



Universidade Estadual de Londrina

ISABELLE SUMIE AZUMA IKEDA

**INCIDÊNCIA DE HEMORRAGIA PULMONAR EM EQUINOS
ATLETAS SUBMETIDOS A PROVA DE LAÇO EM DUPLA
NA REGIÃO DE LONDRINA**

LONDRINA

2020

ISABELLE SUMIE AZUMA IKEDA

**INCIDÊNCIA DE HEMORRAGIA PULMONAR EM EQUINOS
ATLETAS SUBMETIDOS A PROVA DE LAÇO EM DUPLA
NA REGIÃO DE LONDRINA**

Dissertação apresentada ao programa de Pós-Graduação em Clínicas Veterinárias do Departamento de Clínicas Veterinárias da Universidade Estadual de Londrina como requisito parcial para obtenção de título de Mestre em Clínicas Veterinárias.

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

Londrina
2020

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

I26i Ikeda, Isabelle Sumie Azuma.
INCIDÊNCIA DE HEMORRAGIA PULMONAR EM EQUINOS ATLETAS SUBMETIDOS A PROVA DE LAÇO EM DUPLA NA REGIÃO DE LONDRINA / Isabelle Sumie Azuma Ikeda. - Londrina, 2020.
52 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, 2020.
Inclui bibliografia.

1. Hemorragia Pulmonar Induzida por Exercício - Tese. 2. Equinos Atletas - Tese. 3. Laço em Dupla - Tese. 4. Hemossiderófagos - 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.

CDU 619

ISABELLE SUMIE AZUMA IKEDA

**INCIDÊNCIA DE HEMORRAGIA PULMONAR EM EQUINOS
ATLETAS SUBMETIDOS A PROVA DE LAÇO EM DUPLA
NA REGIÃO DE LONDRINA**

Dissertação apresentada ao programa de Pós-Graduação em Clínicas Veterinárias do Departamento de Clínicas Veterinárias da Universidade Estadual de Londrina como requisito parcial para obtenção de título de Mestre em Clínicas Veterinárias.

BANCA EXAMINADORA

Orientador: Prof. Dr. Augusto José Savioli
de Almeida Sampaio
Universidade Estadual de Londrina – UEL

Prof Dr. Wilmar Sachetin Marçal
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Prof. Dr. Luiz Fernando Coelho da Cunha
Filho
Universidade do Norte do Paraná -
UNOPAR

Londrina, 21 de Outubro de 2020.

A minha filha, Marie, motivo de toda minha luta. A minha mãe, Sandra, por ter me ensinado a lutar.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, por ter me dado a resiliência, saúde e perseverança suficientes para concluir esta etapa importante da minha vida.

A minha mãe, Sandra Mary, meu grande exemplo de força, pelas incontáveis vezes que abriu mão de seus sonhos para que eu pudesse realizar os meus. Por acreditar em mim e sempre estar ao meu lado, eu te amo.

Ao meu pai, Clécio Tiago, o anjo que junto a Deus, me protege e me guia.

A minha filha, Marie Kinue, pelas vezes que me fiz ausente, pelos sorrisos que me dão força e me motivam a construir uma vida melhor para nós. Por ter iluminado a minha vida, me ensinando o verdadeiro significado do amor.

Agradeço aos meus tios, Kinoe, José (in memoriam), Claudio, Rose e Fábio, aos meus avós, Mario, Elizabeth, Takashi e Aya, pela minha criação, por todo amor.

Ao meu orientador, Augusto Sampaio, pelos longos anos que vivenciamos, por sempre acreditar na minha capacidade e ser, acima de tudo, um grande amigo. Obrigada pela sua confiança e pelos ensinamentos.

A todos os meus amigos, Eduardo Gois, Gabriel Rocha, Victor Marutani e João Pedro Felix pela ajuda incansável e paciência.

Ao diretor, Aquiles, aos docentes e alunos do CEEP Maria Lydia Cescato Bomtempo, por me fornecer a estrutura para desenvolver meus trabalhos, por acreditarem no meu potencial.

A professora Giovana Wingeter, pelo auxílio para finalização deste trabalho e pela amizade.

A toda equipe do Rancho Ikeda, pelo companheirismo e compreensão em todos os meus momentos que precisei.

A todos os proprietários, que disponibilizaram seus animais e tempo para a execução deste trabalho.

A todos que contribuíram direta e indiretamente para a realização deste trabalho.

“Deus, peço que guie meus passos, minha força de vontade é bem maior que o cansaço. Minhas lutas e batalhas, elas são incontáveis. Mesmo quando eu me vi a beira de um fracasso, eu tive persistência.”

(Oriente)

IKEDA, Isabelle Sumie Azuma. **Incidência de hemorragia pulmonar em equinos atletas submetidos a prova de laço em dupla na região de Londrina.** 2020. 51 F. Dissertação. Programa de Pós-graduação em Clínicas Veterinárias – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2020.

RESUMO

A Hemorragia Pulmonar Induzida por Exercício (HPIE) é uma afecção que acomete equinos atletas de modalidades de alta intensidade, como o Laço em Dupla, causando a diminuição do desempenho atlético, muitas vezes, sem sinais clínicos aparentes. Uma das formas de diagnóstico da HPIE ocorre pela presença de hemossideróforos em lâminas de citologia pulmonar. Levando em consideração a importância desta patologia, o presente estudo teve como principal objetivo identificar a presença de hemossideróforos no aspirado traqueal de equinos da região de Londrina da modalidade atlética de Laço em Dupla. Foram avaliados 28 equinos da raça Quarto de Milha atletas da modalidade de Laço em Dupla, com variações referente a sexo, idade e peso. Nenhum dos animais apresentou epistaxe ou histórico de problemas respiratórios recentes, de acordo com os proprietários. Foi avaliado o sistema respiratório desde a cavidade nasal até a região da carina. Utilizando uma sonda de polietileno com 2,33 mm de diâmetro introduzida pelo canal de trabalho do endoscópio, foi colhido uma pequena quantidade de secreção traqueal para análise citológica. As lâminas foram confeccionadas pela técnica de *squash*, e a coloração utilizada foi Panótico, do tipo Romanowski. Para a leitura das lâminas, utilizou-se a técnica de contagem hematimétrica, realizando a leitura mínima de 10 campos em um aumento de 400X e 1000X, totalizando 400 (quatrocentas) células por lâminas/animal. A maioria das células visualizadas na citologia, eram células epiteliais ($343,82 \pm 55,92$), seguido por linfócitos ($33 \pm 28,44$), macróforos ($16,39 \pm 26,18$), neutrófilos ($3,32 \pm 7,40$), hemossideróforos ($2,35 \pm 6,98$) e eosinófilos ($1,21 \pm 6,03$). Foi observado a presença de hemossideróforos em 39% (11/28) animais, confirmando algum grau de sangramento pulmonar após o exercício.

PALAVRAS-CHAVE: Hemorragia pulmonar, equinos atletas, esforço físico, laço em dupla.

IKEDA, Isabelle Sumie Azuma. **Incidence of pulmonary hemorrhage in equine athletes submitted to a double loop test in the region of Londrina.** 2020. 51 F. Dissertação. Programa de Pós-graduação em Clínicas Veterinárias –Universidade Estadual de Londrina, 2020.

ABSTRACT

Exercise-Induced Pulmonary Hemorrhage (HIPE) is a condition that affects high-intensity equine athletes, such as the Team Roping, causing decreased athletic performance, often without apparent clinical signs. One of the ways of diagnosing HIPE occurs by the presence of hemosiderophages in slides of pulmonary cytology. Taking into account the importance of this pathology, the present study had as its main objective to identify the presence of hemosiderophages in the tracheal aspirate of horses in the Londrina region of the athletic Team Roping modality. 28 horses of the Quarter Horse breed were evaluated in the Team Roping modality, with variations regarding gender, age and weight. None of the animals had epistaxis or a history of recent respiratory problems, according to the owners. The respiratory system from the nasal cavity to the carina region was evaluated. Using a 2.33 mm diameter polyethylene probe introduced through the endoscope's working channel, a small amount of tracheal secretion was collected for cytological analysis. The slides were made using the squash technique, and the color used was Panotic, of the Romanowski type. For the reading of the slides, the hematimetric counting technique was used, performing a minimum reading of 10 fields in an increase of 400X and 1000X, totaling 400 (four hundred) cells per slide / animal. Most of the cells seen in cytology were epithelial cells (343.82 ± 55.92), followed by lymphocytes (33 ± 28.44), macrophages (16.39 ± 26.18), neutrophils ($3.32 \pm 7, 40$), hemosiderophages (2.35 ± 6.98) and eosinophils (1.21 ± 6.03). The presence of hemosiderophages was observed in 39% (11/28) animals, confirming some degree of pulmonary bleeding after exercise.

KEY-WORDS: Pulmonary Hemorrhage; Equine Athletes; Physical Effort, Team Roping.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

| | |
|--|-----------|
| Figura 1 - Incidência de hemorragia pulmonar em equinos atletas da região de Londrina submetidos a prova de laço em dupla. Faixa etária dos equinos submetidos ao exame traqueoscópico e colheita de secreção traqueal na região de Londrina. Abril, 2020..... | 29 |
| Figura 2 - Incidência de hemorragia pulmonar em equinos atletas da região de Londrina submetidos a prova de laço em dupla. Frequência de treinos dos equinos submetidos ao exame traqueoscópico e colheita de secreção traqueal na região de Londrina. Abril, 2020..... | 30 |
| Figura 3 – Incidência de hemorragia pulmonar em equinos atletas da região de Londrina submetidos a prova de laço em dupla. Células epiteliais (E), macrófagos (M), linfócitos (L), neutrófilos (N) e hemossiderófagos (H). Julho, 2020..... | 31 |
| Figura 4 - Incidência de hemorragia pulmonar em equinos atletas da região de Londrina submetidos a prova de laço em dupla. Células epiteliais. Julho, 2020..... | 31 |
| Figura 5 - Incidência de hemorragia pulmonar em equinos atletas da região de Londrina submetidos a prova de laço em dupla. Linfócitos (L) e neutrófilos (N). Julho, 2020..... | 33 |
| Figura 6 - Incidência de hemorragia pulmonar em equinos atletas da região de Londrina submetidos a prova de laço em dupla. Hemossiderófagos. Julho, 2020..... | 34 |

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Incidência de hemorragia pulmonar em equinos atletas da região de Londrina submetidos a prova de laço em dupla. Achados celular nas lâminas dos equinos submetidos ao exame traqueoscópico e colheita de secreção traqueal na região de Londrina. Abril, 2020..... **32**

Tabela 2 - Incidência de hemorragia pulmonar em equinos atletas da região de Londrina submetidos a prova de laço em dupla. Média dos achados celular nas lâminas dos equinos submetidos ao exame traqueoscópico e colheita de secreção traqueal na região de Londrina. Abril, 2020..... **34**

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

| | |
|-------------|--|
| % | Porcentagem |
| ® | Marca Registrada |
| ABQM | Associação Brasileira de Criadores de Cavalo Quarto de Milha |
| AT | Aspirado Traqueal |
| BH | Brasileiro de Hipismo |
| CEUA | Comissão de Ética no Uso de Animais |
| cm | Centímetro |
| DIVA | Doença Inflamatória das Vias Aéreas |
| E | Célula epitelial |
| cm | Centímetro |
| H | Hemossiderófago |
| h | Hora |
| HPIE | Hemorragia Pulmonar Induzida por Exercício |
| IV | Intravenoso |
| Kg | Quilograma |
| Km | Quilometro |
| L | Linfócito |
| LBA | Lavado Broncoalveolar |
| LT | Lavado Traqueal |
| LTB | Lavado Traqueobrônquico |
| M | Macrófago |
| m | Metro |
| mg | Miligrama |
| Min | Minuto |
| ml | Mililitro |
| mm | Milimetro |
| mmHg | Milímetros de Mercúrio |
| N | Neutrófilo |
| ORVA | Obstrução Recorrente das Vias Aéreas |
| PSI | Puro Sangue Inglês |
| QM | Quarto de Milha |
| UEL | Universidade Estadual de Londrina |

SUMÁRIO

| | | |
|----------|---|-----------|
| 1 | Introdução..... | 14 |
| 2 | Revisão de literatura..... | 16 |
| | 2.1 Laço em Dupla..... | 16 |
| | 2.2 Hemorragia pulmonar induzida por exercícios..... | 16 |
| | 2.2.1 Definição e histórico..... | 16 |
| | 2.2.2 Prevalência..... | 17 |
| | 2.2.3 Patogenia..... | 18 |
| | 2.2.4 Sinais clínicos..... | 21 |
| | 2.2.5 Diagnóstico..... | 22 |
| | 2.2.5.1 Endoscopia..... | 22 |
| | 2.2.5.2 Citologia..... | 24 |
| 3 | Material e Métodos..... | 27 |
| | 3.1 Animais..... | 27 |
| | 3.2 Traqueoscopia..... | 27 |
| | 3.3 Confeção e leitura de lâminas..... | 28 |
| | 3.4 Análise estatística..... | 28 |
| 4 | Resultados..... | 29 |
| | 4.1 Citologia pulmonar..... | 30 |
| 5 | Discussão..... | 35 |
| 6 | Conclusão..... | 40 |
| | Referências bibliográficas..... | 41 |

1 INTRODUÇÃO

Gradualmente os equinos têm ocupado um lugar mais importante na vida das pessoas, desde parceiros para atividades físicas e esportes, assim como meio de criação para o sustento dos proprietários e principalmente como animais amigos e companheiros. Dentro dessa perspectiva zelar pela saúde desses animais têm sido uma preocupação pertinente dos proprietários e médicos veterinários (MELO et al., 2006). Além disso, a equinocultura constitui importante segmento do agronegócio brasileiro, representado pela movimentação econômica da ordem de R\$ 7,3 bilhões por ano e pela a geração direta e indireta de 3,2 milhões de empregos (CABP, 2004).

O desempenho atlético do animal provém de um mecanismo complexo entre os sistemas musculo esqueléticos, cardíaco, pulmonar e vascular, ressaltando que as falhas no rendimento esportivo desses animais possuem origem em algum sistema anteriormente mencionado (MARLIN & NANKERVIS, 2002; FRANKLIN & ALLEN, 2008).

Um estudo realizado com 348 equinos que apresentavam diminuição no desempenho revelou que sua principal causa eram alterações no sistema musculoesquelético, seguido do sistema respiratório envolvendo problemas tanto em vias aéreas superiores como inferiores (MARTIN et al., 2000). Quando se trata de queda da *performance* animal, as afecções respiratórias podem estar presentes em animais de diferentes faixas etárias e modalidades (REED E BAYLY, 2000; RUSH E MAIR, 2004).

Ainsworth e Hackett, (2004) citam que as doenças respiratórias ficam em segundo lugar na limitação de desempenho dos equinos, atrás apenas dos problemas musculoesqueléticos. Os estudos das secreções do trato respiratório, em diferentes segmentos anatômicos, vêm constituindo recurso semiológico importante, mediante a observação dos sinais clínicos aparentes, como complemento do diagnóstico das afecções respiratórias (GONÇALVES et al, 1990; GONÇALVES, 1997; FERNANDES et al, 2000). A indústria equestre esportiva está se desenvolvendo cada dia mais, demandando uma necessidade maior de entender a fisiologia dos animais atletas para poder aumentar o desempenho dos mesmos. A avaliação do rendimento atléticos dos equinos deve ser individual, de tal maneira que cada um possui um treino específico e orientado (MARLIN E NANKERVIS, 2002).

As doenças respiratórias são comuns nos cavalos atletas (MORLEY et al., 2014) e podem afetar as vias aéreas superiores, as vias aéreas inferiores ou ambas. As patologias do sistema respiratório que afetam o desempenho desportivo com maior frequência são a Hemorragia Pulmonar Induzida por Esforço (HPIE), a Doença Inflamatória das Vias Aéreas (DIVA) e Obstrução Recorrente das Vias Áereas (ORVA) (COURANCE-MALBLANC et al, 2002b; SANCHEZ et al, 2005; DURANDO et al, 2006; HEGEDUS, 2007; DAVIDSON, 2011b; VAN ERCK, 2011).

A hemorragia pulmonar induzida pelo exercício é utilizada para descrever um sangramento de origem pulmonar que ocorre após um exercício físico intenso (BIRKS et al., 2003). Para auxiliar no diagnóstico, o histórico do animal, sinais clínicos e a endoscopia são fundamentais, tanto quanto a radiologia torácica e o Lavado Broncoalveolar (LBA) (FOREMAN, 1999; ROY; LAVOIE, 2003). A citologia proveniente do lavado broncoalveolar permite a visualização de macrófagos alveolares que fagocitaram hemácias ou com hemossiderina (COWELL E TYLER, 1992). Comumente observa-se células gigantes multinucleadas com hemossiderina em cavalos atletas portadores de episódios recorrentes de HPIE (HEWSON E VIEL, 2002).

Diversos trabalhos sobre a fisiologia equina, descreveram parâmetros que permitem avaliar o desempenho atlético. No entanto, são poucos experimentos realizados com cavalos treinados em condições tropicais e competidores de provas do tipo *western*, como o laço em dupla. De acordo com Hyppä e Pösö (1998), atividades de curta duração e alta intensidade geram um impacto grande no equilíbrio acidobásico e conseqüentemente, na regulação hidroeletrólítica.

Existem diversos estudos abordando a citologia do sistema respiratório de animais de corrida, porém a literatura com estudos de animais de provas rurais, como três tambores, seis balizas e o laço em dupla, ainda é escasso (BACCARIN, 2005).

O presente trabalho visou determinar a incidência de hemorragia pulmonar induzida por esforço em equinos atletas da modalidade *western*, laço em dupla, da região metropolitana de Londrina. Entre os objetivos específicos foi a detecção através da traqueoscopia e da análise da secreção traqueal, sinais compatíveis com presença de hemorragia pulmonar em equinos atletas, participantes da prova de laço em dupla, avaliação o uso da coloração Panóptico, tipo Romanowski, para o diagnóstico da HPIE e verificar a predominância celular encontrada em aspirado traqueal.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 LAÇO EM DUPLA

O laço em dupla, também denominado de *team roping*, é uma modalidade na qual uma dupla de cavaleiros laça um bezerro no menor tempo possível, um cavaleiro é responsável em laçar a cabeça (cabeceiro) sendo que o outro deve laçar os pés (pezeiro). Cada laçada possui em média, uma duração de seis a dez segundos, e o cronometro inicia após a saída do bezerro de dentro do brete e encera-se quando este é laçado. Uma prova atlética desta modalidade pode durar de três até seis horas, considerando-a como uma modalidade de alta intensidade de exigência física.

2.2 HEMORRAGIA PULMONAR INDUZIDA POR EXERCÍCIOS

2.2.1 DEFINIÇÃO E HISTÓRICO

A presença de sangue nas narinas dos equinos durante ou após uma corrida, independentemente de sua origem, é conhecida como epistaxe ou sangramento (EPPINGER, 1990; RAINS et al., 2003). A presença de sangue na árvore traqueobrônquica é característica de Hemorragia Pulmonar e pode chegar até as cavidades nasais ocasionando epistaxe (DOUCET & VIEL, 2002a). Em 1988, Pascoe e colaboradores introduziram o termo Hemorragia Pulmonar Induzida por Exercício (HPIE).

Atualmente a HPIE é definida como sendo a presença de sangue livre, de origem pulmonar, na árvore traqueobrônquica ou sinais de sangue, após exercício intenso, geralmente identificado por endoscopia após 30 a 60 minutos depois do exercício (COSTA et al., 2004; NEWTON et al., 2005) e com os hemossiderófagos no LBA (DOUCET & VIEL, 2002; BIAVA, 2008). Para West et al. (1997) a constatação de sangramento nasal (epistaxe) em equinos após galope é conhecida desde os tempos da rainha Elizabeth II, no século XVI.

2.2.2 PREVALÊNCIA

Estudos têm mostrado que a prevalência da HPIE em cavalos varia com a distância, o tipo de corrida, a idade e o sexo (TAKAHASHI et al., 2001), sendo comum em condições de percurso curto e de exercícios de alta intensidade (HINCHCLIFF et al., 2015; BLOTT et al., 2019). Durando (2012) descreve que a incidência de HPIE está diretamente relacionada com a intensidade do exercício, histórico anterior do animal com episódios de sangramento nasal, tempo de treino, idade, presença de doenças inflamatórias preexistentes ou outras patologias.

Scipioni et al. (2003) avaliaram a incidência de HPIE em 1.811 cavalos Puro Sangue Inglês (PSI), entre 1997 a 2000, por endoscopia, após 30 minutos da corrida, e verificaram que em distâncias de 1.000 a 1.200 metros era de 48%; entre 1.400 a 1.800 metros de 47% e em distâncias superiores a 2.000 metros 5%. Biava et al., (2006c) avaliaram com endoscópio 40 cavalos da raça Quarto de Milha (QM) em provas rurais, 30 minutos após prova, e observaram incidência maior de HPIE em provas de três tambores (75%) quando comparada à de seis balizas (40%). À semelhança, outros autores afirmam que as corridas de curta e média distâncias favorecem ao sangramento pulmonar (BURRELL, 1985; TAKAHASHI et al., 2001; ERICKSON E POOLE, 2002; ERICKSON e POOLE, 2007).

Segundo Dixon et al. (1995a), 75% dos cavalos que correm 240m/min. apresentam HPIE. A síndrome é mais comum em cavalos com mais de cinco anos de idade (OIKAWA, 1999), entretanto, esses dados são exclusivos de animais da raça Puro Sangue Inglês. As éguas (73%) e os machos castrados (74%) são mais acometidos quando comparados a garanhões (49%) (HILLIDGE e WHITLOCK, 1986), embora pareça não haver relação entre HPIE e o sexo dos animais (RAINS et al., 2003; HINCHCLIFF et al., 2004; BACCARIN, 2005). Segundo Biava et al. (2007), a incidência de HPIE em cavalos da raça Quarto de Milha e Brasileiro de Hipismo (BH), diagnosticada pelo exame endoscópico em prova de três tambores e hipismo clássico, respectivamente, foi próxima aos valores já descritos em cavalos Puro Sangue Inglês de corrida (77%) e, maior ou igual aos descritos em cavalos Quarto de Milha de corrida (62%).

A predisposição à HPIE aumenta com a idade do animal (THOMASSIAN, 2005, HINCHCLIFF et al., 2010). Derksen (2001) sugeriu que esse aumento é causado pelo dano pulmonar progressivo dos repetidos episódios de hemorragia e ao

desenvolvimento de enfermidades das vias aéreas superiores. Durante o processo natural de cicatrização, ocorre uma neovascularização bronquial o que pode contribuir para a ocorrência da HPIE (DERKSEN, 2001).

Clark (1995) sugeriu que, condições clínicas ou assintomáticas preexistentes podem tornar os cavalos mais suscetíveis à HPIE por causa da exacerbação do estresse mecânico que ocorre nesses animais. Entretanto, as condições pré-existent não precisam ser necessariamente as causas iniciais da HPIE. A incidência da HPIE é maior no inverno e menor no verão, mesmo no clima tropical (COSTA, 2004).

2.2.3 PATOGENIA

Hinchcliff (2000) relatou que a HPIE deveria ser considerada uma condição habitual e comum nos cavalos de esporte e não uma patologia propriamente dita. Ela é uma consequência fisiológica de exercícios extenuantes. Uma série de alterações fisiológicas é evidenciada nos pulmões, a mais característica é a hipertensão pulmonar, gerada pelo aumento da pressão transmural dos capilares e vascular dos pulmões, aumento do débito cardíaco em dez vezes para suprir o grande aumento do consumo de oxigênio, aumento da viscosidade em duas vezes causada pelo aumento do volume das células sanguíneas de 40 a 60 % que sofrem alterações morfológicas e tornam-se mais frágeis osmoticamente e aumento da pressão atrial esquerda em dez vezes (PASCOE et al., 1995).

O aumento da viscosidade sanguínea secundária à mobilização eritrocitária devido à contração esplênica, que ocorre para garantir o aumento da demanda de oxigênio, contribui para a resistência do fluxo sanguíneo e pode indiretamente aumentar a pressão intravascular pulmonar. Estes fatores são suficientes para causar rompimento de capilares pulmonares saudáveis (PASCOE, 1991). Animais com hematócrito elevado parecem ser mais predispostos a episódios de HPIE (COSTA, 2001).

O ciclo etiopatogênico da HPIE pode ser caracterizado por hipertensão pulmonar, edema nas paredes dos alvéolos, rompimento de capilares alveolares, hemorragia intra-alveolar e presença de sangue nas vias respiratórias, notadamente nos lobos caudodorsais (THOMASSIAN, 2005). Provavelmente, a HPIE, não tem um fator etiológico único. Sua apresentação seria favorecida pela coexistência de

múltiplos fatores, que serão predisponentes ou causadores desta condição (ART & LEKEUX, 1994).

Foram observados sinais de HPIE em PSI não treinados (OIKAWA, 1999), sugerindo que uma remodelação venosa pode começar quando os cavalos entram em treinamento. Robinson et al. (2015) levantaram a hipótese de que a frequência e duração dos eventos de aumentem a pressão pulmonar, como os galopes durante o treinamento ou corridas, quando somadas a suscetibilidade genética do cavalo e a fraqueza vascular, estas determinam o grau de remodelação venosa observada em um cavalo atleta. Esta hipótese é apoiada por observações de que as veias pulmonares são mais rígidas em cavalos de corrida do que em cavalos não atletas (STACK et al., 2014).

Costa (2004) definiu a HPIE como uma síndrome multifatorial, por apresentar ausência de sinais premonitórios, ser composta por uma gama variável de sinais que oscilam individualmente, bem como variação quanto às respostas individuais frente a cada episódio de HPIE, principalmente em relação à performance. Pulz et al (2005) também afirma que esta é uma patologia multifatorial, não sendo causada por um único fator etiológico. Segundo Cook (2002) e Crispe et al (2015), o deslocamento dorsal do palato mole seria uma das principais causas predisponentes para a ocorrência da HPIE, por gerar uma interrupção do fluxo de ar para os pulmões.

Pascoe (2000) relatou que as enfermidades alérgicas, principalmente a ORVA, também teriam influência na ocorrência da hemorragia. Esse mesmo autor indica que as alterações hematológicas, como trombos ou êmbolos, localizados preferencialmente no segmento caudal do lobo diafragmático do pulmão, produzem uma alteração da perfusão sanguínea pulmonar, predispondo a rupturas de capilares durante o exercício.

Mucciacito Junior (2006) concluiu que dentre as alterações das vias aéreas anteriores e traqueia, apenas o deslocamento dorsal do palato mole e neuropatia laringeana recorrente esquerda apresentam correlação positiva com hemorragia pulmonar induzida por exercício, sendo que apenas a primeira foi estatisticamente significativa. Apesar de provocar hipertensão pulmonar, foi demonstrado que o deslocamento dorsal do palato mole parece não interferir na ocorrência da HPIE (HACKETT et al., 1999).

De acordo com Piotto (2006) existem duas teorias mais aceitas que explicam a HPIE. Uma é o aumento da pressão vascular do pulmão durante o exercício intenso

e a outra é o trauma mecânico contínuo sofrido pelo pulmão durante o exercício. Entretanto, descreveu que outros fatores predisponentes estão claramente associados a ocorrência de HPIE, como as afecções pulmonares infecciosas ou bronquites alérgicas, ambas com inflamação nas vias interiores. Também descreveu que a severidade da HPIE pode ser afetada pela obstrução da laringe devido ao aumento do estresse capilar.

A HPIE pode ser causada pela ruptura dos capilares alveolares, passando o sangue para o espaço intersticial e alveolar numa primeira fase e, posteriormente para os brônquios e traqueia (HINCHCLIFF, 2007; BLOTT et al., 2019). Ainda de acordo com Hinchcliff (2007) os capilares caudodorsais são os mais afetados, principalmente na fase inicial da HPIE, raramente são visualizadas lesões nos capilares ventrais (HINCHCLIFF, 2007). A ruptura dos capilares ocorre devido aumento da pressão transmural (diferença entre a pressão capilar e a pressão alveolar) durante o exercício físico intenso (AINSWORTH E CHEETHAM, 2010).

No pulmão do cavalo a pressão dos pequenos vasos ou capilares aumentam de 25 mmHg em repouso para 115 mmHg durante o exercício extremo (HINCHCLIFF, 2007), enquanto na maioria das espécies essa pressão chega apenas a 35 mmHg. Quando a pressão está entre 75 mmHg e 115 mmHg ocorre ruptura dos capilares e entrada de sangue para dentro dos alvéolos, indicando que o aumento da pressão induz a HPIE (PIOTTO, 2006). Erickson (2000) relatou que a ruptura de capilares pulmonares resulta de uma hipertensão vascular combinada a uma grande pressão intrapleural negativa, gerando um aumento da pressão capilar pulmonar com consequente hemorragia. As pressões capilares observadas na circulação pulmonar dos equinos foram classificadas como as mais altas dentre os mamíferos, não sendo assim uma surpresa que estes capilares se rompam. Talvez o mais espantoso seja o tempo que eles resistem sem romper (HARKINS & TOBIN, 1995).

Durante o exercício, repetidas ondas de impacto são produzidas a cada contato dos membros torácicos com o solo. Essas ondas de impacto promovem um repetido trauma na região dorso caudal do pulmão. Também ocorre a propulsão visceral cranialmente durante a fase de apoio dos membros torácicos, comprimindo o diafragma crânio-dorsal, consequentemente produzindo trauma na região dorso caudal do pulmão (PIOTTO, 2006). Schroter et al. (1998) relatou que as regiões mais afetadas pela HPIE seriam as submetidas a ondas de pressão de maior intensidade, o suficiente para causar edema e hemorragia, o que explicaria a distribuição simétrica

das lesões pulmonares. Clark (1995) propôs que a hemorragia é primariamente causada por estresse mecânico na região dorso caudal do pulmão. Assim, forças mecânicas originam-se sobre uma área relativamente estreita e podem permitir a ocorrência de laceração ou ruptura do parênquima. Em relação à etiologia, o mesmo autor citou alguns fatores para explicar o fenômeno da HPIE, sendo a doença pulmonar crônica um deles.

2.2.4 SINAIS CLÍNICOS

Os sinais clínicos associados com HPIE são, basicamente, diminuição do rendimento atlético e a presença de epistaxe (DURANDO, 2012). Esta última, entretanto, ocorre somente em 0,25 a 13% dos cavalos de corridas acometidos de HPIE (ERICKSON e POOLE, 2003). A epistaxe quando presente, normalmente ocorre de forma bilateral e sendo visualizada durante ou logo após o exercício físico intenso (HINCHCLIFF, 2007).

A epistaxe em equinos não deve ser considerada somente um sangramento nasal, e sim, um sinal de hemorragia em alguma área do aparelho respiratório que é drenada para a cavidade nasal, podendo ocorrer durante ou logo após o exercício, sendo frequentemente notada ao final do exercício, particularmente, quando o animal retorna à cocheira e lhe é permitido baixar a cabeça. A epistaxe pode ser bilateral ou não, e se resolve dentro de algumas horas ou pode ainda recidivar (BACCARIN, 2005).

A consequência no desempenho atlético é contraditória, pois há trabalhos que relatam cavalos vencedores com HPIE (MACNAMARA et al., 1990; RAINS et al., 2003), embora o grau da hemorragia pulmonar pareça ser o fator limitante da capacidade de exercício do animal (EPPINGER, 1990). Exceto pela pequena proporção de cavalos que apresentam epistaxe e o baixo rendimento atlético de alguns animais afetados há poucas anormalidades detectáveis no exame físico de rotina dos animais com Hemorragia Pulmonar Induzida por Exercício. A frequência cardíaca e respiratória, assim como a temperatura retal podem estar elevadas logo após o exercício, e não estar relacionadas à hemorragia pulmonar, já que retornam à normalidade no período de repouso imediato (BACCARIN, 2005).

Os cavalos afetados podem deglutir e tossir mais frequentemente, durante a recuperação do exercício devido à presença de sangue na faringe e laringe, embora

a tosse seja uma observação comum em cavalos que estão se recuperando de exercícios extenuantes (RAINS et al., 2003). Dispnéia é rara em cavalos sangradores e, quando presente, indica hemorragia severa ou outras doenças pulmonares como pneumonia, pneumotórax e ruptura de abscessos pulmonares (BACCARIN, 2005). São raros os casos de óbitos pela HPIE, mas pode ser causada pelo edema pulmonar e a asfixia (OTAKA, 2011).

2.2.5 DIAGNÓSTICO

2.2.5.1 Endoscopia

A endoscopia é, até hoje, a forma mais utilizada para diagnosticar a HPIE (BIRKS et al., 2003). O tempo ideal para sua realização variou de 30 a 90 minutos após o exercício (PASCOE, 1985; OTAKA et al., 2014) ou de 45 a 90 minutos (EIPH STUDY GROUP, 1999), endoscopicamente, pode-se classificar a HPIE em graus que variam de 0 a 5, caracterizados por ausência de sangue visível, e por hemorragia nasal e presença de sangue abundante na traquéia, respectivamente (THOMASSIAN, 2005).

Segundo Eppinger (1990) e Baccarin (2005), a HPIE pode ser classificada em 5 graus:

- Grau I: visualização de pequenas estrias e/ou coágulos no terço distal da traqueia.
- Grau II: filetes de sangue presentes em toda extensão traqueal, sem uniformidade, com a presença de coágulos maiores.
- Grau III: presença de sangue por toda extensão traqueal de forma uniforme.
- Grau IV: visualização de grande quantidade de sangue por toda a traqueia, laringe, faringe, fossas nasais.
- Grau V: exacerbação do grau IV com sangramento nasal (epistaxe).

A citologia do lavado traqueal (LT) ou o LBA também confirmam a HPIE, sendo um exame mais específico e sensível do que a endoscopia. Isto porque a presença de hemácias ou a eritrofagocitose pode ser observada após uma semana da

ocorrência da hemorragia, e os hemossiderófagos (produtos da quebra de hemoglobina) após 21 dias ou mais (MCKANE et al., 1993).

O exame endoscópico se constitui em elemento fundamental no diagnóstico de HPIE (TEJERO, 2001; AZEVEDO, 2016; OLIVEIRA et al., 2017). É o exame mais utilizado e apropriado para o diagnóstico definitivo. Deve ser realizado de 30 a 120 minutos (BACCARIN, 2005) ou de 60 a 120 minutos após o exercício (TAKAHASHI et al., 2001), que é o tempo necessário para que o sangue proveniente do pulmão atinja a traqueia (MOORE, 1996). O exame deve ser feito preferencialmente com o paciente consciente, isto é, sem sedativos, pois qualquer um deles altera a funcionalidade da garganta. Para animais indóceis, sedativo como xilazina (0,9mg/Kg, por IV), butorfanol (0,1 mg/Kg, por IV) ou detomidina (0,2 mg/Kg, por IV) pode ser usado (PARENTE, 2002; WALDRIDGE et al., 2006).

Um aparelho endoscópico, com um metro de comprimento é suficiente para a realização do procedimento no segmento proximal e medial da traqueia. Já os aparelhos com 1,50 m de extensão e com 10 mm de diâmetro permitem broncoscopia, em cavalos adultos (SWEENEY, 1997). A introdução do endoscópio ocorre pelo meato nasal ventral, pela narina direita ou pela esquerda (BARAKZAI, 2007). De maneira sequencial, as estruturas anatômicas do trato respiratório anterior são avaliadas durante a introdução do instrumento, das narinas à laringe. Depois, avança-se o endoscópio para a traqueia e avalia-se o lúmen traqueal, até a carina (MICHELOTTO, 1993). O exame da traqueia não requer anestesia adicional (DOUCET E VIEL, 2002). A tosse usualmente não é induzida até proximidades da carina, porém 10 ml de cloridrato de lidocaína a 2%, infundida pelo canal de trabalho do endoscópio pode diminuir, mas não cessar completamente a tosse (SWEENEY, 1997).

A traqueia estende-se da laringe à carina, na qual divide-se em brônquio principal direito e esquerdo. A traqueia é de aproximadamente 75 a 80 cm de comprimento e tem em média 7 cm de diâmetro. É formada por 50 a 60 anéis cartilagosos incompletos, os quais são facilmente vistos durante o exame endoscópico. Os brônquios principais direito e esquerdo são formados pela bifurcação da traqueia e localizados dentro do tórax na altura na quinta costela (VOSS e SEAHORN, 2004). Para Waldrige et al. (2006) o procedimento é rápido, com mínimo desconforto para o animal e traz informações valiosas pela visualização das vias aéreas no momento da passagem do endoscópio. A presença de sangue nas vias

aéreas pode ser observada um a três dias após o exercício, na maioria dos cavalos, ou até mesmo sete dias depois dos episódios de hemorragia (HINCHCLIFF et al., 2004).

O exame endoscópico é utilizado também para estimar a severidade da HPIE. A quantidade de sangue nas vias aéreas pode variar de acordo com o grau de gravidade da hemorragia. A classificação utilizada nos hipódromos brasileiros baseia-se no volume de sangue observado e sua distribuição ao longo das vias aéreas (EPPINGER, 1990; BACCARIN, 2005).

O prognóstico de longo prazo para equinos diagnosticados com HPIE pode ser considerado ruim, visto que, não há cura e a única maneira de permitir que os cavalos se recuperem é dando-lhes tempo de descanso suficiente entre as corridas ou aposentando-os (WATKINS et al., 2008).

2.2.5.2 Citologia

O exame citológico das vias aéreas inferiores pode ser realizado através do lavado traqueal (LT), do aspirado traqueal (AT), ou do LBA, auxiliando na avaliação das doenças do trato respiratório (FOGARTY, 1990; GONÇALVES et al., 2004, BIAVA et al., 2006c). A utilização da técnica de lavado broncoalveolar com auxílio de endoscopia é importante instrumento na avaliação citológica das vias aéreas inferiores, permitindo diagnóstico mais preciso das afecções respiratórias em equinos (LESSA et al., 2003; LESSA et al., 2007). A grande vantagem do uso da endoscopia para a colheita do LBA é a visualização das estruturas das vias aéreas anteriores e posteriores, definindo com isso, suas alterações anatômicas (ROY e LAVOIE, 2003; BIAVA, et al., 2006c), além de classificar a intensidade da hemorragia pulmonar (ERICKSON e POOLE, 2003).

O LBA é a técnica mais sensível para avaliar o meio celular dentro de um segmento de brônquio, bronquíolos e alvéolos, sendo considerado o método mais adequado para avaliar as vias aéreas inferiores (FORGARTY e BUCKLEY, 1991; CLARK et al., 1995) porém é um procedimento pouco utilizado na rotina clínica no Brasil (LESSA et al., 2007). A interpretação citológica varia com o método de colheita da amostra e a técnica de processamento utilizada (HEWSON e VIEL, 2002; BIAVA et al., 2006b), assim como tipo, volume e pH do fluido inoculado, diâmetro do material

de colheita e o tempo de estocagem da amostra antes do processamento (MCGORUM et al., 1993).

A avaliação da população celular do líquido recuperado pela técnica de LBA pode indicar processos inflamatórios, quando houver aumento do número de neutrófilos; processos alérgicos, parasitários e fúngicos, quando houver aumento de eosinófilos; atesta a hemorragia pela presença de macrófagos alveolares fagocitando eritrócitos ou de hemossideróforos quando houver hemossiderina em seu citoplasma (COWELL e TYLER, 1992; ZINKL, 2002; OLIVER et al., 2003; BIAVA et al., 2006b). É comum observar-se células gigantes multinucleadas com hemossiderina em cavalos de corrida, portadores de episódios recorrentes de HPIE (HEWSON e VIEL, 2002). Segundo Mckane e Slocombe (1999), são observados poucos hemossideróforos nos primeiros três dias após a hemorragia pulmonar. Estes autores relatam grande quantidade de hemossideróforos e mesmo de eritrócitos, totalmente preservados, 14 dias após a hemorragia, o que, caracteriza a dificuldade do sistema mucociliar e fagocitário em remover os vestígios da hemorragia. Referem ainda, que foi observado um pequeno número de hemossideróforos no lavado broncoalveolar, realizado 21 dias após a hemorragia pulmonar.

De acordo com Pecora (1959), o uso do aspirado traqueal iniciou desde o século XX e é comumente utilizada na Medicina Veterinária. A técnica usada atualmente, é uma adaptação de Mansmann e Knight (1972) e Beech (1975), sendo que a citologia proveniente deste material pode avaliar equinos portadores de patologias respiratórias, agudas e crônicas (HOFFMAN e VIEL, 1997). Greet (1982) e Hodgson e Hodgson (2003) descrevem o AT como uma técnica rápida e não invasiva, e pode ser incluída como procedimento de rotina.

O aspirado traqueal pode ser empregado para avaliação citológica ou identificação de patógenos infecciosos, o acesso pode ocorrer pela via percutânea ou utilizando o canal de trabalho durante a endoscopia (HODGSON e HODGSON, 2003). Em casos nos quais objetiva-se analisar microrganismos presentes na secreção, a técnica transtraqueal elimina o risco de contaminação presente na cavidade nasal e via aérea superior (HEWSON e VIEL, 2002). Para a análise citológica do AT podem ser utilizados colorações de Diff-Quick, Wright-Giemsa, Azul de Prússia (Silvia, 2012), My-Grunwald, Azul de Toluidina e Romanovski (MICHELOTTO JUNIOR et al., 2007) e BIAVA et al., 2007), para a visualização das células e posteriormente, a contagem (HEWSON e VIEL, 2002; HODGSON e HODGSON, 2003).

A quantidade de células epiteliais pode aumentar quando o AT é colhido com o auxílio do endoscópio, e entre as células inflamatórias, há um maior número de macrófagos, em animais sadios (HODGSON E HODGSON, 2003). ZINKL (1992) relata ser comum a presença de células epiteliais em AT em equinos sadios. Hogdson e Hodgson (2003) ainda afirmam, que o percentual normal de neutrófilos no AT de em um equino atleta jovem deve ser inferior a 30%.

Apesar da contagem diferencial celular se mostrar variada conforme a técnica de colheita utilizada, sempre há predomínio de macrófagos nos animais sadios. Nos doentes, por processos inflamatórios, independentemente do agente causador, a contagem celular mostrará predomínio de neutrófilos (COWELL e TYLER, 1992; MOORE, 1996; SPEIRS, 1997; SPEIRS, 1999; BIAVA et al., 2006c).

Doucet (1998) concluiu que a presença de hemossideróforos em secreções coletadas por aspirado traqueal ou lavado broncoalveolar, por endoscopia, é eficaz para o diagnóstico da HPIE, mostrando também relação significativa entre a hemorragia pulmonar e a presença de hemossideróforos no exame citológico. Sweeney e Beech (1991) descrevem que 1% dos casos de HPIE pode ser confirmado através da presença de epistaxe, 50% poderão ser confirmados através da visualização de sangramento na traqueia pelo exame endoscópico e que 100% dos animais avaliados por exame citológico serão positivos para HPIE.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Animais

De um total de 30 animais, foram utilizados 28 equinos atletas da prova de laço em dupla localizados na cidade de Londrina-PR (Latitude: 23° 18' 37", Longitude: 51° 09' 46" O, Altitude: 605m, Umidade Relativa do ar: 32%, Köppen-Geiger Cfa) e região (em um raio de até 50 km), provenientes de haras, fazendas e pequenas propriedades. Não foi realizado nenhuma alteração em relação manejo e treinamento, assim como, não houve predileção por raça, sexo ou idade.

Não foi necessário utilizar nenhum tipo de sedação para a execução deste trabalho, sendo que os equinos mais agitados, foram descartados (2/30), para que não houvesse interferência do temperamento do animal na realização do exame, visto que, cavalos temperamentais, poderiam dificultar a realização da técnica.

Todos os animais participantes do presente estudo foram submetidos ao exame de traqueoscopia, após uma prova atlética não oficial da ABQM de Laço em Dupla.

3.2 Traqueoscopia

O exame foi realizado 24h após a repetição completa de uma prova atlética não oficial da ABQM de Laço em Dupla. Para a realização da endoscopia os animais estabulados eram retirados das baias e aqueles que estavam soltos a pasto eram contidos, nas condições em que se encontravam. Não foram utilizados sedativos, apenas métodos de contenção física (cabresto, tronco e cachimbo).

O equipamento utilizado foi um videoendoscópio flexível (STORTZ® modelo 60118 NKS, 180 cm de comprimento e 10,4 mm de diâmetro), um processador de vídeo (STORTZ® modelo 692360 10) e uma fonte de luz (XENON® - 201325 01). As imagens foram visualizadas pelos avaliadores através de um monitor de televisão (Samsung® Sync Master T200M). Foram avaliadas as estruturas do sistema respiratório desde a cavidade nasal até a porção posterior da traqueia (carina). A endoscopia era realizada por dois examinadores (um introduzindo o endoscópio e outro controlando o equipamento). O endoscópio era introduzido pela narina (esquerda ou direita) seguindo através do meato nasal ventral, passando pela região da laringe e faringe, até atingir a traqueia.

Após a avaliação da traqueia, coletou-se uma pequena quantidade de secreção traqueobrônquica através de uma sonda de polietileno com 2,33mm de diâmetro, introduzida pelo canal de trabalho do endoscópio, a qual foi acoplada uma seringa de 20 ml para sucção em local próximo a região da carina.

Este estudo foi previamente aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA-UEL) pelo protocolo nº: 2676.2019.03 (Anexo I).

3.3 Confeção e leitura de lâminas

As amostras foram acondicionadas em recipientes plásticos estéreis, a temperatura de até 4 graus Celsius, e transportadas até o laboratório de ciências do CEEP Maria Lidya Cescato Bomtempo, para confecção de lâminas citológicas. As lâminas foram confeccionadas pela técnica de *squash*, fixadas com metanol e a coloração utilizada foi Panótico, do tipo Romanowski.

Para a leitura das lâminas, utilizou-se a técnica de contagem hematimétrica, realizando a leitura mínima de 10 campos em um aumento de 400X e 1000X, totalizando 400 (quatrocentas) células por lâminas/animal (MAZAN e HOFFMAN, 2003). As células foram diferenciadas em diferentes tipos (células epiteliais, macrófagos, linfócitos, neutrófilos, eosinófilos e hemossiderófagos (HEWSON e VIEL, 2002). A presença de hemossiderófagos foi utilizada para confirmar a presença da HPIE (SWEENEY e BEECH, 1991; SANCHEZ et al, 2005; MICHELOTTO JR et al., 2011).

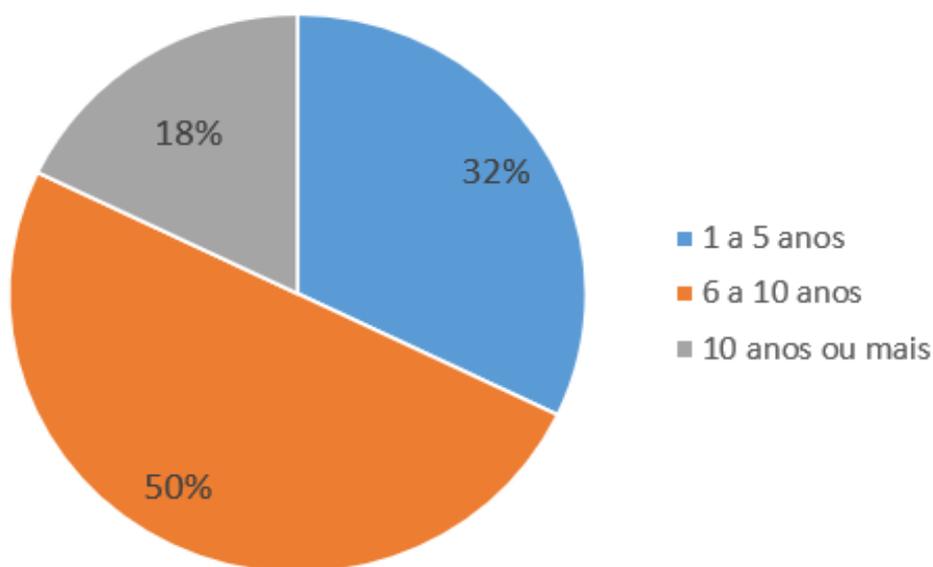
3.4 Análise estatística

Para a interpretação dos resultados estatísticos foi utilizado a estatística descritiva obtida através do programa RStudio, sendo que as principais informações analisadas foram as frequências absolutas e relativas e a média aritmética.

4 RESULTADOS

Foram realizadas 28 traqueoscopias com colheita de secreção traqueal, sendo que cada uma durou em torno de 10 minutos. Do total de equinos submetidos ao exame, 4 animais eram fêmeas e 24 machos. A média de idade foi de 8 anos, sendo que o animal mais novo tinha 3 anos e o mais velho, 25 anos. Do total, 32% (9/28) apresentavam idade entre 1 e 5 anos, 50% (14/28) idade entre 6 e 10 anos, e 18% (5/28) acima de 10 anos de idade (Figura 1).

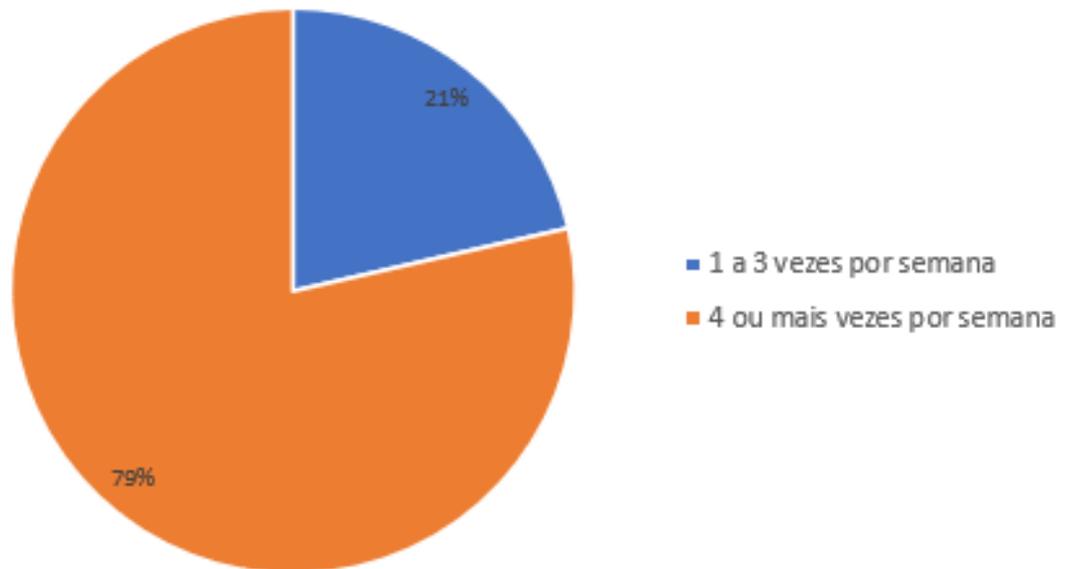
Figura 1 - Incidência de hemorragia pulmonar em equinos atletas da região de Londrina submetidos a prova de laço em dupla. Faixa etária dos equinos submetidos ao exame traqueoscópico e colheita de secreção traqueal na região de Londrina. Abril, 2020.



Fonte: o autor, 2020.

Todos os animais que participaram do experimento eram atletas da modalidade de Laço em Dupla, pertencentes a raça Quarto de Milha, pesando em média 490 kg, com histórico de ótimo desempenho atlético e sem queixas anteriores de problemas respiratórios e/ou epistaxe. Apenas 6 (21,42%) dos animais avaliados realizavam treinos com frequência de 1 a 3 vezes por semana, enquanto 22 (78,57%) eram treinados mais de 4 vezes por semana (Figura 2).

Figura 2 - Incidência de hemorragia pulmonar em equinos atletas da região de Londrina submetidos a prova de laço em dupla. Frequência de treinos dos equinos submetidos ao exame traqueoscópico e colheita de secreção traqueal na região de Londrina. Abril, 2020.

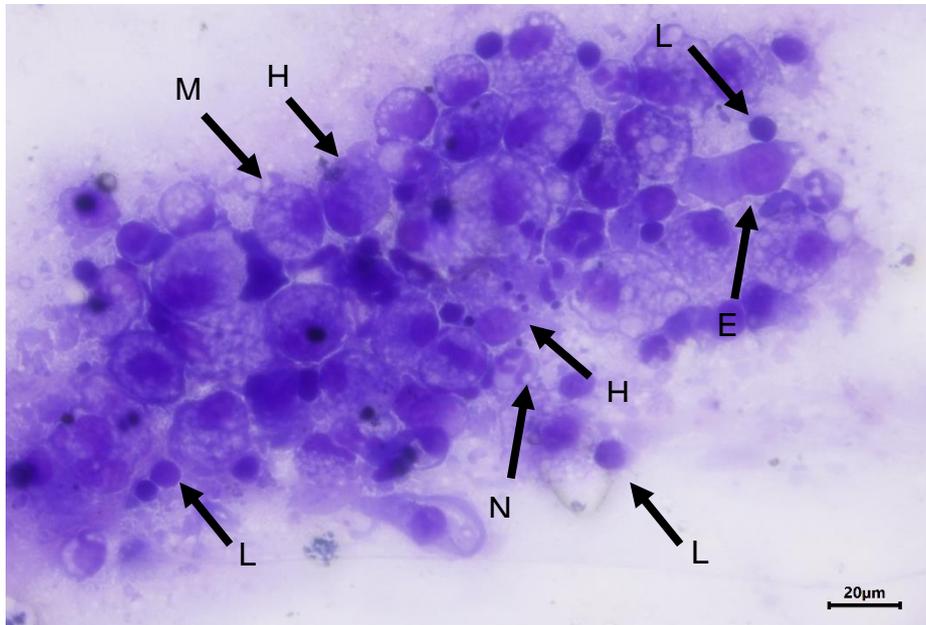


Fonte: o autor, 2020.

4.1 Citologia pulmonar

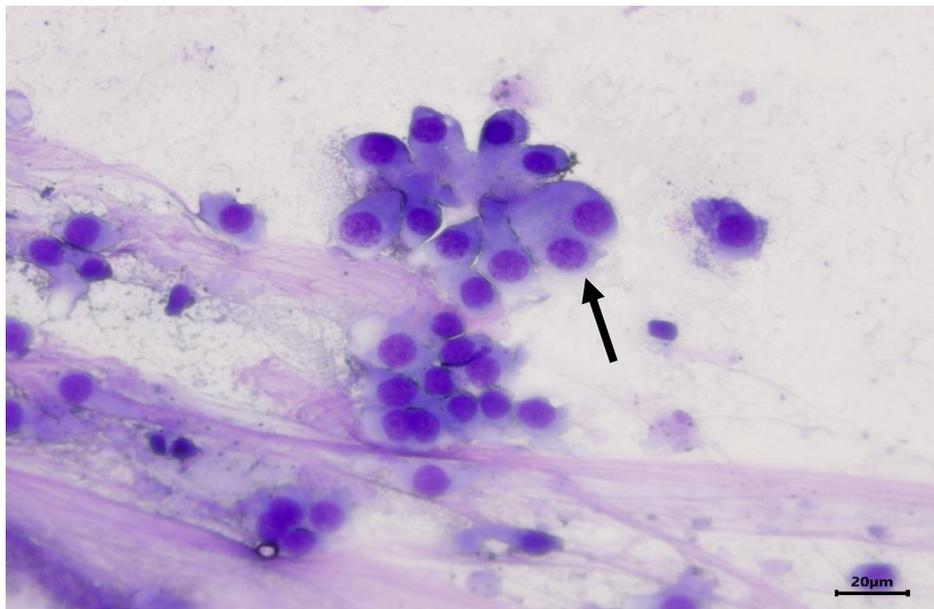
Das 11200 células (Figura 3) analisadas nas lâminas, 0,58% (66/11200) eram hemossiderófagos, 85,95% (9627/11200) das células encontradas eram epiteliais (Figura 4), sendo que 4,09% (459/ 11200) eram macrófagos, 8,25% (924/11200) linfócitos, 0,83% (93/11200), neutrófilos, e 0,30% (34/11200) eosinófilos (Tabela 1).

Figura 3 – Incidência de hemorragia pulmonar em equinos atletas da região de Londrina submetidos a prova de laço em dupla. Células epiteliais (E), macrófagos (M), linfócitos (L), neutrófilos (N) e hemossideróforos (H). Julho, 2020.



Fonte: o autor, 2020.

Figura 4 - Incidência de hemorragia pulmonar em equinos atletas da região de Londrina submetidos a prova de laço em dupla. Células epiteliais. Julho, 2020.



Fonte: o autor, 2020.

Tabela 1 - Incidência de hemorragia pulmonar em equinos atletas da região de Londrina submetidos a prova de laço em dupla. Achados celular nas lâminas dos equinos submetidos ao exame traqueoscópico e colheita de secreção traqueal na região de Londrina. Abril, 2020.

| Animal | Epitelial | Macrófagos | Linfócitos | Neutrófilos | Eosinófilos | Hemossiderófagos | Total |
|--------|-----------|------------|------------|-------------|-------------|------------------|-------|
| 1 | 113 | 139 | 131 | 17 | 0 | 0 | 400 |
| 2 | 303 | 39 | 44 | 5 | 0 | 9 | 400 |
| 3 | 358 | 24 | 15 | 0 | 0 | 3 | 400 |
| 4 | 370 | 4 | 22 | 2 | 1 | 1 | 400 |
| 5 | 360 | 7 | 33 | 3 | 0 | 0 | 400 |
| 6 | 376 | 9 | 15 | 0 | 0 | 0 | 400 |
| 7 | 324 | 4 | 39 | 0 | 0 | 33 | 400 |
| 8 | 350 | 21 | 25 | 3 | 0 | 1 | 400 |
| 9 | 336 | 27 | 32 | 5 | 0 | 0 | 400 |
| 10 | 348 | 18 | 34 | 0 | 0 | 0 | 400 |
| 11 | 336 | 15 | 40 | 0 | 0 | 9 | 400 |
| 12 | 376 | 6 | 14 | 1 | 0 | 3 | 400 |
| 13 | 284 | 6 | 37 | 37 | 32 | 4 | 400 |
| 14 | 304 | 35 | 56 | 5 | 0 | 0 | 400 |
| 15 | 342 | 12 | 43 | 2 | 0 | 1 | 400 |
| 16 | 387 | 1 | 11 | 1 | 0 | 0 | 400 |
| 17 | 364 | 11 | 21 | 3 | 0 | 1 | 400 |
| 18 | 384 | 10 | 6 | 0 | 0 | 0 | 400 |
| 19 | 391 | 4 | 4 | 1 | 0 | 0 | 400 |
| 20 | 397 | 0 | 3 | 0 | 0 | 0 | 400 |
| 21 | 369 | 3 | 28 | 0 | 0 | 0 | 400 |
| 22 | 360 | 10 | 26 | 3 | 1 | 0 | 400 |
| 23 | 366 | 6 | 28 | 0 | 0 | 0 | 400 |
| 24 | 377 | 9 | 13 | 0 | 0 | 1 | 400 |
| 25 | 368 | 4 | 28 | 0 | 0 | 0 | 400 |
| 26 | 364 | 1 | 33 | 2 | 0 | 0 | 400 |
| 27 | 256 | 28 | 114 | 2 | 0 | 0 | 400 |
| 28 | 364 | 6 | 29 | 1 | 0 | 0 | 400 |

Fonte: o autor, 2020.

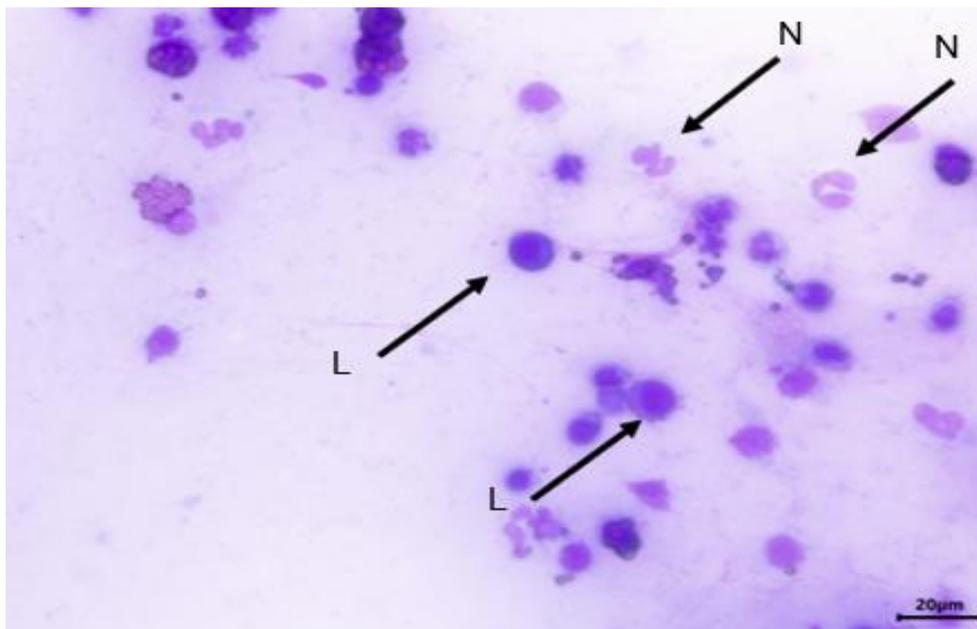
Em todas as lâminas observou-se grande quantidade de células epiteliais, sendo que a menor quantidade foi encontrado no animal 1 (113) e o maior no animal 20 (397), este, foi o único que não obteve nenhum macrófago, sendo que a quantidade de macrófagos demonstrou valores variáveis, atingindo o maior valor no animal 1 (139).

O menor número de linfócitos (Figura 5) foi verificado no animal 20 (3), enquanto, o animal 1 (131) apresentou uma maior quantidade. Apenas em 60,71%

(17/28) dos animais submetidos ao exame, foi observado a presença de neutrófilos, visto que, o maior valor foi obtido no animal 13 (37). Os eosinófilos foram encontrados em 10,71% (3/28) dos animais, sendo que o animal 13 (32) obteve a maior quantidade.

Os hemossiderófagos foram observados em 39% (11/28) das lâminas, e o animal 13 (33) apresentou o maior número. Cowell e Tyler (1992) relataram a dificuldade de mensurar valores de referência no LBA, pois a técnica utilizada e o processamento podem interferir nos resultados. No presente estudo, a presença de hemossiderófagos determinou a presença da HPIE no animal, pois Whitwell e Greet (1984) afirmaram que todo equino submetido a um exercício físico intenso sofre algum grau de hemorragia pulmonar. Para Doucet e Viel (2002) o ponto de corte depende do propósito da pesquisa e da seleção dos indivíduos.

Figura 5 - Incidência de hemorragia pulmonar em equinos atletas da região de Londrina submetidos a prova de laço em dupla. Linfócitos (L) e neutrófilos (N). Julho, 2020.



Fonte: o autor, 2020.

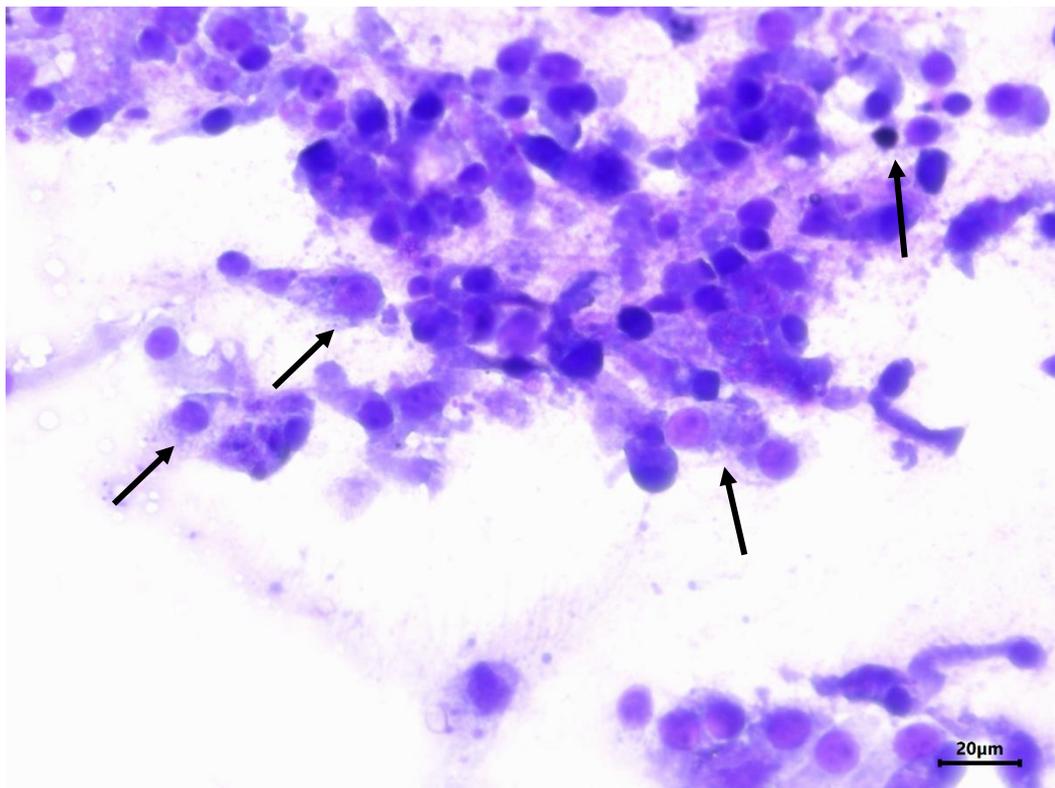
Conforme a Tabela 2, foram encontradas as seguintes médias das células: hemossiderófagos $2,35 \pm 6,98$, epiteliais $343,82 \pm 55,92$, macrófagos $16,39 \pm 26,18$, linfócitos $33 \pm 26,18$, neutrófilos $3,32 \pm 7,40$ e eosinófilos $1,21 \pm 6,03$ (Figura 6).

Tabela 2 - Incidência de hemorragia pulmonar em equinos atletas da região de Londrina submetidos a prova de laço em dupla. Média dos achados celular nas lâminas dos equinos submetidos ao exame traqueoscópico e colheita de secreção traqueal na região de Londrina. Abril, 2020.

| Células | Média |
|------------------|----------------|
| Hemossiderófagos | 2,35 ± 6,98 |
| Epiteliais | 343,82 ± 55,92 |
| Macrófagos | 16,39 ± 26,18 |
| Linfócitos | 33 ± 26,18 |
| Neutrófilos | 3,32 ± 7,40 |
| Eosinófilos | 1,21 ± 6,03 |

Fonte: o autor, 2020.

Figura 6 - Incidência de hemorragia pulmonar em equinos atletas da região de Londrina submetidos a prova de laço em dupla. Hemossiderófagos. Julho, 2020.



Fonte: o autor, 2020.

5 DISCUSSÃO

No presente estudo, 28 animais de temperamento conhecido participaram da colheita de secreção traqueal através da traqueoscopia. Em relação a idade e o peso dos animais, houve uma variação, no entanto, a raça e a modalidade esportiva praticada foram as mesmas para todos. Os equinos apresentavam-se hígidos, e estavam realizando atividades físicas sem nenhuma restrição, de acordo com os proprietários. Para a realização da colheita do aspirado traqueal, não foi necessário realizar nenhum tipo de anestesia, permitindo um procedimento seguro, assim como Doucet e Viel (2002), que também relatam sobre a sedação não ser necessária.

O uso de endoscópio pode ser comumente tolerado pela maioria dos animais, entretanto, a utilização do cachimbo e do tronco, para contenção física, são recomendados por Roy e Lavoie (2003), para realizar o exame, Biava et al., (2008) também utilizaram o cachimbo em seu estudo com equinos da raça Quarto de Milha. Para a execução deste trabalho, apesar de não ter sido necessário o uso da sedação, foram utilizados os métodos de contenção física citados, visando a segurança do animal, da equipe e do equipamento. Nem todas as propriedades possuíam um tronco, nas quais esta ferramenta encontrava-se indisponível, os animais eram contidos dentro de uma baia com o uso do cachimbo.

Durante a introdução do endoscópio pela cavidade nasal, houve uma reação de grande parte dos animais, até a chegada da laringe. Roy e Lavoie (2003) relataram sobre esta reação ser comum e sugerem uma rápida introdução do endoscópio da cavidade nasal até a faringe. O endoscópio foi introduzido pelo meato nasal ventral, devido ao seu diâmetro maior, como sugere Barakzai (2007). Ao preferir esta via, foi conferido uma maior mobilidade do endoscópio.

Hewson e Viel (2002) relataram, o uso do endoscópio para avaliação da secreção, desta forma, o método de colheita utilizado neste estudo ocorreu através do canal de trabalho do endoscópio, utilizando uma sonda de polietileno, possibilitando ainda, a visualização de possíveis sangramentos presentes na traqueia. Desde 2003, Hodgson e Hodgson citam a colheita de AT com o uso do endoscópio como exame de rotina na medicina veterinária.

Biava (2007) descreveram o uso de lidocaína 2% para diminuir o reflexo da tosse causado pela carina ao introduzir o cateter para colheita de LBA no brônquio, visando um procedimento que fosse minimamente invasivo, neste estudo optou-se

pela colheita de AT, visto que, esta técnica não necessita de dessensibilização da região da carina. No entanto, Derksen et al. (1989), relataram que o sangramento da HPIE ocorre no lobo pulmonar caudal, visto que, a contagem de células no aspirado traqueal encontra-se mais diluída do que no LBA.

Silvia et al. (2012) recomendaram o uso da coloração Azul de Prússia para uma boa visualização dos hemossiderófagos, no entanto, é um corante com um custo mais elevado e não pode ser encontrado com muita facilidade. Michelotto Junior et al. (2007) e Biava et al. (2007) descreveram o uso da coloração do Panotico, tipo Romanovski com bons resultados, levando em consideração o custo baixo e o fácil acesso ao corante, o mesmo ainda possui uma rápida execução, desta forma foi escolhido para ser utilizado neste estudo.

Neste estudo, nenhum dos animais avaliados apresentaram epistaxe, corroborando os trabalhos de Michelotto Junior et al. (2007) e Azevedo (2016), onde ambos utilizando equinos da raça QM não apresentaram epistaxe, porém, identificaram a presença de sangramento durante a traqueoscopia em ambos os trabalhos, diferente do que foi encontrado no presente estudo, no qual, não foi possível diagnosticar a HPIE durante o exame endoscópico. Enquanto, Erickson e Poole (2002) e Otaka (2014) descreveram a presença de sangramento nasal em 0,25 a 13% dos animais em animais da raça Puro Sangue Inglês (PSI),

Silva et al. (2012) realizaram um trabalho coletando lavado traqueal após exercício em 37 cavalos de polo, todos apresentaram ser positivo para HPIE. Oliveira et al. (2017), em um estudo analisando a presença de sangue nas vias aéreas inferiores após exercício em 15 cavalos de corrida, 8 apresentaram algum grau de sangramento, confirmando a HPIE. De acordo com Durando (2012), não existe um consenso entre a prevalência da doença, visto que o grau de incidência depende do método de diagnóstico utilizado, bem como, da interpretação dos resultados e a frequência de realização dos exames nos animais.

Segundo Takahashi (2001), a HPIE possui uma prevalência maior em fêmeas do que em garanhões, visto que, o único animal deste trabalho que apresentou um aumento de hemossiderófagos em relação aos outros, foi uma fêmea. Hillidge e Whitlock (1986) descreveram uma incidência maior em éguas e machos castrados, em relação a garanhões, já Rains et al. (2003), Hinchcliff et al. (2004) e Baccarin (2005) relataram não haver relação entre o sexo dos animais e a prevalência do HPIE.

Oikawa (1999) descreveram uma maior prevalência da Hemorragia Pulmonar Induzida por Exercício em equinos com idade igual ou superior a cinco anos, assim como Hinchcliff et al. (2010) relataram haver correlação entre o aumento da idade com a HPIE. A idade média dos animais que apresentaram hemossideróforos era de 9,27 anos, sendo o mais novo com 5 anos e o mais velho com 25 anos, assim como Thomassian (2005) relatou uma incidência de HPIE maior em relação ao avanço da idade do animal.

Biava (2007) em seu estudo utilizando 20 equinos da raça quarto de milha atletas da modalidade de Laço em Dupla na região de Curitiba, com altitude média de 917m, encontrou hemossideróforos em 15% animais, sendo inferior aos valores obtidos nesse estudo (39%). Enquanto, Azevedo (2016) encontrou hemossideróforos em 4,8% dos 21 equinos da modalidade atlética de vaquejada em um trabalho realizado na cidade de Recife, com altitude média de 4m, podendo evidenciar uma possível influência da altitude na quantidade de hemossideróforos.

Lessa et al. (2003), afirmaram a presença média de $0,23 \pm 0,43$ células epiteliais em LBA e Spiers (1999), relatou uma média de $53,0 \pm 20,0$ em Lavado Traqueobrônquico (LTB), a média encontrada neste trabalho foi de 343,42 células epiteliais em lâminas derivadas de aspirado traqueal. Células epiteliais constituem como principal achado em lâminas provenientes de aspirado traqueal em equinos clinicamente saudáveis (ZINKL, 1992). Hodgson e Hodgson (2003), revelaram que em equinos saudáveis, pode ser encontrado uma pequena quantidade de células epiteliais, no entanto, este número pode aumentar quando o método de colheita do aspirado traqueal é realizada com o endoscópio.

Em relação as células inflamatórias, o macrófago alveolar, pode ser encontrado em grande quantidade no aspirado traqueal de equinos saudáveis (HODGSON E HODGSON, 2003). Segundo Leandro et al. (2002), de acordo com a duração e a intensidade do exercício físico, pode haver ou não a estimulação do sistema imunológico. Deve-se levar em consideração que a resposta imunológica pode variar de acordo com a idade do animal, e as características do exercício, como a duração, intensidade (FERRANDEZ, 1999). Sugiura et al. (2001), relataram que os macrófagos são as células do sistema imunológico que mais respondem ao exercício físico.

Fortes Junior (2005), estudando cavalos criados a campo e estabulados, encontrou 30,3% e 59,0% de macrófagos, respectivamente, utilizando o método aspirado traqueal para a avaliação citológica pulmonar, sendo estes valores

superiores ao encontrado neste trabalho (4,09%). Entretanto, Lessa et al. (2003) e Fernandes et al. (2000) utilizando diferentes métodos de colheita (LBA e LTB) chegaram a resultados diferentes dos obtidos no presente estudo ($53,11 \pm 7,85$ e $81,52 \pm 15,92$ de macrófagos, respectivamente).

O macrófago pulmonar quando fagocita hemácias ou hemossiderina proveniente dos eritrócitos, são chamados de hemossideróforos, sendo utilizados para diagnosticar a hemorragia pulmonar (ZINKL, 2002; OLIVER et al., 2003). De acordo com Hodgson e Hodgson (2003), os hemossideróforos podem ser encontrados em um longo período após o sangramento, devido a sua lenta eliminação no sistema.

Biava et al. (2006b), descreveram em um estudo utilizando 20 equinos atletas da raça QM, da modalidade de Laço em Dupla, somente 15% (3/20) apresentaram hemossideróforos no LBA, resultado inferior ao obtido neste trabalho, que demonstrou 39% (11/28) dos animais com hemossideróforos.

Michellotto Junior et al. (2007), utilizando o mesmo método deste estudo com quantidade de animais aproximados (27) e da mesma raça, porém, com tempo de colheita e modalidade atlética diferentes (30 minutos após a prova de três tambores), encontraram uma média de $1,31 \pm 0,93$ hemossideróforos, inferior aos resultados obtidos neste trabalho ($2,35 \pm 6,98$). Entretanto, Azevedo et al. (2016) também realizaram um estudo utilizando a mesma raça e método de colheita deste trabalho, diferindo da modalidade (vaquejada) e do tempo de colheita (30-60 min após a simulação da prova atlética), encontrou valores superiores de hemossideróforos aos obtidos neste estudo, variando de $4,00 \pm 2,81$ a $9,00 \pm 2,08$ (puxar e esteira, respectivamente).

De acordo com Sánchez et al. (2005), a confirmação da HPIE pode ocorrer através da visualização de sangramento pulmonar na traqueia pelo exame endoscópico, ou pela presença de hemossideróforos no LBA, assim como Michelotto Jr (2011) também utilizou a presença de hemossideróforos no LBA como marcador no diagnóstico da HPIE.

Biava et al. (2006a), em seu estudo avaliando cavalos da raça QM após o exercício físico, encontrou uma média de $34,1 \pm 14,8$ linfócitos no LBA, valores aproximados ao obtidos neste trabalho ($33 \pm 26,18$), utilizando o AT. No entanto, Lessa et al. (2003) descreveram uma média de $41,33 \pm 9,60$ linfócitos em LBA de

equinos sadios, sendo que, somente três animais (1, 14 e 27) neste trabalho apresentaram valores acima da referência consultada.

Em cavalos sadios, é comum encontrar neutrófilos em pequena quantidade no aspirado traqueal, Hodgson e Hodgson (2003) citaram uma porcentagem inferior a 30%, como limite normal em equinos atletas jovens. O número elevado de neutrófilos pode ser observado em processos inflamatórios como a DIVA, a bronquite crônica, ORVA e HPIE (BEECH, 1975; HODGSON e HODGSON, 2003; BIAVA et al., 2006a, HEGEDUS, 2007).

Os valores obtidos de neutrófilos por Fortes Junior (2005) e Biava et al. (2006a) foram inferiores (0,7 e 0,6%, respectivamente), ao percentual obtido neste trabalho (0,83%). Azevedo (2016) estudando cavalos de vaquejada, encontrou valores médios, que variam de $37,20 \pm 12,57$ a $4,66 \pm 0,6$ (puxar e esteira, respectivamente), sendo ambos os valores superiores ao observado neste estudo ($3,32 \pm 7,40$).

De acordo com Hare e Viel (1998), animais com percentual de eosinófilos abaixo de 5% estão dentro da normalidade. A presença de eosinofilia em equinos com HPIE foi encontrada por Viel e Hewson (2003) no LBA e por Hegedus et al. (2007) no LTB. O aumento de eosinófilos também pode ser relacionado a um quadro alérgico (FREEMAN e ROSZEL, 1997). No entanto, Fortes Junior (2005) analisou cavalos criados a campo, encontrou um percentual idêntico ao deste trabalho (0,3%), diferindo do obtido em cavalos estabulados (0,5%). Também foram relatados por Biava et al. (2006b) e Biava et al. (2007) percentuais superiores de eosinófilos sendo 2,97 (Laço em Dupla) e 0,9% (Três Tambores), respectivamente.

Neste estudo, os animais submetidos ao exame endoscópico e a citologia de aspirado traqueal, não revelaram alterações relevantes, visto que, todos os equinos utilizados eram clinicamente normais e saudáveis. Sabe-se que apesar do Laço em Dupla ser uma modalidade de alto desempenho atlético, causam menor exaustão pulmonar do que em outras modalidades como os Três Tambores e a Vaquejada, e conseqüentemente, menos incidência de HPIE.

6 CONCLUSÃO

Analisando-se os resultados obtidos, conclui-se que:

- A maior quantidade de células observadas nas lâminas foi de células epiteliais, seguido pelo valor de linfócitos e macrófagos;
- O uso da coloração de panóptico possibilitou a clara identificação de hemossiderófagos, podendo ser utilizada para esse fim;
- Os percentuais obtidos nos valores de hemossiderófagos, demonstraram uma incidência significativa de Hemorragia Pulmonar Induzida por Exercício Físico em animais atletas da modalidade de Laço em Dupla da região de Londrina;
- São necessários estudos complementares para o estabelecimento da incidência da Hemorragia Pulmonar Induzida por Exercício em outras populações de equinos atletas da modalidade de Laço em Dupla;
- O índice de diagnóstico de HPIE nos equinos da população estudada, sugere que possivelmente esses animais não estão perfeitamente adaptados ao protocolo de condicionamento físico exigido em uma prova de Laço em Dupla.

REFERÊNCIAS

AINSWORTH, D. M.; HACKETT, R. P. Disorders of the Respiratory System. In: REED, S. M.; BAYLY, W. M.; SELLON, D. C. **Equine Internal Medicine**. 2 ed. St Louis, Missouri. Saunders. p. 196-289. 2004.

AINSWORTH, D.M.; CHEETHAM, J. **Disorders of the respiratory system: diagnostic approach to respiratory disorders**. In S.M. Reed, W.M. Bayly, & D.C. Sellon, *Equine internal medicine* (3rd Ed). St. Louis, Missouri: Elsevier Saunders. P 289 – 341, 2010.

ART, T., E LEKEUX, P. Exercise-induced physiological adjustments to stressful conditions in sports horses. **Livestock Production Science**, 92, 101-111. 2005.

AZEVEDO, N. M. S. **Diagnóstico de hemorragia induzida por esforço através do lavado traqueal e broncoalveolar em cavalos submetidos ao teste de simulação de vaquejada**. 72 f. Tese (Programa de Pós-Graduação em Ciência Veterinária) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife. 2016.

BACCARIN, R. Y. A. Diagnóstico e tratamento pneumopatias de esforço. In: II Simpósio Internacional do Cavalo Atleta - IV Semana do Cavalo, Belo Horizonte. **Anais**. Belo Horizonte: Universidade Federal de Minas Gerais, p. 12-28, 2005.

BARAKZAI, S. **Guttural pouches**. In: Handbook of Equine Respiratory Endoscopy. Saunders. Cap 5, p. 49- 64, 2007.

BEECH, J. **Cytology of traceobronchial aspirates in horses**. *Veterinary Pathology*, v. 24 n 12, p. 157 – 64, 1975.

BIAVA, J. S. et al. Avaliação clínica e citológica do trato respiratório de cavalos da raça Quarto de Milha, após o exercício. **Archives of Veterinary Science**, v. 11, n. 1, p. 60-65, 2006c.

BIAVA, J. S. et al. Escore total de hemossiderófagos (THS) na hemorragia pulmonar induzida por exercício (EIPH) em cavalos quarto de milha. *Revista Acadêmica Ciência Animal*, v. 6, n. 3, p. 335-340, 2008.

BIAVA, J.S.; GONÇALVES, R.C.; DONRBUSCH, P.T.; ZANOTTO, G.M.; BIONDO, A.W. Avaliação clínica e citologia do trato respiratório de cavalos Quarto de Milha após exercício. **Revista da Universidade Rural, Série Ciências da Vida**, v.26, supl., p.143, 2006a.

BIAVA, J.S.; GONÇALVES, R.C.; FINGER, M.A.; ZANOTTO, G.M.; BIONDO, A.W. Hemorragia Pulmonar Induzida por Exercício (EIPH) em cavalos de diferentes modalidades esportivas. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DO CAVALO ATLETA, 3., 2007, Belo Horizonte. **Anais**. Minas Gerais: Universidade Federal de Minas Gerais, p.58. 2007.

BIAVA, J.S.; GONÇALVES, R.C.; ZANOTTO, G.M.; FINGER, M.A.; FERREIRA, F.P.P.; BIONDO, A.W. Hemorragia Pulmonar Induzida por Exercício (EIPH) em

cavalos da raça Quarto de Milha de provas de tambor e baliza. **Revista da Universidade Rural, Série Ciências da Vida**, v.26, supl., p.169, 2006b.

BIRKS, E. K.; DURANDO, M. M.; STEVE, M. Ex, exercise-induced pulmonary hemorrhage. **Veterinary Clinics of North America Equine Practice**, v.19, p.87-100, 2003.

BURRELL, M.H. Endoscopic and virological observations on respiratory disease in a group of young thoroughbred horses in training. **Equine Veterinary Journal**, v.17, p.99-103, 1985.

BLOTT, S. et al. A Mechanogenetic Model of Exercise-Induced Pulmonary Haemorrhage in the Thoroughbred Horse. **Genes**, v. 10, n. 11, p. 880, 2019.

CAPB - CONFEDERAÇÃO DA AGRICULTURA E PECUARIA DO BRASIL. **Estudo do complexo do agronegócio cavalo**. Brasília: CNA, 2004, (Coletânea de Estudos Gleba, 39), 68p. Disponível em: <<http://www.cepea.esalq.usp.br/en/documentos/texto/estudo-do-complexo-do-agronegocio-do-cavalo-resumo-coletanea-estudos-gleba.aspx>>. Acesso em: 21 de jun. 2017.

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

COOK, R. Viewpoint: Bit-induced asphyxia in the horse. **Journal of Equine Veterinary Science**, 22 (1), 7-14. 2002.

COUROUND-MAILBLANC, A., PRONOST, S., FORTIER, G., CORDE, R., & ROSSIGNOL, F. Physiological measurements and upper and lower respiratory tract evaluation in French Standardbred Trotters during a standardised exercise test on treadmill. **Equine Exercise Physiology** 6, 402-407. 2002b.

COWELL, R. L.; TYLER, R. D. Cytology and hematology of the horse. Goleta: **American Veterinary Publications**, 1992.

CRISPE, E.J.; LESTER, G.D.; ROBERTSON, I.D.; SECOMBE, C.J. Bar shoes and ambient temperature are risk factors for exercise induced pulmonary haemorrhage in Thorough bred race horses. **Equine Veterinary Journal**, v.48 p.438–441, 2015.

DAVIDSON, E., HARRIS, M., MARTIN, B., NOLEN-WALTON, R., & BOSTON, R. Exercising blood gas analysis, dynamic upper respiratory tract obstructions and postexercising bronchoalveolar lavage cytology - A comparative study in poor performing horses. **Journal of Equine Veterinary Science**, 31, 475-480. 2011b.

DERKSEN, F. J. et al. Comparison of transtracheal aspirate and bronchoalveolar lavage cytology in 50 horses with chronic lung disease. **Equine Veterinary Journal**, v. 21, n. 1, p. 23-26, 1989.

DERKSEN, F. J. Meeting Report: Upper airway evaluation. **Journal of Equine Veterinary Science**, 21 (10), 481. 2001.

DIXON, P.M.; RAILTON, D.I.; MCGORUM, B.C. Equine pulmonary disease: a case control study of 300 referred cases. Part 1: examination techniques, diagnostic criteria and diagnoses. **Equine Veterinary Journal**, v.27, p.416-421, 1995a.

DOUCET, M.Y. Relationship between exercise-induced pulmonary hemorrhage (EIPH) and lower airway disease. In: WORD EQUINE AIRWAYS SYMPOSIUM, 1998, Guelph. **Proceedings...** Guelph, p.137-139, 1998.

DOUCET, M.; VIEL, L. Alveolar Macrophage Graded Hemossiderin Score from Bronchoalveolar Lavage in Horses with exercise-induced Pulmonary Hemorrhage and Controls. **J Vet Intern Med**, 16, 281-286, 2002.

DURANDO, M. **Exercise-induced pulmonary hemorrhage**. In D.A. Wilson. Clinical veterinary advisor: the horse. (pp. 192-193). St. Louis, Missouri: Elsevier Saunders. P 192-193, 2012.

DURANDO, M., MARTIN, B., DAVIDSON, J., & BIRKS, E. Correlations between exercising arterial blood gas values, tracheal wash findings, and upper respiratory tract abnormalities in horses presented for poor performance. **Equine Veterinary Journal**, 36, 523-528, 2006.

EPPINGER, M. **Hemorragia pulmonar de esforço e o desempenho de eqüinos PSI {Equus caballus} em corridas de galope no jockey club do Paraná**. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba. 1990.

ERICKSON, H. **A review of exercise-induced pulmonary hemorrhage and new concepts for prevention**. In Proceedings of the 46th Annual Convention of the American Association of Equine Practitioners (AAEP), November, San Antonio Texas, p 26-27, 2000.

ERICKSON, H. H.; POOLE, D. C. **Exercise-induced pulmonary hemorrhage**. In: LEKEUX, P. Equine Respiratory Diseases. Ithaca, NY. 2002

ERICKSON, H.; POOLE, D. **Exercise-induced pulmonary hemorrhage: current concepts**. In: Lekeux, P. Equine Respiratory Disease. Ithaca, EUA: International Veterinary Information Service. 2007.

EXERCISE INDUCED PULMONARY HAEMORRHAGE STUDY GROUP (EIPH STUDY GROUP). **Royal Society of Medicine**, Londres: Horserace Betting Levy Board, 1999.

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.

FERRANDEZ, M. D.; LA FUENTE DE, M. **Effects of age, sex and physical exercise on the phagocytic process of murine peritoneal macrophages**. *Acta physiologica scandinavica*, v. 166, n. 1, p. 47-53, 1999.

FOGARTY, U. Evaluation of a bronchoalveolar technique. **Equine Veterinary Journal**, v. 22, n. 3, p. 174-176, 1990.

FORGARTY, U.; BUCKLEY, T. Bronchoalveolar lavage findings in horses with exercise intolerance. **Equine Veterinary Journal**, v.6, p.434-437, 1991.

FOREMAN, J.H. Equine respiratory pharmacology. **Veterinary Clinics of North America Equine Practice**, v.15, p.665-686, 1999.

FORTES JUNIOR, W.F. **Citologia Pulmonar de Equinos (*Equus caballus*) em Situação de Manejo Estrito a campo e Estabulados**. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Paraná. Curitiba, 2005.

FRANKLIN, S.; ALLEN, K. **Poor Performance** – Not a Simple Diagnosis. Proceedings of the 10th International Congress of World Equine Veterinary Association. p. 468-469, 2008.

FREEMAN, K. P.; ROSZEL, J. F. **Equine cytology patterns in respiratory conditions on noninfectious or unknown origin**. *The compendium*, v. 19, p. 755-763, 1997.

GONÇALVES, R. C. **Estudo clínico e citológico em bezerros clinicamente sadios e portadores de broncopneumonia moderada e grave** – o lavado traqueobrônquico como complemento diagnóstico. 144 f. Tese (Doutorado em Patologia) - Faculdade de Medicina, Universidade Estadual Paulista, Botucatu. 1997.

GONÇALVES, R. C.; KUCHEMUCK, M. R. G.; ALMEIDA, C. T. **Lavagem traqueobrônquica por traqueocentese em bovinos**. *Veterinária e Zootecnia*. v. 2, n. 2, p. 17-25, 1990.

GREET, T. R. C. Windsucking treated by miectomy and neurectomy. **Equine Vet J**, v. 14, n. 4, p. 299-301, 1982.

HACKETT, R. P.; DUCHARME, N.G.; GLEED, R.D., et al. Oral nitroglycerin paste did not lower pulmonary capillary pressure during treadmill exercise. **Equine Vet J Suppl** 1999;30:153–8.

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

HARKINS, J. D.; TOBIN, T. Racing horses, nitro-glycerine and EIPH. **Equine vet. J.**, v. 27, p. 240-241, 1995.

HEGEDÜS, R. M. et al. Evaluation of tracheal wash of horses with exercise-induced pulmonary hemorrhage treated with furosemide. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 59, n. 2, p. 527-529, 2007.

HEWSON, J. E VIEL, L. Sampling, **microbiology and cytology of the respiratory tract**. In P. Lekeux (Ed.), *Equine Respiratory Diseases*. Ithaca, NY: International Veterinary Information Service (www.ivis.org). 2002.

HILLIDGE, C.J.; WHITLOCK, T.W. Sex variation in the prevalence of exercise-induced pulmonary haemorrhage in racing quarter horse. **Research in Veterinary Science**, v.40, p.406-407, 1986.

HINCHCLIFF, K. W.; KANEPS, A. J.; GEOR, R. J. **Equine sports medicine and surgery**. Philadelphia: W. B. Saunders Company, 2004.

HINCHCLIFF, K.W. **Exercise-induced pulmonary hemorrhage**. In B.C. McGorum, P.M. Dixon, N.E. Robinson & J. Schumacher (Eds.), *Equine Respiratory Medicine and Surgery*. Philadelphia: Elsevier Saunders. P 619-629, 2007.

HINCHCLIFF, K.W.; MORLEY, P.S.; JACKSON, M.A.; BROWN, J.A.; DREDGE, A.F.; O'CALLAGHAN, P.A.; MCCFFREY, J.P.; SLOCOMBE, R.F.; CLARKE, A.F. Risk factors for exercise-induced pulmonary haemorrhage in Thoroughbred racehorses. **Equine Vet. J.** 42 (Suppl. 38), 228–234, 2010.

HODGSON, J.L.; HODGSON, D.R. **Tracheal aspirates, indications, technique and interpretation**. Current therapy in equine medicine, 5. St Louis: Saunders, p.401-406, 2003.

HOFFMAN, A. M.; VIEL, L. **Techniques for sampling the respiratory tract of horses**. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice*, Philadelphia, v. 13, n. 3, p. 463-475, Dec. 1997.

HYYPPÄ, S.; PÖSÖ, A. Reeta. Fluid, electrolyte, and acid-base responses to exercise in racehorses. **Veterinary Clinics of North America: Equine Practice**, v. 14, n. 1, p. 121-136, 1998.

LEANDRO, C et al. Exercício físico e sistema imunológico: mecanismos e integrações. **Revista portuguesa de ciências do desporto**, v. 2, n. 5, p. 80-90, 2002.

LESSA, D. A. B. **Doença inflamatória das vias aéreas (DIVA) em eqüinos de policiamento na Cidade do Rio de Janeiro**, RJ: estudo clínico e da atividade macrofágica alveolar. 102 f. Tese (doutorado)– Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Universidade de São Paulo, São Paulo, 2003.

LESSA, D. A. B., et al. Lavado broncoalveolar em eqüinos: revisão de literatura parte 2: achados citológicos. **Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da Unipar**, v. 10, n. 1, 2007.

MACNAMARA, B.; BAUER, S.; IAFE, J. Endoscopic evaluation of exercise-induced pulmonary hemorrhage and chronic obstructive pulmonary disease in association with poor performance in racing Standardbreds. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v.196, p.443-445, 1990.

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

MARLIN, D.; NANKERVIS, K. Exercise and training responses. In: _____. **Equine exercise physiology**. Oxford: Blackwell. p. 113-126. 2002.

MARTIN, B., REEF, V., PARENTE, E., & SAGE, A. Causes of poor performance of horses during training, racing, or showing: 348 cases (1992–1996). **Journal of the American Veterinary Medical Association** 216, 554–558. 2000.

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

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

MCKANE, S.; CANFIELD, P., E ROSE, R. Equine bronchoalveolar lavage cytology: survey of Thoroughbred racehorses in training. **Australian Veterinary Journal**, 70, 401-404. 1993.

MCKANE, S.; SLOCOMBE, R.F. Sequential changes in bronchoalveolar cytology after autologous blood inoculation. **Equine Vet J Suppl**, 30:126–130. 1999.
MELO, U. P. DE; FERREIRA, C.; SANTIAGO, R. M. F. W.; PALHARES, M. S.; MARANHÃO, R. DE P. A. EQUILÍBRIO DO CASCO EQUINO – UMA REVISÃO. **Ciência Animal Brasileira**, v. 7, n. 4, p. 389-398, 2006.

MICHELOTTO JR., P.V. **Determinação do estado do aparelho respiratório em potros PSI de corrida antes do início dos treinamentos através do exame clínico, endoscópico e citológico da secreção traqueobronquial**. 146 p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba. 1993.

MICHELOTTO JÚNIOR, P. V. et al. Aspirado traqueal de cavalos clinicamente saudáveis da raça quarto de milha após prova de três tambores. **Archives of Veterinary Science**, v. 12, n. 2, p. 1-7, 2007.

MICHELOTTO JUNIOR, P.V.; MUEHLMANN, L.A.; ZANATTA, A. L.; BIERBACH, E. W.; KRYCZYCK, M.; NISHIYAMA, A. Pulmonary inflammation due to exercise-induced pulmonary hemorrhage in Thoroughbred colts during race. **The Veterinary Journal**. v.190, n.2, p. 3 –6, 2011.

MOORE, B.R. Lower respiratory tract disease. **Veterinary Clinics of North America Equine Practice**, v.12, p.457-473, 1996.

MORLEY, P. S. et al. Exercise-induced pulmonary haemorrhage impairs racing performance in T thoroughbred racehorses. **Equine veterinary journal**, v. 47, n. 3, p. 358-365, 2015.

MUCCIACITO JR, D. A. **Estudo da Correlação entre a hemorragia pulmonar induzida por exercício e alterações das vias aéreas anteriores e traqueia identificadas por exame endoscópico em equinos da raça Puro Sangue Inglês no Jockey Club de São Paulo**. Dissertação (mestrado). Universidade de São Paulo. 2006.

NEWTON, J., ROGERS, K., MARLIN, D., WOOD, J., & WILLIAMS, R. (2005). Risk factors for epistaxis in British racehorses: evidence for locomotory impact-induced trauma contributing to the aetiology of exercise-induced pulmonary haemorrhage. **Equine Vet. J.**, 37, 402- 411.

OIKAWA, M. Exercise-induced haemorrhagic lesions in the dorsocaudal extremities of the caudal lobes of the lungs of young thoroughbred horses. **Journal of Comparative Pathology**, v.121, p.339-347, 1999.

OTAKA, J.N.P.; SILVA, K.M.; JORGE, M.L.A.L.; GONÇALVES, C.A.P.G.; OTAKA, D.Y.; LESSA, D.A.B. Ocorrência de hemorragia pulmonar induzida pelo exercício em cavalos de pólo na cidade do Rio de Janeiro/RJ. **Archives of Veterinary Science**, v.19, n.2, p.46-51, 2014.

OTAKA, J.N.P. **Ocorrência de hemorragia pulmonar induzida pelo exercício em cavalos de pólo na cidade do Rio de Janeiro/RJ**. 2011. 37f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária (Clínica e Reprodução Animal), Universidade Federal Fluminense, Niterói, 2011.

OLIVEIRA, A. L.; MERCADANTE, A.; HARTMANN, W. Hemorragia pulmonar induzida por esforço em equinos. **Revista Eletrônica Biociências, Biotecnologia e Saúde**, v. 10, n. 19, p. 118-119, 2017.

OLIVER, O.; STAMPFLI, H.; AQUILERA, E. **Enfermedades respiratorias de interes en el caballo de deporte**. In: Conferencia Internacional de Caballos de Deporte – CICADE. 2003, Curitiba. Anais. Conferencia Internacional de Caballos de Deporte. Curitiba: Pontifícia Universidade Católica do Paraná, p. 15-22, 2003.

PARENTE, E.J. Video-endoscopia. In: LEKEUX, P. **Equine respiratory disease**. Ithaca, NY: International Veterinary Information Services, 2002.

PASCOE, J. R.; Text reprinted with permission from proceeding of the American Association of Equine Practitioners. **Resumen XI Congreso Nacional de Medicina Veterinaria**. Octubre, Santiago de Chile, 2000.

PASCOE, J.R.; FERRARO, G.L.; CANNON, J.H.; ARTHUR, R.M.; WHEAT, J.D. Exercise-induced pulmonary hemorrhage in racing thoroughbreds: a preliminary study. **American Journal of Veterinary Research**, v.42, p.703-707, 1981.

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

PIOTTO JR, S. B. **Hemorragia pulmonar induzida por esforço**. Revista Brasileira de Medicina Veterinária + Equina, ano 1, n.3 - janeiro/fevereiro, p.22 - 25, 2006.
RAINS, J.R.; COLLIER, M.A.; MACALLISTER, C.G. **Epistaxis/exercised induced pulmonary hemorrhage in horses**. Disponível em: <www. mrhorse.com>. 2-fev-2003.

PULZ, R.S.; PEZZI, A.F.; SILVA, C.A.; PETRUCCI, B.P.L.; PICAWY, L.; SILVEIRA, R.F.S. Hemorragia pulmonar induzida pelo exercício em cavalos de pólo. **Veterinária em Foco**, v.3, n.1, p.43-50, 2005.

REED, S.M.; BAYLY, W.M. **Medicina interna equina**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. p.320-367, 2000.

ROBINSON, N.E.; WILLIAMS, K.J.; STACK, A.; JACKSON, W.F.; DERKSE, F.J. Exercise-induced pulmonary haemorrhage: A progressive disease affecting performance? **Equine Vet. J.** 47, 339–340, 2015.

ROY, M. F.; LAVOIE, J. P. Tools for the diagnosis of equine respiratory disorders. **Veterinary Clinics of North America: Equine Practice**, v. 19, n. 1, p. 1-17, 2003.

RUSH, B.; MAIR, T. **Equine respiratory diseases**. Oxford: Blackwell Science. 189-216 p, 2004.

SANCHEZ, A., COUETIL, L., WARD, M., & CLARK, S. Effect of Airway Disease on Blood Gas Exchange in Racehorses. **Journal Veterinary of Internal Medicine**, 19:87-92, 2005.

STACK, A.; DERKSEN, F.J.; WILLIAMS, K.J.; ROBINSON, N.E.; JACKSON, W.F. Lung region and racing affect mechanical properties of equine pulmonary microvasculature. **J. Appl. Physiol.** 117, 370–376, 2014.

SCHROTER, R. C.; MARLIN, D.J.; DENNY, E. Exercise-induced pulmonary haemorrhage (EIPH) in horses results from locomotory impact induced trauma – a novel, unifying concept. **Equine Veterinary Journal**, v.30, p.186-192, 1998.

SCIPIONI, H.L.; CUTAIN, A.G.; SMETANA, A.; PETRONE, N.J.; ROCCATAGLIATA, C.A. Estúdio estadístico de la hemorragia pulmonar induzida por el ejercicio de sangre pura de carrera em la República Argentina. In: CONGRESSO DE LA ASOCIACIÓN MUNDIAL DE VETERINÁRIA EQUINA, 8., CONGRESSO NACIONAL DEL TURF – UPAC, 2., 2003, Buenos Aires. **Anais...** Buenos Aires, p.178-182, 2003.

SILVA, K. M. et al. Escore de hemossiderina em citologia de lavado traqueais para avaliação da hemorragia pulmonar induzida por exercício em cavalos de pólo. **Archives of Veterinary Science**, v. 17, n. 2, p. 40-45, 2012a.

SPEIRS, V. **Exam clinical examination of horses**. Philadelphia: W. B. Saunders Company, 366 p. 1997.

SPEIRS, V. **Exame Clínico de Equinos**; Artmed; Porto Alegre; p.366, 1999.

SUGIURA, H; NISHIDA, H; IWATA, H. **Effects of different durations of exercise on macrophages functions in mice**. *Appl Physiol*. 90(3):789-94, 2001.

SWEENEY, C.R., BEECH, J. Bronchoalveolar lavage. In: BEECH, J. (ed). **Equine respiratory disorders**. Philadelphia: Lea & Febiger, p.55-61, 1991.

SWEENEY, C., HUMBER, K., & ROBY, K. Cytologic findings of tracheobronchial aspirates from Thoroughbred racehorses. **American Journal of veterinary Research**, 53, 1172-1175, 1992.

TAKAHASHI, T.; HIRAGA, A.; OHMURA, H.; KAI, M.; JONES, J.H. Frequency of and risk factors for epistaxis associated with exercise-induced pulmonary haemorrhage in horse: 251, 606 race starts (1992 - 1997). **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v.128, p.215-218, 2001

TEJERO, A.E. Hemorragia pulmonar Inducida por el ejercicio. In: CONFERÊNCIA INTERNACIONAL DE CABALLOS DE DEPORTE - CICADE, 2001, Buenos Aires. **Anais...** Buenos Aires, p.15-22, 2001.

THOMASSIAN, A. **Enfermidades dos Cavalos**. Varela. 2005. Cap. 15; p. 440- 448.

VAN ERCK, E. Dynamic respiratory videoendoscopy in ridden sport horses: effect of head flexion, riding and airway inflammation in 129 cases. **Equine Veterinary Journal**, 43 (40), 18-24, 2011.

VIEL, L.; HEWSON, J. **Bronchoalveolar Lavage**. In: ROBINSON, N.E. Current therapy in equine medicine, 5. St Louis: Saunders, 2003. p.407-411.

VOSS, E.; SEAHORN, T. **Tracheobronchoscopy**. In N.M. Slovis, Atlas of equine endoscopy. St. Louis, Missouri: Mosby. pp. 97-118, 2004.

WALDRIDGE, B.M.; WELLES, E.G. How to perform a Bronchoalveolar lavage using a three gastroscope. In: ANNUAL CONVENTION OF THE AMERICAN ASSOCIATION OF EQUINE PRACTITIONERS – AAEP, 52., 2006, San Antonio. **Proceedings...** Ithaca, NY: International Veterinary Information Service, p.104-106, 2006.

WATKINS, K. L. et al. EIPH and horseracing in Hong Kong-scale of the problem, management, regulation and unique aspects. In: **Proceedings of a Workshop on Exercise-induced Pulmonary Haemorrhage: State of Current Knowledge**. Havemeyer Foundation Monograph Series, p. 52-56, 2008.

WEST, J.B., TYLER, W.S., BIRKS, E.K. E MATHIEU-COSTELLO, O. Exerciseinduced pulmonary hemorrhage. In: **Proceedings of the Dubai Conference**. p 353-367, 1997.

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

ZINKL, J.G. **Lower respiratory tract**. In: COWELL, R.L. & TYLER, R.D. Diagnostic Cytology and Hematology of the Horse. 2 ed. St. Louis, Missouri: Mosby, p. 73-86, 2002.

Anexo I – Aprovação do Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA-UEL) para a realização deste estudo.



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

OF. CIRC. CEUA Nº 43/2019

Londrina, 03 de abril de 2019.

Prezado (a) professor (a)

Certificamos que o projeto de pesquisa intitulado: **“Incidência de hemorragia pulmonar em equinos atletas submetidos à prova de laço em dupla”** protocolo CEUA nº 2676.2019.03 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 nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **aprovado** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Estadual de Londrina (CEUA/UEL), em reunião do dia **02/04/2019**.

Este projeto de pesquisa tem por objetivo verificar a incidência de hemorragia pulmonar em equinos atletas submetidos à prova de laço em dupla. Grau de Invasividade: 1.

| | |
|----------------------------|---|
| Finalidade | () Ensino (X) Pesquisa científica |
| Vigência da autorização | 03/04/2019 a 01/04/2020 |
| Espécie/ linhagem/ raça | Equinos/ Qualquer raça |
| Nº de animais | 60 |
| Peso/ Idade | 400-600kg/ 1-15 anos |
| Sexo | Machos e Fêmeas |
| Origem | Fazenda, haras, ranchos e propriedades rurais |
| Amostras a serem coletadas | Secreção traqueobrônquica |

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

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

Maria Fernanda R. Graciano
Prof.ª. Dra. Maria Fernanda Rodrigues Graciano
Coordenadora da CEUA/UEL

Hmo.(a) Sr.(a)
Prof. (a) Dr (a). **Augusto José Savioli de Almeida Sampaio**
Responsável pelo projeto
Departamento de Clínicas Veterinárias
C/C para a Chefia do Depto. de Clínicas Veterinárias/CCA
C/C para a Direção de Centro do CCA