *et al.*, 2008; MAIR, 1987; SMITH *et al.*, 2003). Rossi *et al.* (2018) encontraram maiores valores de neutrófilos em animais com doença respiratória comprovada em comparação com animais saudáveis.

Sgorbini *et al.* (2010) já relataram que os neutrófilos podem estar aumentados por uma reação de defesa à poeira retida dentro dos estábulos. Esse também é um fator a ser levado em consideração para essa alteração observada neste estudo, pois os nove animais com aumento de neutrófilos permaneciam em estábulos em pelo menos um período do dia. Além de receberem feno seco e a ração peletizada, fonte de alimentação com potencial produção de poeira.

Fernandes *et al.* (2000) demonstraram que o lavado traqueobronquial é capaz de recuperar amostras de VAI, mas pode demonstrar uma maior variação celular. Para uma associação confiável entre o aumento de neutrófilos sem alterações na morfologia com causas não sépticas o método mais indicado é a citologia do LBA (ERK, 2009; MAZAN, 2010; MARR, 2012). Porém Rossi *et al.* (2018) demonstraram que qualquer um dos métodos é suficiente para detectar aumento de neutrófilos das vias aéreas. No presente estudo o aspirado traqueobronquial demonstrou alteração na citologia, o que denota sua eficácia como ferramenta de triagem no diagnóstico de enfermidades pulmonares nesses animais.

Os eosinófilos aparecem de forma mais generalizada nas VAI

(HUGUES *et al.*, 2003; ROSSI *et al.*, 2018). A sua participação não deve ultrapassar a faixa de 1% (COUETIL, 2012; HODGSON; HODGSON, 2007; RICHARD *et al.*, 2010a; ROBINSON; HOFFMAN, 2003). A média dos eosinófilos, considerada elevada, na contagem diferencial no presente estudo pode ser explicada porque um dos quatro animais que apresentaram eosinófilos tinha seu valor (9%) muito acima do limite considerado normal.

O aumento de eosinófilos pode ser considerado incomum, com significância clínica não tão esclarecida, mas geralmente um grande aumento na porcentagem de eosinófilos é atribuído a vermes pulmonares e aumentos menores estão relacionados à doença respiratória alérgica (HODGSON, 2006; MAIR, 1987; MCKANE, 2010). Para afirmação da condição determinante do aumento desse tipo celular nesse caso, sugere-se o tratamento com parasiticidas adequados e conseguinte repetição do exame, já que não foram realizados outros exames comprobatórios, como coproparasitológico.

Linfócitos devem aparecer em números baixos em amostras traqueobronquiais (HODGSON; HODGSON, 2007). Geralmente a sua proporção não ultrapassa os 10% em animais sadios (COUETIL, 2012; HODGSON, 2006; MCKANE, 2010; ROBINSON; HOFFMAN, 2003). Hodgson (2006) relatou não haver nenhuma correlação consistente entre uma proporção de aumento de linfócitos e um processo de doença específica. Mas Tyler *et al* (2002) descreveram que casos crônicos de doença inflamatória não infecciosa, principalmente alérgica, pode ser evidenciado o aumento de linfócitos. A relação do aumento do percentual de neutrófilos com sinais de inflamação do sistema respiratório como a tosse e o acúmulo de muco já foi relatada (GERBER *et al.*, 2004; KOBLINGER *et al.*, 2011, ROSSI *et al.*, 2018), porém não há descrição da relação desses sinais com o aumento de linfócitos.

Apenas dois animais apresentaram linfócitos acima de 10%, ambos apresentavam acúmulo de muco e espessamento de carina. Essas alterações podem ser oriundas de uma associação e sinergia de todos os potenciais fatores causadores de inflamação por longo período de tempo, o que exige mais do TR, e como consequência esses animais podem desenvolver enfermidades crônicas.

A porcentagem de mastócitos na contagem diferencial deve ser pequena, pois em aspirados traqueobronquiais, em equinos normais, essas células são raras, já que a sua distribuição é predominante dentro das pequenas vias

aéreas e alvéolos (HODGSON, 2006; ROBINSON; HOFFMAN, 2003).

As espirais de Curshmann foram observadas em quatro animais. Elas são matrizes de muco e moldes dos pequenos bronquíolos, e geralmente são encontradas em animais com produção prolongada e excessiva de muco (MICHELOTTO JÚNIOR, 2008; ZINKL, 2002). Na citologia de cavalos com ORVA grandes quantidades de muco são comumente vistas, com as espirais de Curschmann sendo evidentes (ERCK, 2009; FERNANDES *et al.*, 2006; MAZAN, 2015). Elas são comuns em condições inflamatórias crônicas e podem estar aumentadas em número em relação a cavalos normais (HODGSON; HODGSON, 2007; WHITWELL; GREET, 1984).

Mesmo não tendo comprovação do desenvolvimento de processos crônicos, as únicas alterações observadas nesses animais foram o acúmulo de muco e espessamento de carina. Equinos estabulados sofrem com as quantidades de poeira, que pode induzir a inflamação das vias aéreas e sobrecarregar os mecanismos de defesa pulmonar, aumentando a produção de muco (ART *et al.*, 2002; GERBER, 2001, HOLCOMBE *et al.*, 2001). Acredita-se que fatores relacionados ao acúmulo de muco já descritos por Art *et al.*, (2002) e Rush e Mair (2004) tenham influenciado de forma constante a produção e excreção do muco, além da indução da reação inflamatória, e com isso geraram a formação dessas matrizes de muco, pois todos os animais com presença de espirais de Curshmann permaneciam em baias em pelo menos um período do dia.

A presença de bactérias foi observada em dez animais, mas devido ao método de colheita as amostras têm potencial de contaminação, o que pode resultar na presença espúria de células epiteliais escamosas e bactérias extracelulares (BAIN, 1997; HODGSON, 2006; MARR, 2012; ZINKL, 2002).

Em relação ao gráfico 1, Costa e Macoris (2007) observaram em seu estudo maiores números de macrófagos em animais que estavam afastados das atividades de serviço em relação aos que estavam em trabalho. Já está bem definido que o exercício físico, enquanto modelo mensurável de indução de stress provoca alterações funcionais no sistema imunológico. Alguns estudos demonstram que o exercício físico moderado parece estar relacionado ao aumento da resposta dos mecanismos de defesa orgânica, enquanto que o exercício físico mais intenso e prolongado ou o treino excessivo parecem enfraquecê-la (LEANDRO *et al.*, 2002).

Michelotto Júnior (2010) relatou que a fagocitose do macrófago

alveolar foi maior em animais em início de treinamento comparado com os animais que permaneciam em condições naturais sem exercícios, porém, houve diminuição na fagocitose de macrófagos em animais que já estavam em treinamento em relação aos animais no início do treinamento.

A atividade celular dos macrófagos não foi mensurada no presente trabalho, porém ao constatar a diminuição da participação deste tipo celular nos animais de esporte e patrulha (gráfico 1), deve-se questionar se o índice de atividade desses animais não está no limite máximo tolerável, e por consequência há diminuição das principais células que devem compor as secreções traqueobronquiais.

Fortes Júnior (2005) e Holcombe *et al.* (2011) já relataram que a inflamação das VAI e maiores alterações citológicas (aumento de macrófagos e neutrófilos em relação a animais de manejo extensivo) tem associação com a estabulação. Ao avaliar o gráfico 2 este resultado propõe que ração e aveia têm maior potencial de desencadear aumento de neutrófilos. No presente estudo, acredita-se que a ação da poeira do alimento tenha atuado em sinergia com as condições de estabulação, como a ventilação diminuída, pois se deve levar em conta que os animais que não consumiam nenhum tipo de alimentação concentrada estavam em sistemas extensivos. Já os animais que consumiam algum tipo de alimento concentrado estavam na grande maioria estabulados em algum período do dia, por isso torna-se imprescindível a associação de fatores de manejo no auxílio ao diagnóstico de condições que levem as alterações citológicas.

Além de a alimentação apresentar diferentes concentrações de poeira, a estabulação também aumenta a aglomeração de fatores irritantes (ART *et al.*, 2002; MCGORUM *et al.*, 1998; VANDENPUT *et al.*, 1998; WOODS *et al.* 1993). De acordo com Couetil (2012) e Sgorbini *et al.* (2010) o aumento de neutrófilos no lúmen traqueal pode ser associado a uma resposta fisiológica à contaminação do trato respiratório por partículas inaladas.

Umidificar os concentrados antes da alimentação é uma alternativa já indicada para amenizar a formação de poeira (ART *et al.*, 2002), porém em nenhum local foi observado esse cuidado no momento de fornecer o alimento, fato que pode estar relacionado a este resultado.

6 CONCLUSÕES

Respeitando-se as condições em que esse trabalho foi realizado, conclui-se que:

- O perfil citológico da secreção traqueobronquial dos animais avaliados é predominantemente composto por células epiteliais e macrófagos.

- Acúmulo de muco e espessamento de carina foram observados com frequência nos animais avaliados.

- As características relativas ao manejo adotado nos animais avaliados na região estudada parece ter relação direta com apresentação desse perfil.

- Os resultados desse trabalho servem como um alerta para os criadores e clínicos de equinos da região, pois a amostragem estudada indica que a população equina avaliada está desenvolvendo anormalidades relacionadas às vias aéreas inferiores.

REFERÊNCIAS

- ABUTARBUSH, S.M.; CARMALT, J. L. Endoscopy of the trachea and bronchi. In: ABUTARBUSH, S.M.; CARMALT, J. L. **Endoscopy and arthroscopy for the equine practitioner**, Jackson, WY, Teton New Media. 2008, p 83-100.
- AINSWORTH, D. M.; HACKETT, R. P. Disorders of the respiratory system. In: REED, S. M.; BAYLY, W. M.; SELTON, D. C. **Equine internal medicine**, 2 ed. St Louis, Missouri. Saunders. 2004. p. 289-353.
- ALLANO, M.; LABRECQUE, O.; BATISTA, E. R.; BEAUCHAMP, G.; BÉDARD, C.; LAVOIE, J-P.; LECLERE, M. Influence of short distance transportation on tracheal bacterial content and lower airway cytology in horses. **The veterinary journal**, 2016, <http://dx.doi.org/doi: 10.1016/j.tvjl.2016.02.009>.
- ART, T.; MCGORUM, B.C.; LELEUX, P. Environmental control of respiratory disease. In: lekeux, p. **Equine respiratory diseases**, Ithaca, New York, USA, 2002.
- BAIN, F. T. Cytology of the respiratory tract. **Veterinary clinics of north america: equine practice**, v. 13, n. 3, p.477-486 1997.
- BARAKZAI, S. Trachea and bronchi. In: BARAKZAI, S. **Handbook of equine respiratory endoscopy**, Philadelphia: Elsevier, 2007, p. 89-102.
- BECEGATTO, D. B. **Alterações endoscópicas em sistema respiratório de equinos na região de Londrina-PR**. 59 f. Dissertação de Mestrado Clínicas Veterinárias – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2017.
- BREDA, C. M. L. **Grau de espessamento da carina brônquica e de quantidade de muco na traqueia como indicador de inflamação das vias respiratórias inferiores em equinos**. 66 f. Dissertação de Mestrado em Medicina Veterinária – Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias, Lisboa, 2014.
- CIAN, F.; MONTI, P.; DURHAM, A. Cytology of the lower respiratory tract in horses: an updated review. **Equine veterinary education**, v. 27, n. 10, p. 544-553, 2015.
- COSTA, N. S.; MACORIS, D. G. Citologia do lavado broncoalveolar de equinos da polícia militar do distrito federal. **Brazilian journal vetererinary research animal science**, São Paulo, v. 44, n. 4, p. 268-274, 2007.
- COUETIL, L. Pathophysiology and diagnosis of inflammatory airway disease (IAD). In: **Proceedings du congrès de l'association vétérinaire équine française – AVEF**, Reims, France, 2012, p. 67 – 70.

COUROUCÉ-MALBLANC, A. Endoscopy at rest in the diagnosis of upper and lower respiratory tract. **Proceedings of the 13th international congress of the world equine veterinary association WEVA**, Budapest, Hungary, p. 1-9. 2013

DERKSEN, F. J., BROWN, C. M., SONEA, I., DARIEN, B. J., ROBINSON, N. E. Comparison of transtracheal aspirate and bronchoalveolar lavage cytology in 50 horses with chronic lung disease. **Equine veterinary journal**, v. 21, p. 23–26, 1989.

DIXON, P. M.; RAILTON, D. I.; MCGORUM, B. C. Equine pulmonary disease: a case control study of 300 referred cases. Part 2: details of animals and of historical and clinical findings. **Equine veterinary journal**, v. 27, n.6, p. 422-427, 1995.

ERCK, E. Sampling the respiratory tract: techniques and interpretation. In: **11th geneva congress on equine medicine and surgery**, Geneva, Suíça, dez, 2009, p.45-47.

FERNANDES, W. R.; MORI, E.; SANCHES, A. Avaliação citológica de lavados traqueobrônquico e broncoalveolar em cavalos clinicamente sadios pelo método de coloração de rosenfeld. **Arquivo brasileiro de medicina veterinária e zootecnia**, v. 52, n. 6, p. 604-609, 2000.

FERNANDES, W. R.; MORI, E.; DA SILVA, L. C. L. C.; BACCARIN, R. Y. A. Estudo retrospectivo de 26 casos de obstrução aérea recorrente (OAR) em cavalos (1997-2004). **Veterinária e zootecnia**, v. 13, n. 2, p. 173-181, 2006.

FORTES JUNIOR, W. F. **Citologia pulmonar de equinos (*equus caballus*) em situação de manejo estrito a campo e estabulados**. 2005. 67 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) - Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Federal do Paraná, Curitiba.

FRANKLYN, S. H.; ALLEN, K. J. Poor performance – not a simple diagnosis. in: **Proceedings of the 10th international congress of world equine veterinary association**, Moscow, Russia, p. 468-469, 2008.

GERBER, V. Mucus in equine lower airway disease. In: **Proceedings of second world equine airways symposium**, Scotland, 2001, p. 1-12.

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, n. 7, p. 576-582, 2004.

HEWSON, J.; ARROYO, L. G. Respiratory disease: diagnostic approaches in the horse. **Veterinary clinics of north america: equine practice**, p. 1-30, 2015.

HODGSON, J. L. Collection and interpretation of tracheal wash and bronchoalveolar lavage for diagnosis of infectious and non-infectious lower airway disorders. In: **proceedings of the 9th international congress of world equine veterinary association**, Marrakech, Morocco. 2006, p 71 – 77.

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, 2007, p. 119- 150.

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, n. 3, p. 244-249, 2001.

HUGHES, K. J.; MALIKIDES, N.; HODGSON, D. R.; HODGSON, J. L. Comparison of tracheal aspirates and bronchoalveolar lavage in racehorses 1. Evaluation of cytological stains and the percentage of mast cells and eosinophils. **Australian veterinary journal**, v 81, n. 11, p. 681-684, 2003.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Produção pecuária municipal, Rio de Janeiro, v. 45, p.1-8, 2017 Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/estatisticas-novoportal/economicas/agricultura-e-pecuaria/9107-producao-da-pecuaria-municipal.html?=&t=sobre>. Acesso em: 10 jan. 2019.

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, p. 1118–1126, 2011.

KOCH, C.; STRAUB, R.; RAMSEYER, A.; WIDMER, A.; ROBINSON, N. E.; GERBER, V. Endoscopic scoring of the tracheal septum in horses and its clinical relevance for the evaluation of lower airway health in horses. **Equine veterinary journal**, v. 39, n. 2, p. 107-112, 2007.

KUSANO, K.; ISHIKARA, Y.; SEKI, K.; KUSUNOSE, R. Characteristic of inflammatory airway disease in japanese thoroughbred racehorses. **Journal of equine science**, v. 19, n. 2, p. 25-29, 2008.

LEANDRO, C.; NASIMENTO, E.; MANHÃES DE CASTRO, R.; DUARTE, J. A.; DE CASTRO, C. M. M. B. Exercício físico e sistema imunológico: mecanismos e integrações. **Revista portuguesa de ciências do desporto**, v. 2, nº 5, p. 80–90, 2002.

LOPES, A. J.; NORONHA, A. J.; MAFORT, T. T. Mecanismos de defesa do aparelho respiratório. **Revista hospital universitário Pedro Ernesto, UERJ**, v. 9, n. 2, p. 10-16, jul/dez, 2010.

MAIR, T. S. Value of tracheal aspirates in the diagnosis of chronic pulmonary diseases in the horse. **Equine veterinary journal**, v.19, n.5, p.463-465, 1987.

MAIR, T. S.; STOKES, C. T.; BOURNE, F. J. Cellular content of secretions obtained by lavage from different levels of the equine respiratory tract. **Equine veterinary journal**, v. 19, n. 5, p. 458-462, 1987.

MARANHÃO, R. P. A.; PALHARES, M. S.; MELLO, U. P.; REZENDO, H. H.; BRAGA, C. E.; SILVA FILHO, J. BVASCONCELOS, M. N. F. Afecções mais frequentes do aparelho locomotor dos equídeos de tração no município de belo horizonte. **Arquivo brasileiro de medicina veterinária e zootecnia**, v. 58, n. 1, p. 21-27, 2006.

MARR, C. M. How to evaluate the lower respiratory tract. In: **Proceedings of the 51st british equine veterinary association congress BEVA**, Birmingham, United Kingdom, p. 216-217, 2012.

MATHIESON, D. How to perform the perfect tracheal wash. In: **Proceedings of the 51st british equine veterinary association congress BEVA**, Birmingham, United Kingdom, p. 128, 2012.

MAZAN, M. R. How to examine the equine respiratory system. In: **Proceedings of the american association of equine practitioners - focus meeting focus on upper and lower respiratory diseases**, Salt Lake City, UT, USA. p. 24-37, 2010.

MAZAN, M. R. Update on noninfectious inflammatory diseases of the lower airway. **Veterinary clinics of north america: equine practice**, v. 31, p. 159–185, 2015.

MCGORUM, B. C.; ELLISON, J.; CULLEN. R. T. Total and respirable airborne dust endotoxin concentrations in three equine management systems. **Equine veterinary Journal**, v. 30, n. 5. P. 430-434, 1998.

MCKANE, S. A. Tracheal wash and bronchoalveolar lavage: sampling technique and fluid interpretation. In: **Proceedings o the 49th british equine veterinary association congress – BEVA**, Birmingham, United Kingdom, set. 2010, p. 155-156.

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, 1993.

MEINKOTH, J. K., COWEL, R. L.; TYLER, R. D.; MORTON, R. J. Métodos de coleta de amostra. In: COWELL, R. L.; TYLER, R. D.; MEINKOTH, J. H.; DENICOLA, D. B. **Diagnóstico citológico e hematologia de cães e gatos**, Ed. MedVet, p. 1-18, 2009.

MELO, U. P. de; FERREIRA, C.; SANTIAGO, R. M. F. W.; PALHARES, M. S.; MARANHÃO, R. de P. A. Equilíbrio do casco equino. **Ciência animal brasileira**, v.7, n.4, p.389-398, out./dez. 2006.

MICHELOTTO JÚNIOR, P. V. Alterações no aspirado/lavado traqueal e no lavado broncoalveolar decorrentes da prática desportiva. **IX Conferência anual da ABRAVEQ**, Palestra, São Paulo, 2008. Disponível em: <http://www.itarget.com.br/newclients/abreveq2012/down/2012/ix_conf_08%20Alteracoes_citologicasxExercicio-palestra_Pedro_Abraveq2008.pdf> Acesso em: 27 nov. 2016.

MICHELOTTO JÚNIOR, P. V. **Efeitos do desafio ambiental e do exercício na funcionalidade dos macrófagos do lavado broncoalveolar de cavalos puro sangue inglês de corrida**. 2010. 113f. Tese (Doutorado em Fisiologia) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba.

PIOTTO JUNIOR, S. B. **Correlação entre os exames citológico do aspirado traqueo-bronquial por fibroscopia e o histopatológico pulmonar por biópsia percutânea em equinos (equus caballus)**. 91f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba. 2000.

PIRES, N. R.; COSTA, M. F. M.; RAMOS, M. T.; BARREIRA, A. P. B.; BORGES, J. R. J. Investigation of respiratory disorders in thoroughbred racehorses training at the brazilian jockey club. **Ciência rural**, Santa Maria, v.47: n. 08, p. 1-6, 2017.

R Core Team (2017). R: A language and environment for statistical computing. R foundation for statistical computing, Vienna, Austria.
Url:<https://www.R-project.org/>.

RAIDAL, S. L.; LOVE, D. N.; BAILEY, G. D. Effects of posture and accumulated airway secretions on tracheal mucociliary transport in the horse. **Australian veterinary journal**, v. 13, n. 2, p. 45-49, fev, 1996.

RICHARD, E. A.; FORTIER, G. D.; LEKEUX, P. M.; ERCK, E. Laboratory findings in respiratory fluids of the poorly-performing horse. **The veterinary journal**, v. 185, n.2, p. 115–122, 2010a. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.tvjl.2009.05.003>>.

RICHARD, E. A., FORTIER, G. D., PITEL, P. H., DUPUIS, M. C., VALETTE, J. P., ART, T., DENOIX, J. M., LEKEUX, P. M., VAN ERCK, E. Subclinical diseases affecting performance in standardbred trotters: diagnostic methods and predictive parameters. **The veterinary journal**, v. 184, p. 282–289, 2010b.

ROBINSON, N. E. Nonrespiratory function of the lung. In: CUNNINGHAM, J. G.; KLEIN, B. G. **Textbook of veterinary physiology**, 4 ed. St Louis, Missouri. Saunders Elsevier. 2007, p. 611 - 618.

ROBINSON, N. E. Structure and function of the tracheobronchial system. In: **Proceedings of the annual convention of the AAEP**, v. 47, 1997, p. 87-94.

ROBINSON, N. E.; HOFFMAN, A. Inflammatory airway disease: defining the syndrome. Conclusions of the havemeyer workshop. **Equine veterinary education**, v. 15, n. 2, p. 61-63, 2003.

ROSSI, H.; VIRTALA, A-M.; RAEKALLIO, M.; RAHKONEN, E.; RAJAMÄKI, M. M.; MYKKÄNEN, A. Comparison of tracheal wash and bronchoalveolar lavage cytology in 154 horses with and without respiratory signs in a referral hospital over 2009-2015. **Frontiers in veterinary science**, v. 5, n. 61, 2018.

RUSH, B.; MAIR, T. **Equine respiratory diseases**, Oxford: Blackwell Science Ltd, 2004.

SGORBINI, M.; BASSINI, R. F.; ATTILI, A. R.; PREZIUSO, S.; BIZZETI, M.; CUTERI, V.; CORAZZA, M. Evaluation of cytology and bacteriology in balf collected from Healthy not performing horses after exposure to environmental allergens. **Proceedings of the 16th italian association of equine veterinarians congress**, Carrara, Italy. p. 262-263, 2010.

SMITH, K. C.; NEWTON, J. R.; GOWER, S. M.; CADE, S. M.; MARLIN, D. J.; DEATON, C. M.; WOOD, J. L. N. Cytology of inflammatory airway disease. In: HOFFMAN, A.; ROBINSON, N. E.; WADE, J. F. **Proceedings of a workshop on inflammatory airway disease: defining the syndrome**, Boston, USA. p. 55-58, 2003.

SPEIRS, V. C. O. Sistema respiratório. In: SPEIRS, V. C. O. **Exame clínico de equinos**, Porto Alegre. Artes Médicas Sul Ltda. p. 37 – 82, 1999.

TYLER, R.D; MEINKOTH, J. H.; COWELL, R. L.; MACALLISTER, C. G.; CARUSO, K. J. Cutaneous and subcutaneous lesions. In: COWELL, L. R.; TYLER, R. D. **Diagnostic cytology and hematology of the horse**, 2 ed, St Louis, Missouri, Mosby. p. 19-42. 2002.

VANDENPUT, S.; DUVIVIER, D. H.; VOTION, D.; ART, T.; LEKEUX, P. Environmental control to maintain stabled COPD horses in clinical remission: effects on pulmonary function. **Equine veterinary journal**, v. 30, n. 2, p. 93-96, 1998.

VIEL, L. Diagnostic methodologies: rao and iad. In: **proceedings of the 4 th word equine airways symposium**, Berne, Switzerland, August, p. 176-179. 2009.

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

WYSOCKA, B.; KLUCIŃSKI, W. Cytological evaluation of tracheal aspirate and broncho-alveolar lavage fluid in comparison to endoscopic assessment of lower airways in horses with recurrent airways obstruction or inflammatory airway disease. **Polish journal of veterinary sciences**, v. 18, n. 3, p. 587–597, 2015.

WOODS P. S. A.; 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, n. 3, p. 208-213, 1993.

ZINLK, J. G. Lower respiratory tract. In: COWELL, L. R.; TYLER, R. D. **Diagnostic cytology and hematology of the horse**, 2 ed, St Louis, Missouri, Mosby. p. 77-86. 2002

ANEXOS

ANEXO A**FICHA EPIDEMIOLÓGICA**

Local: _____ Data: _____

IDENTIFICAÇÃO

Nome:		Raça:	
Idade:	Sexo:	<input type="checkbox"/> Castrado	Peso:
Finalidade:			

ALIMENTAÇÃO

Volumoso			
<input type="checkbox"/> Feno	<input type="checkbox"/> Capim fresco	<input type="checkbox"/> Outros	
<input type="checkbox"/> Úmido	<input type="checkbox"/> Seco		
Concentrado			
<input type="checkbox"/> Ração			<input type="checkbox"/> Aveia
<input type="checkbox"/> Farelada	<input type="checkbox"/> Granulada	<input type="checkbox"/> Peletizada	<input type="checkbox"/> Outros
Outros			

CRIAÇÃO

Criação			
<input type="checkbox"/> Intensivo	<input type="checkbox"/> Extensivo	<input type="checkbox"/> Semi intensivo	
Cama			
<input type="checkbox"/> Maravalha	<input type="checkbox"/> Palha de arroz	<input type="checkbox"/> Casquinha de soja	<input type="checkbox"/> Terra
<input type="checkbox"/> Outros			
Outros			

SISTEMA RESPIRATÓRIO

Tem sinal clínico aparente?			
<input type="checkbox"/> SIM	<input type="checkbox"/> NÃO		
Se sim, quais:			
<input type="checkbox"/> Tosse	<input type="checkbox"/> Secreção nasal	<input type="checkbox"/> Cansaço fácil	<input type="checkbox"/> Sons resp. anormais
<input type="checkbox"/> Ronco	<input type="checkbox"/> Outros		
Já fez endoscopia?			
<input type="checkbox"/> SIM	<input type="checkbox"/> NÃO		

PERCURSÃO PULMONAR (SPIERS, 1999)

Dentro dos parâmetros normais	
<input type="checkbox"/> SIM	<input type="checkbox"/> NÃO
16° costela – T. coxal, limite ventral	
14° costela – T. isquiática, limite ventral	
10° costela – Art. escapuloumeral	
5° costela – Olécrano	
OBS.:	

AVALIAÇÃO ENDOSCÓPICA
AVALIAÇÃO DA SECREÇÃO TRAQUEOBRONQUIAL

Acúmulo de muco (GERBER *et al.*, 2004)

0 1 2 3 4 5

0 - sem secreção, limpo/

1 - várias bolhas pequenas, singulares/

2 - bolhas maiores/

3 - formação de fluxo confluyente/

4 - formação de poças/

5 - abundante quantidade

AVALIAÇÃO DA CARINA

Escore de espessamento de carina

SIM NÃO

0 1 2 3

0 - não espessada

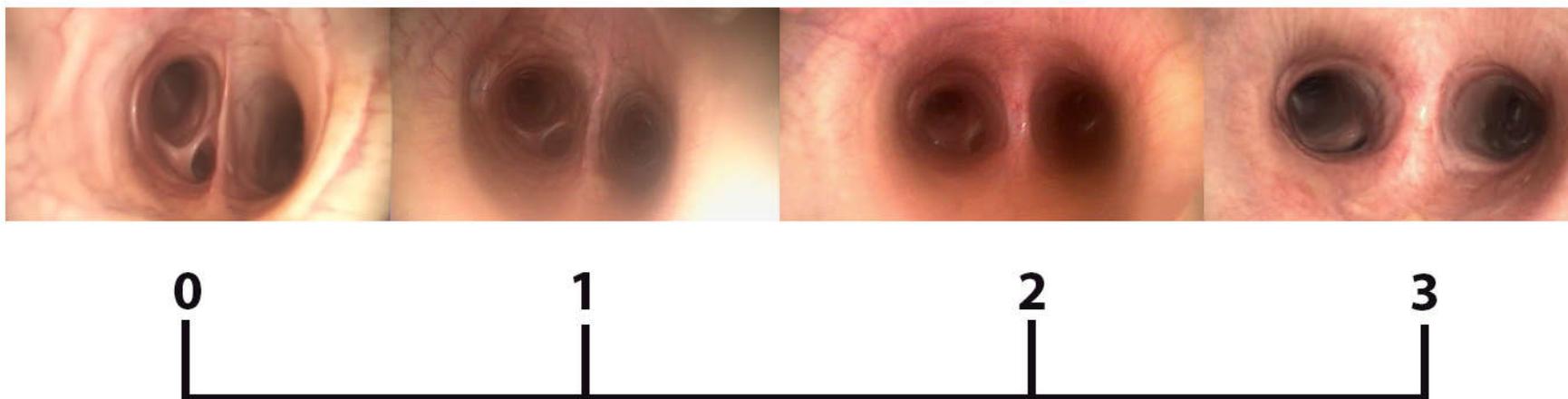
1 - leve espessamento

2 - moderado espessamento

3 - intenso espessamento

ANEXO B

Gabarito para escore de espessamento de carina

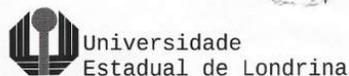


Fonte: o próprio autor.

- 0: carina normal
- 1: espessamento leve
- 2: espessamento moderado
- 3: espessamento intenso

ANEXO C

Aprovação pelo Comitê de Ética de Uso Animal da Universidade Estadual de Londrina – UEL



Universidade
Estadual de Londrina

COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

OF. CIRC. CEUA Nº 01/2018
2018nm.

Londrina, 23 de janeiro de

Prezado (a) professor (a)

Certificamos que o projeto intitulado: "Caracterização Citológica da Secreção Traqueal de Equinos de Londrina e Região," protocolo CEUA n° 23638.2017.56 sob a responsabilidade de **Augusto José Savioli de Almeida Sampaio**, que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem) para fins de pesquisa científica (ou ensino), encontra-se de acordo com os preceitos da Lei n° 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto n° 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), foi **aprovado** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Estadual de Londrina (CEUA/UJEL), em reunião realizada em **22/01/2018**.

O objetivo é identificação da população celular presente no sistema respiratório inferior de equinos de Londrina e região. Grau de invasividade=2

Vigência do Projeto	01/02/2018 a 31/07/2018
Espécie/linhagem	Equídeo
Nº de animais	60
Peso/idade	1-15 anos
Sexo	Machos e Fêmeas
Origem	Fazenda, haras, ranchos e propriedades rurais
Amostras a serem coletadas	Secreção traqueal

Cumpra orientar que caso pretendam-se quaisquer alterações no protocolo experimental aprovado, deve-se submeter o novo protocolo à apreciação da CEUA/UJEL anteriormente à execução das modificações.

Coloco-me à disposição para quaisquer esclarecimentos que se fizerem necessária. Sem mais para o momento, subscrevo, cordialmente.

Maria Fernanda R. Graciano
Profa. Dra. Maria Fernanda Rodrigues Graciano
Coordenadora da CEUA/UJEL

Ilmo.(a) Sr.(a)
Prof. (a) Dr (a). **Augusto José Savioli de Almeida Sampaio**
Responsável pelo projeto
Departamento de Clínicas Veterinárias

C/C para o HV/CCA
C/C para a Chefia do Depto de Clínicas Veterinárias/CCA