

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP

CÂMPUS DE JABOTICABAL

**MARCADORES DO EQUILÍBRIO OXIDATIVO E
CELULARIDADE DO LAVADO BRONCOALVEOLAR DE
EQUINOS MANTIDOS EM BAIAS COM DOIS TIPOS DE
CAMA E A PASTO E IDENTIFICAÇÃO DE AGENTES
FÚNGICOS DAS CAMAS E DO FENO**

Vinícius Athaydes Canello

Médico Veterinário

2017

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP

CÂMPUS DE JABOTICABAL

**MARCADORES DO EQUILÍBRIO OXIDATIVO E
CELULARIDADE DO LAVADO BRONCOALVEOLAR DE
EQUINOS MANTIDOS EM BAIAS COM DOIS TIPOS DE
CAMA E A PASTO E IDENTIFICAÇÃO DE AGENTES
FÚNGICOS DAS CAMAS E DO FENO**

Vinícius Athaydes Canello

Orientador: Prof. Dr. José Corrêa de Lacerda Neto

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para obtenção do título de Doutor em Medicina Veterinária junto ao programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária, área de Clínica Médica Veterinária

2017

C221m Canello, Vinícius Athaydes
Marcadores do equilíbrio oxidativo e celularidade do lavado broncoalveolar de equinos mantidos em baias com dois tipos de cama e a pasto e identificação de agentes fúngicos das camas e do feno / Vinícius Athaydes Canello. -- Jaboticabal, 2017
xvi, 81 p. : il. ; 29 cm

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2017

Orientador: José Corrêa de Lacerda Neto

Banca examinadora: Raquel Mincarelli Albernaz, Gustavo Garkalns de Souza Oliveira, Kamila Gravena, Daniela Gomes da Silva
Bibliografia

1. Alérgenos. 2. Baia. 3. Cavalo. 4. Estresse oxidativo. 5. Maravalha. 6. Trato respiratório inferior I. Título. II. Jaboticabal-Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.

CDU 619:616.24:636.1

Ficha catalográfica elaborada pela Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da Informação
– Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação - UNESP, Câmpus de Jaboticabal.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO: MARCADORES DO EQUILÍBRIO OXIDATIVO E CELULARIDADE DO LAVADO BRONCOALVEOLAR DE EQUINOS MANTIDOS EM BAIAS COM DOIS TIPOS DE CAMA E A PASTO E IDENTIFICAÇÃO DE AGENTES FÚNGICOS DAS CAMAS E DO FENO

AUTOR: VINÍCIUS ATHAYDES CANELLO

ORIENTADOR: JOSÉ CORREA DE LACERDA NETO

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Doutor em MEDICINA VETERINÁRIA, área: CLÍNICA MÉDICA VETERINÁRIA pela Comissão Examinadora:

Prof. Dr. JOSÉ CORREA DE LACERDA NETO 
Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária / FCAV / UNESP - Jaboticabal

Pesquisadora Dra. RAQUEL MINCARELLI ALBERNAZ 
Autônoma / Ribeirão Preto, SP

Prof. Dr. GUSTAVO GARKALNS DE SOUZA OLIVEIRA 
Centro Universitário Barão de Mauá / Ribeirão Preto, SP

Pós-doutoranda KAMILA GRAVENA 
Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária / FCAV / UNESP - Jaboticabal

Pós-doutoranda DANIELA GOMES DA SILVA 
Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária / FCAV / UNESP - Jaboticabal

Jaboticabal, 03 de fevereiro de 2017.

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

VINÍCIUS ATHAYDES CANELLO- Nasceu na cidade de Pitangueiras-SP, no dia 27 de janeiro de 1988, filho de Júlio César Silva Canello e Rosa Maria Athaydes Canello. Em março de 2006 ingressou no curso de Medicina Veterinária da Universidade Estadual de Maringá, Câmpus de Umuarama, onde no ano de 2008 foi aluno do Programa de Iniciação Científica-PIC sob orientação do Prof. Dr. Fabrício Singaretti de Oliveira, graduando-se em Medicina Veterinária em janeiro de 2011. Em março do mesmo ano ingressou no programa de pós-graduação em Medicina Veterinária, no curso de mestrado, da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV) da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, UNESP, Câmpus de Jaboticabal, sob orientação do Prof. Dr. José Corrêa de Lacerda Neto, tendo sido bolsista CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior), obtendo o título de Mestre em Medicina Veterinária em fevereiro de 2013, com o trabalho intitulado “Expressão das metaloproteinases e morfologia do tecido laminar do casco de equinos submetidos à obstrução intra-luminal do cólon menor”. Em março de 2013 ingressou no programa de pós-graduação em Medicina Veterinária, no curso de doutorado, na mesma instituição, como bolsista CAPES, ainda sob orientação do Prof. Dr. José Corrêa de Lacerda Neto.

DEDICATÓRIA

A minha querida mãe Rosa Maria Athaydes Canello (*In memoriam*) por todo amor e carinho incondicional, por sempre ter feito o possível e o impossível para que eu e meus irmãos tivéssemos a oportunidade de estudar, sempre ressaltando o valor e a importância dos estudos em nossas vidas, sempre lutando por nossos sonhos como se fossem seus. Pelo exemplo de vida, força e determinação que sempre foi para nós. Você sempre foi e sempre será o nosso maior orgulho e em meu coração sempre carregarei você e tudo o que me ensinou.

A meus avós Amir Athayde (*In memoriam*) e Lourdes Artioli Athayde (*In memoriam*) por todo amor, carinho e educação que sempre me deram, por cada palavra de incentivo e força quando os momentos difíceis surgiram, pelo exemplo de vida, humildade, e honestidade, a vocês dois minha eterna gratidão.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por sempre estar ao meu lado em todos os momentos de minha vida, me concedendo força e determinação nos momentos de dificuldade, e conforto frente às perdas irreparáveis da vida. Não permitindo que eu desistisse de meu caminho e de meus sonhos.

Ao meu orientador professor Dr. José Corrêa de Lacerda Neto, por todos esses anos de orientação. Sempre atencioso, dedicado e paciente. Por todos os ensinamentos, conselhos profissionais e pessoais, e pela grande oportunidade de fazer parte de sua equipe, algo que me orgulho muito. Ao senhor, grande profissional, a quem tenho muita admiração.

À toda minha família que sempre esteve ao meu lado durante toda minha vida, sempre me apoiando, aconselhando e torcendo por minhas conquistas. Por todo carinho e amor que sempre recebi de todos vocês. Em especial a meus irmãos Júlio e Vivian por todo apoio, carinho e amizade, pelos conselhos nos momentos de dúvida, e pela união durante os momentos de dificuldade.

À toda a equipe de Medicina Esportiva Equina, Kamila Gravena, Nara Saraiva, Daniela Junqueira e Karina Calciolari, que trabalharam arduamente junto comigo para que esse trabalho fosse realizado. Por toda amizade durante todos esses anos e por todos os momentos agradáveis que passamos na universidade e também fora dela.

Ao professor Dr. Alceu Afonso Jordão Junior da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto - FMRP-USP, que abriu as portas de seu laboratório para que eu pudesse realizar minhas análises, sempre muito solícito, e com muita paciência, por toda ajuda e contribuição que deu a nosso trabalho.

À Paula Payão Ovídio, técnica do Laboratório de Laboratório de Nutrição e Metabolismo da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto - FMRP-USP, que auxiliou

de forma direta na execução de minhas análises do estresse oxidativo, sempre solícita e paciente, tendo me ensinado muito neste período em que passei no laboratório.

À professora Dra. Rita de Cássia Panizzi do departamento de Fitossanidade da FCAV-Unesp, que abriu as portas de seu laboratório para que realizássemos as análises fúngicas, tendo participado ativamente nos procedimentos e adaptações para a realização das análises, e sua técnica do laboratório Rosângela (Rô), que nos ajudou imensamente.

À professora Dra. Annelise Camplesi, pela oportunidade de realizar estágio docência na disciplina de Enfermagem Veterinária sob sua supervisão e orientação, assim como por ter aceito participar de minha banca de qualificação de doutorado.

Ao professor Dr. João Ademir do departamento de Ciências Exatas da FCAV-Unesp, que ajudou imensamente na realização das análises estatísticas, sempre muito paciente e carismático.

Ao professor Dr. Mário Roberto Hatayde, por todo apoio e conselhos, durante toda minha vida profissional, e por todas as oportunidades que me proporcionou, sendo sempre atencioso e dedicado. Meu sincero e eterno agradecimento ao senhor, a quem sempre tive uma grande admiração.

Ao Odair Oian (Deco), funcionário do setor de Equinocultura da FCAV-Unesp, por toda ajuda sem a qual seria impossível a realização deste trabalho, por todos os anos de amizade, conversas sinceras e toda ajuda que você sempre me proporcionou.

Ao meu grande amigo Gabriel Amaral por toda ajuda durante nosso período experimental, sempre disposto a ajudar, realizando uma verdadeira maratona entre o experimento e suas aulas da graduação.

Aos funcionários do Hospital Veterinário Roberto Bertanha, Edson Giangreco, Laerte, Beto, Fábio, Arildo, Marcelo, Izaias, José, Juliana e Ana por todos esses anos de amizade e ajuda, sem a qual não seria possível a realização deste trabalho.

Às funcionárias da administração do Hospital Veterinário Dalva, Sirlene, Maria Luísa, Flávia e Lidiane, por toda amizade e ajuda sem a qual não seria possível a realização deste trabalho, e por toda a paciência dispensada a mim.

Aos técnicos do Laboratório de Patologia Clínica do Hospital Veterinário, Douglas e Matheus, que nos auxiliaram na realização das análises do LBA e análises sanguíneas.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), por ter me concedido a bolsa de estudos, sem a qual não seria possível a realização de meu doutorado.

Aos funcionários da Pós-graduação, que sempre foram muito solícitos sempre que deles precisei.

E por fim mas não menos importante, a todos os cavalos que participaram deste estudo, tornando possível a realização deste trabalho e proporcionando a cada dia novas experiências e aprendizados. A todos vocês o meu muito obrigado e minha eterna gratidão: Nobre, Latifa, Said, Nazeer, Osama, Liphard, Amim, El Ali, Khadija, Zannan, Cigana, MP, Arabinho, Pintado e Castanha.

E a todos os outros que por ventura não foram citados, mas que contribuíram direta ou indiretamente para a realização deste trabalho.

SUMÁRIO

CERTIFICADO DA COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA).....	iii
RESUMO.....	iv
ABSTRACT	v
LISTA DE ABREVIATURAS.....	vi
LISTA DE TABELAS	ix
LISTA DE FIGURAS	xii
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	2
2.1 Sistema respiratório equino	2
2.2 Principais afecções alérgicas e fúngicas do sistema respiratório dos equinos ..	5
2.2.1 Obstrução recorrente das vias aéreas (ORVA)	5
2.2.2 Doença inflamatória das vias aéreas (DIVA)	7
2.2.3 Pneumonia fúngica	8
2.3 Lavado broncoalveolar (LBA).....	9
2.4 Estresse oxidativo no sistema respiratório.....	10
3. OBJETIVOS	15
3.1 Gerais	15
3.2 Específicos.....	15
4. MATERIAL E MÉTODOS	16
4.1 Animais	16
4.2 Instalações e alocação dos animais.....	17
4.3 Limpeza e manutenção das baias.....	18
4.4 Temperatura ambiente, umidade relativa do ar, velocidade média dos ventos.....	18
4.5 Colheitas de amostras	19
4.5.1 Lavado broncoalveolar.....	19
4.5.2 Amostras de cama	21
4.5.3 Amostras de feno.....	22
4.5.4 Amostras de sangue venoso	23
4.6 ANÁLISES EXPERIMENTAIS.....	23
4.6.1 Lavado broncoalveolar (LBA)	23
4.6.1.1 Celularidade	23
4.6.1.2 Estresse oxidativo	24

4.6.2 Análises fúngicas da cama/feno	25
4.6.3. Análises hematológicas	26
4.7. Análise estatística	27
5. RESULTADOS	28
5.1 Temperatura ambiente, umidade relativa do ar, velocidade média dos ventos.....	28
5.2 Lavado broncoalveolar	31
5.2.1 Celularidade.....	31
5.2.2 Estresse oxidativo.....	36
5.3 Hemograma	45
5.4 Análises fúngicas	52
5.4.1 Cama	52
5.4.2 Feno.....	55
6. DISCUSSÃO	57
7. CONCLUSÃO.....	72
7.1 Considerações finais.....	72
8. REFERÊNCIAS.....	73



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Câmpus de Jaboticabal



CEUA – COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto intitulado "Avaliação do sistema respiratório de equinos hígidos submetidos a dois tipos diferentes de cama e à pasto", protocolo nº 21034/15, sob a responsabilidade do Prof. Dr. José Correa de Lacerda Neto, 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 08 de outubro de 2008, no decreto 6.899, de 15 de junho 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 (CEUA), da FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS, UNESP - CÂMPUS DE JABOTICABAL-SP, em reunião ordinária de 04 de dezembro de 2015.

Vigência do Projeto	10/12/2015 a 25/01/2016
Espécie / Linhagem	Equina
Nº de animais	15
Peso / Idade	300-500 Kg / 8 - 20 anos
Sexo	Machos e Fêmeas
Origem	Propriedade do Prof. Dr. José Correa de Lacerda Neto

Jaboticabal, 04 de dezembro de 2015.



Prof. Dr. Lizandra Amoroso
Coordenadora - CEUA

**MARCADORES OXIDATIVOS E CELULARIDADE DO LAVADO
BRONCOALVEOLAR DE EQUINOS MANTIDOS EM BAIAS COM DIFERENTES
TIPOS DE CAMA E IDENTIFICAÇÃO DE AGENTES FÚNGICOS DAS CAMAS E
DO FENO**

RESUMO – O grande desafio do sistema de defesa respiratório é a manutenção dos animais em baias. Pois, devido a diversos fatores, acaba por aumentar as chances do desenvolvimento de afecções respiratórias e a qualidade do material utilizado como cama é fator agravante. Diante disto, três grupos com 5 equinos cada foram submetidos a 45 dias sob o mesmo manejo, sendo dois grupos estabulados com diferentes tipos de cama, um com maravalha esterilizada (ME) e o outro com maravalha não esterilizada (MNE), e o terceiro grupo a pasto (Pasto). Foram realizadas análises do lavado broncoalveolar (LBA) (celularidade e marcadores de estresse oxidativo) e hemograma antes do início do manejo (Basal) e posteriormente a cada 15 dias (M15, M30 e M45). Também foi avaliada a presença de gêneros fúngicos nas amostras de cama, e do feno utilizado na alimentação dos animais. Os hemogramas permaneceram dentro dos valores da normalidade. Os valores obtidos de malondialdeído (MDA) e ácido úrico no LBA não apresentaram diferença entre os momentos e grupos avaliados. A vitamina C no LBA apresentou queda em seus valores em M30. Os três grupos apresentaram queda nas concentrações de glutathiona reduzida em M30, tendo havido diferença significativas entre os grupos Pasto e MNE. Os grupos ME e MNE apresentaram queda nos valores de glutathiona oxidada em M45, já o grupo Pasto apresentou queda constante a partir de M15, com diferença significativa em relação ao grupo ME em M30. A superóxido dismutase apresentou aumento em M30 no grupo MNE, levando a diferença significativa em relação aos grupos Pasto e ME. A glutathiona peroxidase no LBA apresentou queda significativa no grupo ME em M45. Quanto a celularidade do LBA a contagem de células nucleadas totais e eosinófilos não apresentaram diferenças significativas. O grupo ME apresentou elevação nos valores de neutrófilos em M30, levando a diferença significativa em relação aos grupos MNE e Pasto, já o grupo MNE apresentou queda significativa em M45. Os grupos ME e MNE apresentaram queda nos valores de linfócitos no LBA em M30, já o grupo Pasto apresentou queda em M15. O grupo Pasto apresentou aumento dos macrófagos no LBA em M15 e M30. As análises das amostras de cama e feno apresentaram baixas porcentagens de gêneros fúngicos. Grande parte das alterações apresentadas ocorreram em M30, momento em que foram registradas as menores temperaturas e maiores velocidades dos ventos durante todo período experimental, o que possivelmente levou a um desequilíbrio oxidativo pontual, com pequenas variações na celularidade do LBA. Acredita-se que o manejo, as boas condições de higiene e ventilação das baias tenham contribuído para que não houvesse o desenvolvimento de alterações inflamatórias no sistema respiratório dos animais avaliados. Deste modo, podemos concluir que não houve diferenças significativas na manutenção dos animais nos diferentes tipos de cama em relação a resposta inflamatória, estresse oxidativo e desenvolvimento fúngico.

Palavras-chave: alérgenos, baia, cavalo, estresse oxidativo, maravalha, trato respiratório inferior

OXIDATIVE MARKERS AND CELLULARITY OF THE BRONCHOALVEOLAR LAVAGE FLUID OF HORSES MAINTAINED IN STABLES WITH DIFFERENT TYPES OF BED AND IDENTIFICATION OF BEDS AND HAY FUNGAL AGENTS

ABSTRACT- The great challenge of the respiratory defense system is the maintenance of animals in stalls, which due to several factors ends up increasing the chances of development of respiratory diseases. The quality of the material used as bed is an aggravating factor. Three groups of 5 horses were submitted to 45 days under the same management, and two groups were housed with different types of beds, one with sterilized wood shaving (ME) and the other with unsterilized wood shaving (MNE), and the third group was maintained in the pasture. Bronchoalveolar lavage fluid (BALF) and hemoglobin analyzes were performed before baseline and then every 15 days (M15, M30 and M45). It was also evaluated the possible presence of fungal genera in bed samples, and in hay used in animal feeding. The hemograms remained within normal values. The values of malondialdehyde (MDA) and uric acid in BALF showed no difference between the moments and groups evaluated. Vitamin C in BALF showed a decrease in M30 values. The three groups showed a decrease in the concentrations of glutathione reduced in M30, and there were significant differences between the groups pasture and MNE. The ME and MNE groups showed a decrease in the values of oxidized glutathione in M45, whereas the pasture group presented a constant drop from M15, with a significant difference in relation to the ME group in M30. Superoxide dismutase increased in M30 in the MNE group, leading to a significant difference in relation to the pasture and ME groups. Glutathione peroxidase in BALF showed a significant decrease in the ME group in M45. As for the cellularity of BALF, total nucleated and eosinophil counts did not showed significant differences. The ME group presented elevation in neutrophil values in M30, leading to a significant difference in relation to the MNE and pasture groups, whereas the MNE group presented a significant decrease in M45. The ME and MNE groups presented a decrease in lymphocyte values in the BALF in M30, whereas the pasture group presented a decrease in M15. The pasture group presented increase of the macrophages in the BALF in M15 and M30. Bed and hay samples showed low percentages of fungal genera. Most of the alterations presented occurred in M30, at which time the lowest temperatures were recorded throughout the experimental period, possibly leading to a punctual oxidative imbalance, with small variations in BALF cellularity. It is believed that management, good conditions of hygiene and ventilation of the boxes contributed to the no development of inflammatory changes in the respiratory system of the animals evaluated. Thus, we can conclude that there were no significant differences in the maintenance of the animals in the different types of bed in relation to the inflammatory response, oxidative stress and fungal development.

Keywords: allergens, stall, horse, oxidative stress, wood shaving, lower respiratory tract.

LISTA DE ABREVIATURAS

ACU	Ácido úrico
ACVIM	American College of Veterinary Internal Medicine
ATP	Adenosina trifosfato
BALT	Tecido linfoide associado ao brônquio
Basal	Momento de avaliação inicial
CCNT	Contagem de células nucleadas totais
CEUA	Comissão de Ética no Uso de Animais
CONCEA	Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal
Cu	Cobre
DIVA	Doença inflamatória das vias aéreas
DPM	Desvio padrão da média
DPOC	Doença pulmonar obstrutiva crônica
EDTA	Ácido etilenodiamino tetra-acético
Eo	Eosinófilos
EROs	Espécies reativas de oxigênio
Fb	Fibrinogênio
Fe	Ferro
g/dL	Gramas por decilitro
GLM	General Linear Models (procedimento estatístico)
GPX	Glutathione Peroxidase
GSH	Glutathione reduzida
GSSG	Glutathione oxidada

H ₂ O ₂	Peróxido de hidrogênio
H ₂ SO ₄	Ácido sulfúrico
Hb	Hemoglobina
He	Hemácias
HPIE	Hemorragia pulmonar induzida pelo exercício
Ht	Hematócrito
IgE	Imunoglobulina E
LBA	Lavado broncoalveolar
Le	Leucócitos
Lf	Linfócitos
LTB	Lavado traqueobrônquico
Mc	Macrófagos
MDA	Malondialdeído
ME	Maravalha esterilizada
mL	Mililitro
mm	Milímetro
mM	Milimol
Mn	Manganês
MNE	Maravalha não esterilizada
Mo	Monócitos
m/s	Metros por segundo
M15	Momento de avaliação após quinze dias do momento inicial (Basal)
M30	Momento de avaliação após trinta dias do momento inicial (Basal)

M45	Momento de avaliação após quarenta e cinco dias do momento inicial (Basal)
NaClO	Hipoclorito de sódio
NADPH	Fosfato de nucleotídeo de nicotinamida e adenina
Ne	Neutrófilos
Ns	Neutrófilos segmentados
O ₂	Oxigênio
O ₂ ⁻	Radical superóxido
ORVA	Obstrução recorrente das vias aéreas
Pasto	Grupo experimental dos animais alocados a pasto
pH	Escala de medida do potencial hidrogeniônico (indicador de acidez ou basicidade)
PI	Plaquetas
PT	Proteínas totais
RPM	Rotações por minuto
SOD	Superóxido dismutase
u/g	Unidades por grama
Vit. C	Vitamina C (ácido ascórbico)
°C	Graus Celsius (unidades térmicas)
Zn	Zinco
μL	Microlitro
μM	Micrômetro

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1.** Médias \pm desvio padrão da média (DPM) da contagem de células nucleadas totais (CCNT) ($\times 10^3/\mu\text{L}$) no lavado broncoalveolar de 15 equinos, subdivididos em três grupos, sendo eles, animais alocados a pasto (5) (Pasto), animais alocados em baia revestida com maravalha esterilizada (5) (ME) e maravalha não esterilizada (5) (MNE) em quatro diferentes momentos de avaliação, Basal, M15, M30 e M45. Jaboticabal, 2017.....32
- Tabela 2.** Médias \pm desvio padrão da média (DPM) da contagem de neutrófilos segmentados (NS) (%) no lavado broncoalveolar de equinos, subdivididos em três grupos, sendo eles, animais alocados a pasto, animais alocados em baia revestida com maravalha esterilizada (ME) e maravalha não esterilizada (MNE) em quatro diferentes momentos de avaliação, Basal, M15, M30 e M45. Jaboticabal, 2017.....33
- Tabela 3.** Médias \pm desvio padrão da média (DPM) da contagem de linfócitos (LF) (%) no lavado broncoalveolar de 15 equinos, subdivididos em três grupos, sendo eles, animais alocados a pasto (5) (Pasto), animais alocados em baia revestida com maravalha esterilizada (5) (ME) e maravalha não esterilizada (5) (MNE) em quatro diferentes momentos de avaliação, Basal, M15, M30 e M45. Jaboticabal, 2017.....34
- Tabela 4.** Médias \pm desvio padrão da média (DPM) da contagem de macrófagos (MC) (%) no lavado broncoalveolar de 15 equinos, subdivididos em três grupos, sendo eles, animais alocados a pasto (5) (Pasto), animais alocados em baia revestida com maravalha esterilizada (5) (ME) e maravalha não esterilizada (5) (MNE) em quatro diferentes momentos de avaliação, Basal, M15, M30 e M45. Jaboticabal, 2017.....35
- Tabela 5.** Médias \pm desvio padrão da média (DPM) da contagem de eosinófilos (Eo) (%) no lavado broncoalveolar de 15 equinos, subdivididos em três grupos, sendo eles, animais alocados a pasto (5) (Pasto), animais alocados em baia revestida com maravalha esterilizada (5) (ME) e maravalha não esterilizada (5) (MNE) em quatro diferentes momentos de avaliação, Basal, M15, M30 e M45. Jaboticabal, 2017.....36

- Tabela 6.** Médias \pm desvio padrão da média (DPM) de malondialdeído (MDA) (μM) no lavado broncoalveolar de 15 equinos, subdivididos em três grupos, sendo eles, animais alocados a pasto (Pasto) (5), animais alocados em baia revestida com maravalha esterilizada (5) (ME) e maravalha não esterilizada (5) (MNE), em quatro diferentes momentos de avaliação, Basal, M15, M30 e M45. Jaboticabal, 2017.....36
- Tabela 7.** Médias \pm desvio padrão da média (DPM) das proteínas totais (PT) (g/dL) no lavado broncoalveolar de 15 equinos, subdivididos em três grupos, sendo eles, animais alocados a pasto (5) (Pasto), animais alocados em baia revestida com maravalha esterilizada (5) (ME) e maravalha não esterilizada (5) (MNE) em quatro diferentes momentos de avaliação, Basal, M15, M30 e M45. Jaboticabal, 2017.....37
- Tabela 8.** Médias \pm desvio padrão da média (DPM) do ácido úrico (ACU) (μM) no lavado broncoalveolar de 15 equinos, subdivididos em três grupos, sendo eles, animais alocados a pasto (5) (Pasto), animais alocados em baia revestida com maravalha esterilizada (5) (ME) e maravalha não esterilizada (5) (MNE) em quatro diferentes momentos de avaliação, Basal, M15, M30 e M45. Jaboticabal, 2017.....38
- Tabela 9.** Médias \pm desvio padrão da média (DPM) de vitamina C (Vit. C) (μM) no lavado broncoalveolar de 15 equinos, subdivididos em três grupos, sendo eles, animais alocados a pasto (5) (Pasto), animais alocados em baia revestida com maravalha esterilizada (5) (ME) e maravalha não esterilizada (5) (MNE) em quatro diferentes momentos de avaliação, Basal, M15, M30 e M45. Jaboticabal, 2017.....38
- Tabela 10.** Médias \pm desvio padrão da média (DPM) de glutathiona reduzida (GSH) (μM) no lavado broncoalveolar de 15 equinos, subdivididos em três grupos, sendo eles, animais alocados a pasto (5) (Pasto), animais alocados em baia revestida com maravalha esterilizada (5) (ME) e maravalha não esterilizada (5) (MNE) em quatro diferentes momentos de avaliação, Basal, M15, M30 e M45. Jaboticabal, 2017.....40
- Tabela 11.** Médias \pm desvio padrão da média (DPM) de glutathiona oxidada (GSSG) (μM) no lavado broncoalveolar de 15 equinos, subdivididos em três grupos, sendo eles, animais alocados a pasto (5) (Pasto), animais alocados em baia revestida com maravalha esterilizada (5) (ME) e maravalha não esterilizada (5) (MNE) em quatro diferentes momentos de avaliação, Basal, M15, M30 e M45. Jaboticabal, 2017.....41

- Tabela 12.** Médias \pm desvio padrão da média (DPM) de glutathiona peroxidase (GPX) (U/g/proteína) no lavado broncoalveolar de 15 equinos, subdivididos em três grupos, sendo eles, animais alocados a pasto (5) (Pasto), animais alocados em baia revestida com maravalha esterilizada (5) (ME) e maravalha não esterilizada (5) (MNE) em quatro diferentes momentos de avaliação, Basal, M15, M30 e M45. Jaboticabal, 2017.....42
- Tabela 13.** Médias \pm desvio padrão da média (DPM) de superóxido dismutase (SOD) (μ M) no lavado broncoalveolar de 15 equinos, subdivididos em três grupos, sendo eles, animais alocados a pasto (5) (Pasto), animais alocados em baia revestida com maravalha esterilizada (5) (ME) e maravalha não esterilizada (5) (MNE) em quatro diferentes momentos de avaliação, Basal, M15, M30 e M45. Jaboticabal, 2017.....44
- Tabela 14.** Médias \pm desvio padrão da média (DPM) dos parâmetros hematimétricos de cinco equinos alocados em baia revestida com maravalha esterilizada (ME) em quatro diferentes momentos de avaliação, Basal, M15, M30 e M45. Jaboticabal, 2017.....45
- Tabela 15.** Médias \pm desvio padrão da média (DPM) dos parâmetros hematimétricos de cinco equinos alocados em baia revestida com maravalha não esterilizada (MNE) em quatro diferentes momentos de avaliação, Basal, M15, M30 e M45. Jaboticabal, 2017.....46
- Tabela 16.** Médias \pm desvio padrão da média (DPM) dos parâmetros hematimétricos de cinco equinos alocados a pasto em quatro diferentes momentos de avaliação, Basal, M15, M30 e M45. Jaboticabal, 2017.....46
- Tabela 17.** Médias \pm desvio padrão da média (DPM) da frequência dos diferentes gêneros de fungos presentes na maravalha esterilizada (ME) antes da utilização (Limpa) e após 15 dias de utilização (Suja). Jaboticabal, 2017...53
- Tabela 18.** Médias \pm desvio padrão da média (DPM) da frequência dos diferentes gêneros de fungos presentes na maravalha não esterilizada (MNE) antes da utilização (Limpa) e após 15 dias de utilização (Suja). Jaboticabal, 2017.....55

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Imagem comparativa dos dois tipos de materiais utilizados como revestimento das baias. (A) Maravalha esterilizada (ME). (B) Maravalha não esterilizada (MNE). Jaboticabal, 2017.....17
- Figura 2.** Esquema da planta baixa do pavilhão de baias do Setor de Equinocultura da FCAV/UNESP, com o mapa da distribuição dos grupos ME (maravalha esterilizada) e MNE (maravalha não esterilizada). Jaboticabal, 2017.....17
- Figura 3.** Realização da técnica de lavado broncoalveolar em equino, devidamente contido e sedado, com extensão da cabeça, facilitando a introdução da sonda na traqueia. Jaboticabal, 2017.....21
- Figura 4.** Amostra parcial obtida após a realização de lavado broncoalveolar em equino, com a presença de secreção espumosa de coloração esbranquiçada (surfactante), demonstrando a efetividade da colheita. Jaboticabal, 2017...21
- Figura 5.** Esquema da planta de uma baia do Setor de Equinocultura da FCAV/UNESP, onde A representa o cocho de alimentação, e B representa o cocho de água, com os locais de colheita das amostras da cama para as análises fúngicas, representados pelos pontos no interior da planta da baia. Em cada um dos pontos a profundidade da colheita variava de forma randômica. Jaboticabal, 2017.
- Figura 6.** Comparativo da temperatura ambiente máxima, mínima e média, em graus Celsius, registrado durante o período experimental, compreendido por Basal, M15, M30 e M45, os quais correspondem a média dos valores dos quinze dias anteriores a cada um dos momentos de avaliação, respectivamente. Jaboticabal, 2017.....
- Figura 7.** Comparativo da porcentagem da umidade relativa do ar máxima, mínima e média, registrado durante o período experimental, compreendido por Basal, M15, M30 e M45, os quais correspondem a média dos valores dos quinze dias anteriores a cada um dos momentos de avaliação, respectivamente. Jaboticabal, 2017.....30
- Figura 8.** Comparativo da pluviosidade durante o período experimental, compreendido por Basal, M15, M30 e M45, os quais correspondem a média dos valores dos quinze dias anteriores a cada um dos momentos de avaliação, respectivamente Jaboticabal, 2017.....30

- Figura 9.** Comparativo da velocidade média dos ventos (m/s) durante o período experimental, compreendido por Basal, M15, M30 e M45, os quais correspondem a média dos valores dos quinze dias anteriores a cada um dos momentos de avaliação, respectivamente Jaboticabal, 2017.....31
- Figura 10.** Contagem de células nucleadas totais (CCNT) no lavado broncoalveolar de 15 equinos, subdivididos em três grupos, sendo eles, animais alocados a pasto (5) (pasto), animais alocados em baia revestida com maravalha esterilizada (5) (ME) e maravalha não esterilizada (5) (MNE) em quatro diferentes momentos de avaliação, Basal, M15, M30 e M45. Jaboticabal, 2017.....32
- Figura 11.** Percentuais de neutrófilos segmentados no lavado broncoalveolar de equinos, subdivididos em três grupos, sendo eles, animais alocados a pasto (5) (Pasto), animais alocados em baia revestida com maravalha esterilizada (5) (ME) e maravalha não esterilizada (5) (MNE) em quatro diferentes momentos de avaliação, Basal, M15, M30 e M45. Letras iguais não diferem entre-si na mesma linha ($p>0,05$). Jaboticabal, 2017.....33
- Figura 12.** Percentual de linfócitos no lavado broncoalveolar de 15 equinos, subdivididos em três grupos, sendo eles, animais alocados a pasto (5) (Pasto), animais alocados em baia revestida com maravalha esterilizada (5) (ME) e maravalha não esterilizada (5) (MNE) em quatro diferentes momentos de avaliação, Basal, M15, M30 e M45. Letras iguais não diferem entre-si na mesma linha ($p>0,05$). Jaboticabal, 2017.....34
- Figura 13.** Percentual de macrófagos no lavado broncoalveolar de equinos, subdivididos em três grupos, sendo eles, animais alocados a pasto (5) (Pasto), animais alocados em baia revestida com maravalha esterilizada (5) (ME) e maravalha não esterilizada (5) (MNE) em quatro diferentes momentos de avaliação, Basal, M15, M30 e M45. Letras iguais não diferem entre-si na mesma linha ($p>0,05$). Jaboticabal, 2017.....35
- Figura 14.** Comparativo dos valores do malondialdeído (MDA) no lavado broncoalveolar de 15 equinos, subdivididos em três grupos, sendo eles, animais alocados a pasto (Pasto) (5), animais alocados em baia revestida com maravalha esterilizada (5) (ME) e maravalha não esterilizada (5) (MNE) em quatro diferentes momentos de avaliação, Basal, M15, M30 e M45. Jaboticabal, 2017.....37

- Figura 15.** Comparativo dos valores de vitamina C (Vit. C) no lavado broncoalveolar de 15 equinos, subdivididos em três grupos, sendo eles, animais alocados a pasto (5) (Pasto), animais alocados em baia revestida com maravalha esterilizada (5) (ME) e maravalha não esterilizada (5) (MNE) em quatro diferentes momentos de avaliação, Basal, M15, M30 e M45. Letras iguais não diferem entre-si na mesma linha ($p>0,05$). Jaboticabal, 2017.....39
- Figura 16.** Comparativo dos valores de glutathiona reduzida (GSH) (μM) no lavado broncoalveolar de 15 equinos, subdivididos em três grupos, sendo eles, animais alocados a pasto (5) (Pasto), animais alocados em baia revestida com maravalha esterilizada (5) (ME) e maravalha não esterilizada (5) (MNE) em quatro diferentes momentos de avaliação, Basal, M15, M30 e M45. Letras minúsculas iguais não diferem entre-si na mesma linha e letras maiúsculas iguais não diferem entre-si no mesmo momento experimental ($p>0,05$) Jaboticabal, 2017.....40
- Figura 17.** Comparativo dos valores de glutathiona oxidada (GSSG) no lavado broncoalveolar de 15 equinos, subdivididos em três grupos, sendo eles, animais alocados a pasto (5) (Pasto), animais alocados em baia revestida com maravalha esterilizada (5) (ME) e maravalha não esterilizada (5) (MNE) em quatro diferentes momentos de avaliação, Basal, M15, M30 e M45. Letras minúsculas iguais não diferem entre-si na mesma linha e letras maiúsculas iguais não diferem entre-si no mesmo momento experimental ($p>0,05$) Jaboticabal, 2017.....41
- Figura 18.** Comparativo dos valores de glutathiona peroxidase (GPX) no lavado broncoalveolar de 15 equinos, subdivididos em três grupos, sendo eles, animais alocados a pasto (5) (Pasto), animais alocados em baia revestida com maravalha esterilizada (5) (ME) e maravalha não esterilizada (5) (MNE) em quatro diferentes momentos de avaliação, Basal, M15, M30 e M45. Letras minúsculas iguais não diferem entre-si na mesma linha ($p>0,05$). Jaboticabal, 2017.....43
- Figura 19.** Comparativo dos valores de superóxido dismutase (SOD) (μM) no lavado broncoalveolar de 15 equinos, subdivididos em três grupos, sendo eles, animais alocados a pasto (5) (Pasto), animais alocados em baia revestida com maravalha esterilizada (5) (ME) e maravalha não esterilizada (5) (MNE) em quatro diferentes momentos de avaliação, Basal, M15, M30 e M45. Letras minúsculas iguais não diferem entre-si na mesma linha e letras maiúsculas iguais não diferem entre-si no mesmo momento experimental ($p>0,05$) Jaboticabal, 2017.....44

- Figura 20.** Comparativo das médias \pm desvio padrão da média (DPM) de linfócitos mensurados no sangue venoso de 15 equinos, subdivididos em três grupos, sendo eles, animais alocados a pasto (5) (Pasto), animais alocados em baia revestida com maravalha esterilizada (5) (ME) e maravalha não esterilizada (5) (MNE) em quatro diferentes momentos de avaliação, Basal, M15, M30 e M45. Letras iguais não diferem entre-si na mesma linha ($p>0,05$). Jaboticabal, 2017.....47
- Figura 21.** Comparativo das médias \pm desvio padrão da média (DPM) de neutrófilos mensurados no sangue venoso de 15 equinos, subdivididos em três grupos, sendo eles, animais alocados a pasto (5) (Pasto), animais alocados em baia revestida com maravalha esterilizada (5) (ME) e maravalha não esterilizada (5) (MNE) em quatro diferentes momentos de avaliação, Basal, M15, M30 e M45. Letras iguais não diferem entre-si na mesma linha ($p>0,05$). Jaboticabal, 2017.....48
- Figura 22.** Comparativo das médias \pm desvio padrão da média (DPM) de eosinófilos mensurados no sangue venoso de 15 equinos, subdivididos em três grupos, sendo eles, animais alocados a pasto (5) (Pasto), animais alocados em baia revestida com maravalha esterilizada (5) (ME) e maravalha não esterilizada (5) (MNE) em quatro diferentes momentos de avaliação, Basal, M15, M30 e M45. Letras iguais não diferem entre-si na mesma linha ($p>0,05$). Jaboticabal, 2017.....49
- Figura 23.** Comparativo das médias \pm desvio padrão da média (DPM) de hemácias mensurados no sangue venoso de 15 equinos, subdivididos em três grupos, sendo eles, animais alocados a pasto (5) (Pasto), animais alocados em baia revestida com maravalha esterilizada (5) (ME) e maravalha não esterilizada (5) (MNE) em quatro diferentes momentos de avaliação, Basal, M15, M30 e M45. Letras iguais não diferem entre-si na mesma linha ($p>0,05$). Jaboticabal, 2017.....50
- Figura 24.** Comparativo das médias \pm desvio padrão da média (DPM) de hemoglobina mensurados no sangue venoso de 15 equinos, subdivididos em três grupos, sendo eles, animais alocados a pasto (5) (Pasto), animais alocados em baia revestida com maravalha esterilizada (5) (ME) e maravalha não esterilizada (5) (MNE) em quatro diferentes momentos de avaliação, Basal, M15, M30 e M45. Letras iguais não diferem entre-si na mesma linha ($p>0,05$). Jaboticabal, 2017.....51

- Figura 25.** Comparativo das médias \pm desvio padrão da média (DPM) do hematócrito mensurado no sangue venoso de 15 equinos, subdivididos em três grupos, sendo eles, animais alocados a pasto (5) (Pasto), animais alocados em baia revestida com maravalha esterilizada (5) (ME) e maravalha não esterilizada (5) (MNE) em quatro diferentes momentos de avaliação, Basal, M15, M30 e M45. Letras minúsculas iguais não diferem entre-si na mesma linha e letras maiúsculas iguais não diferem entre si no mesmo momento ($p>0,05$). Jaboticabal, 2017.....52
- Figura 26.** Comparativo com média \pm desvio padrão da média (DPM) dos gêneros de fungos encontrados na maravalha estéril (ME) antes de sua utilização (Limpa) e após quinze dias de utilização (Suja). Letras iguais não diferem entre si nas barras correspondentes ao mesmo gênero de fungo ($p>0,05$). Jaboticabal, 2017.....54
- Figura 27.** Comparativo com média \pm desvio padrão da média (DPM) dos gêneros de fungos encontrados na maravalha não estéril (MNE) antes de sua utilização (Limpa) e após quinze dias de utilização (Suja). Letras iguais não diferem entre si nas barras correspondentes ao mesmo gênero de fungo ($p>0,05$). Jaboticabal, 2017.....56
- Figura 28.** Comparativo com média \pm desvio padrão da média (DPM) dos gêneros de fungos encontrados nas amostras de feno pré-secado utilizados para a alimentação dos animais alocados a pasto, em baia revestida com maravalha esterilizada (ME) e maravalha não esterilizada (MNE) durante todo o período experimental. Jaboticabal, 2017.....57

1. INTRODUÇÃO

As vias aéreas realizam a interface entre o meio externo e o meio interno, permitindo a entrada do ar até as vias aéreas inferiores, sendo foco de agressão constante, não apenas por gases poluentes nocivos e partículas orgânicas, mas também por bactérias, vírus e fungos. Devido a isso é necessário um mecanismo de defesa eficiente, o qual se dá por meio da barreira mucociliar e da proteção imunocelular. Um dos fatores que ocasionam elevação nas injúrias sofridas pelo sistema respiratório dos equinos é a manutenção dos animais em baias.

A manutenção dos equinos em baias vem sendo utilizada há séculos na equideocultura, pela facilidade no manejo ou pela indisponibilidade de áreas para a criação a pasto. Entretanto, a manutenção destes animais no ambiente fechado das baias, sem manejo, ventilação e limpeza adequados, está diretamente relacionado ao desenvolvimento de afecções respiratórias de caráter agudo ou crônico, interferindo gravemente no desempenho esportivo e na qualidade de vida dos animais.

Um dos principais fatores relacionados ao desenvolvimento de afecções respiratórias dos animais estabulados, é o tipo de material utilizado para forrar o chão da baia, também conhecido como “cama”. Dentre eles, os principais são a maravalha (lascas de madeira), feno ou palha, areia, bagaço de cana-de-açúcar, borracha, entre outros, escolhidos de acordo com custo e disponibilidade regional e sazonal.

A qualidade da cama a ser utilizada, do ponto de vista respiratório, está diretamente relacionada a quantidade de partículas liberadas no ar durante a sua utilização, e a sua capacidade em abrigar e propiciar o desenvolvimento de fungos e bactérias. Quanto maior for a quantidade de partículas liberadas no ambiente, sejam elas inorgânicas ou orgânicas, maiores são as chances do animal aspirá-las e dar início ao processo alérgico ou infeccioso em suas vias aéreas.

Diante do exposto, buscou-se, avaliar as possíveis respostas inflamatórias e o equilíbrio oxidativo no lavado broncoalveolar, além da presença de fungos nas amostras de feno e nos dois diferentes tipos de cama em que os animais foram mantidos.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Sistema respiratório equino

O sistema respiratório dos equinos, assim como o de outras espécies é formado basicamente pelas narinas, cavidade nasal, seios paranasais, faringe, bolsas guturais, laringe, traqueia, brônquios primários, brônquios secundários e bronquíolos (FRANDSON; WILKE; FAILS, 2005; KÖNIG; LIEBICH, 2011). A principal função deste sistema consiste na ventilação, visando o fornecimento de oxigênio para a manutenção do metabolismo tecidual. Em contrapartida remove o dióxido de carbono (ROBINSON, 2004).

O aumento do consumo de oxigênio é diretamente relacionado à realização de atividade física, tendo em vista que durante o esforço físico, o tecido muscular requer um aporte maior de oxigênio. Nos equinos, durante o exercício intenso, o consumo de oxigênio pode aumentar em até 30 vezes em relação ao repouso. Este aumento ocorre de modo linear à medida que o animal desenvolve maior velocidade (HORNICKLE; MEIXNER; POLLMAN, 1983).

Os movimentos respiratórios, que garantem a entrada e saída de ar nos pulmões para as realizações das trocas gasosas, são realizados com o auxílio do sistema muscular, principalmente contraindo o diafragma e puxando-o caudalmente, aumentando a cavidade torácica e, por consequência, o pulmão, gerando pressão negativa interna o que faz com que o ar flua para dentro dos pulmões durante a inspiração. Além do diafragma, os músculos intercostais internos e externos e os músculos abdominais também auxiliam na ventilação. Nos equinos, a atividade muscular relacionada aos movimentos é muito mais evidente, tendo em vista que esta espécie, possui as fases ativa e passiva tanto na inspiração quanto na expiração, o que torna a atividade muscular necessária tanto na inspiração quanto na expiração, diferentemente da maioria das espécies, que deixam o movimento expiratório por conta da força elástica dos pulmões, tornando o processo passivo (ROBINSON, 2004).

Além da ventilação, o sistema respiratório possui outras funções não menos importantes como, olfação, termoregulação e vocalização (KÖNIG; LIEBICH, 2011).

Na respiração, o ar flui através das vias aéreas, que fornecem resistência friccional à sua passagem, principalmente nas vias aéreas superiores. Durante o exercício, a resistência destas vias, pode ser reduzida pela dilatação das narinas e pela vasoconstrição do tecido vascular das narinas. Algumas espécies como os cães e os bovinos podem respirar pela cavidade oral, contornando a resistência proporcionada pela cavidade nasal, principalmente durante a realização de exercício. Este artifício não pode ser utilizado pelos equinos, que necessariamente respiram pelas narinas (ROBINSON, 2004).

O sistema respiratório está intrinsecamente ligado ao sistema cardiovascular, tendo em vista que o pulmão recebe o fluxo sanguíneo do sistema circulatório que perfunde os capilares alveolares, onde são realizadas as trocas gasosas responsáveis pelo fornecimento de oxigênio e eliminação do dióxido de carbono dos tecidos. A interação entre sistema respiratório e cardiovascular ocorre em sintonia, como pode ser observado durante a realização de exercícios. Em face ao aumento do débito cardíaco, ocorre aumento da circulação pulmonar para potencializar as trocas gasosas, objetivando melhorar o aporte de oxigênio aos tecidos e eliminação de maior quantidade de dióxido de carbono ao meio externo, de acordo com as necessidades eventuais dos tecidos (AKERS; DENBOW, 2008).

A defesa do sistema respiratório é formada por mecanismos específicos e inespecíficos, que visam proteger o sistema, principalmente contra partículas potencialmente nocivas. Dentre estas compreendem-se as de origem animal, vegetal, agentes infecciosos como vírus e bactérias, agentes alergênicos como esporos de fungos e pólen, além de endotoxinas e gases nocivos que possam ser inalados (ROBINSON, 2004).

As partículas estranhas, quando inaladas, entram em contato com a substância viscosa presente no trato mucociliar e ficam aderidas. Com o auxílio da atividade sincrônica e ininterrupta do movimento ciliar, são conduzidas em direção à faringe, onde são deglutidas. A expulsão de partículas estranhas pode ocorrer com o auxílio do espirro e da tosse, que também promovem a limpeza da árvore brônquica (AKERS; DENBOW, 2008).

Quando as partículas estranhas superam os mecanismos de defesa das vias aéreas superiores, a defesa imunológica inata, formada principalmente por células

inflamatórias, fagocíticas e células *natural killers*, consiste na próxima linha de defesa. As células fagocíticas mais importantes são neutrófilos e macrófagos, que atuam ligando-se aos agentes agressores, fagocitando-os e destruindo-os, para posterior remoção, com auxílio dos movimentos ciliares. O sistema imune inato é responsável por fornecer resposta imediata a partir do contato inicial com o agente agressor, além de ser responsável pela indução da resposta imune adaptativa (COHN; REINERO, 2007).

A defesa imune adaptativa atua sobre os patógenos que não foram suprimidos pelas defesas física e imune inata. Esta barreira não oferece resposta imediata. Entretanto, possui especificidade maior aos patógenos e age criando memória imunológica. A imunidade humoral e a imunidade mediada por células atuam em conjunto na resposta imune adaptativa. Esta associação auxilia no processo de apresentação dos antígenos às células de defesa, potencializando esta barreira imunológica (COHN; REINERO, 2007). Nas porções mais profundas das vias aéreas existem nódulos linfáticos que contribuem para os mecanismos de defesa. Estes são constituídos por tecido linfoide associado ao brônquio (BALT), e atuam principalmente induzindo a resposta imune adaptativa (XU et al., 2003).

No caso dos cavalos, por serem mantidos a maior parte do tempo em baias com ventilação inadequada, a inalação de partículas suspensas de poeira ou esporos de fungos estão associadas ao desenvolvimento de algumas afecções inflamatórias de caráter agudo e crônico (FLEMING; HESSEL; VAN DEN WEGHE, 2008a). Dentre as espécies de fungos causadoras de infecções estão *Conidiobolus coronatus*, *Cryptococcus neoformans*, *Blastomyces dermatitides*, *Histoplasma capsulatum* e *Coccidioides immitis*, considerados patógenos primários, capazes de desenvolver infecções em equinos imunologicamente saudáveis. Outras espécies como *Pneumocystis carinii*, *Aspergillus* spp., *Candida* spp., *Fusarium* spp. e *Emmonsia crescens* são considerados agentes patogênicos oportunistas, que afetam principalmente animais imunologicamente comprometidos (STEWART, 2009).

2.2 Principais afecções alérgicas e fúngicas do sistema respiratório dos equinos

Diversos fatores estão relacionados à predisposição e ao desenvolvimento de afecções do sistema respiratório dos equinos. Dentre eles, destacam-se os fatores relacionados ao manejo e às condições ambientais, como por exemplo, excesso de trabalho, má nutrição, treinamento inadequado, instalações inadequadas, ambientes excessivamente empoeirados, baixas temperaturas e imunossupressão. Estes fatores podem favorecer a ação de agentes patogênicos, formados principalmente por vírus, fungos e bactérias, sejam elas aeróbias ou anaeróbias. Estes agentes adentram no sistema respiratório por meio da inalação, aspiração ou via hematogena. Conseguem instaurar a infecção, principalmente quando os mecanismos de defesa estão comprometidos ou quando são transpostos devido à alta carga do agente (BEECH, 2006).

Os equinos são comumente acometidos por afecções respiratórias de caráter não-infeccioso, responsáveis por consideráveis prejuízos à saúde destes animais. Estas estão diretamente relacionadas a queda de desempenho nos animais atletas. Dentre estas, as mais comuns são a obstrução recorrente das vias aéreas (ORVA) e a doença inflamatória das vias aéreas (DIVA) (RUSH, 2014).

2.2.1 Obstrução recorrente das vias aéreas (ORVA)

A ORVA, anteriormente conhecida como Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica (DPOC), devido à similaridade dos sinais clínicos com a afecção de mesmo nome que acomete os seres humanos. Entretanto, existe distinção entre a evolução de ambas. Nos equinos é caracterizada por variável obstrução do fluxo de ar durante a respiração e aumento na resposta imune brônquica levando à inflamação das vias aéreas. Os animais adultos são mais comumente acometidos (BEECH, 2006).

A etiologia está associada a fatores predisponentes, tais como a presença de alérgenos (esporos de fungos, endotoxinas e compostos inorgânicos no ambiente e nos alimentos) que, quando inalados, entram em contato com as células imunes do epitélio respiratório e desencadeiam o quadro de hipersensibilidade, levando a resposta inflamatória exacerbada nas vias aéreas, causando edema, e

consequentemente, dificuldade respiratória (BAYLY, 2001; BEECH, 2006). Segundo Jost et al. (2007) e Leclere, Lavoie-Lamoreaux e Lavoie (2011), pode existir, ainda, predisposição genética dos animais à esta afecção.

A teoria mais aceita acerca da patogenia baseia-se na imunização inicial, que se dá a partir dos primeiros contatos com os alérgenos inalados. Estes, ao entrarem em contato com as células imunes do trato respiratório, principalmente as células T-helper 2, desencadeiam a produção de interleucinas 4 e 13, estimulando as células B a produzirem imunoglobulinas E (IgE) (ROBINSON et al., 1996; BOWLES et al., 2002).

Após o processo de imunização inicial, caso ocorra reexposição ao antígeno (e consequente ligação com a IgE disposta na superfície dos mastócitos), desencadeia-se uma reação imediata a qual induz a liberação de mediadores como histamina, proteases e citocinas. Estes promovem a ocorrência de broncoespasmos, edemaciação das vias aéreas e produção de muco. Além disto ocorre a mobilização de leucócitos, que levarão ao surgimento de uma resposta complementar tardia, responsável pela manutenção da broncoconstrição e edema (BOWLES et al., 2002; LECLERE; LAVOIE-LAMOREAUX; LAVOIE, 2011).

Os sinais clínicos da ORVA podem variar de acordo com a fase de evolução da doença. Os principais consistem em diferentes graus de dificuldade respiratória, presença de linha de esforço na musculatura abdominal (músculo oblíquo abdominal externo), narinas dilatadas, perda de peso, respiração abdominal, relutância ao exercício, presença de secreção mucosa ou mucopurulenta. Tosse, presença de sibilos na auscultação pulmonar e picos febris em casos de reação alérgica grave também são sinais clínicos associados ao quadro. Entretanto, em alguns casos, o único sinal clínico é a perda de desempenho esportivo (THOMASSIAN, 2005; BEECH, 2006).

O diagnóstico desta afecção, em geral, é realizado levando-se em consideração os sinais clínicos e a resposta ao tratamento. Entretanto, em casos mais brandos, os sinais podem não ser evidentes, sendo necessária a utilização de exames complementares. Recomenda-se a realização da citologia do lavado bronco alveolar (LBA) a qual se caracteriza pelo aumento considerável nos valores de neutrófilos. A broncoscopia, para avaliação da presença de edema ou presença de muco nas vias aéreas, também pode ser efetuada (BAYLY, 2001; BEECH, 2006).

2.2.2 Doença inflamatória das vias aéreas (DIVA)

A DIVA, também conhecida como Doença Inflamatória das Vias Aéreas Inferiores, consiste em inflamação das vias aéreas de causa multifatorial. Pode comprometer o desempenho esportivo dos equinos (HOFFMAN; ROBINSON; WADE, 2003; CHRISTLEY; RUSH, 2007) e acomete cerca de 50% dos equinos no Reino Unido (BURREL, 1985).

A etiologia é desconhecida. Entretanto, existem evidências de que a origem é imune, podendo apresentar causas bacterianas e virais secundárias. Se caracteriza por acometer animais de qualquer idade, diferentemente da ORVA, que em geral afeta animais adultos (HOLCOMBE, 2005).

Diversos agentes etiológicos podem estar envolvidos no desenvolvimento da DIVA. Estes variam de acordo com a alimentação, ambiente em que vivem e as práticas de manejo sanitário. O quadro é mais frequentemente observado nos animais que passam a maior parte do tempo em baias, com ventilação inadequada. A inalação de partículas orgânicas ou inorgânicas, alérgenos, gases nocivos e agentes infecciosos são fatores predisponentes para a DIVA (LAURENT et al., 2007). Segundo Robinson et al. (2006), a alimentação dos animais com feno, mesmo quando estes vivem a pasto, também representa risco para o desenvolvimento de inflamação das vias aéreas. A realização de exercícios também está relacionada com a prevalência da DIVA, sugerindo que animais em treinamento inalam maiores volumes de ar, e, por consequência, maior número de partículas suspensas, assim como a exposição ao ar frio (CHRISTLEY; RUSH, 2007).

Os sinais clínicos são, tosse crônica, geralmente durante o exercício (a ausência de tosse não descarta o acometimento do animal), corrimento nasal mucoso/mucopurulento, alterações na auscultação pulmonar (principalmente quando utilizada a técnica do “saco de re-inalação”), dificuldade respiratória, aumento da frequência respiratória, acúmulo de muco nas vias aéreas, além de intolerância a exercícios de alta intensidade (HOFFMAN et al., 2003; LAURENT et al., 2007). O diagnóstico baseia-se no histórico do animal e na realização de exame físico detalhado, buscando evidenciar a presença de fatores etiológicos e sinais clínicos característicos. A realização de LBA, tem se mostrado muito efetiva para o diagnóstico, tendo em vista que a técnica obtém amostras de células presentes nas

porções mais distais das vias aéreas. Em geral, o LBA indica inflamação mista com aumento na quantidade de células nucleadas, leve neutrofilia, linfocitose, monocitose, inflamação eosinofílica e aumento das células metacromáticas (MAZAN; HOFFMAN, 2003; RUSH; MAIR, 2004). A avaliação endoscópica apresenta valor diagnóstico considerável pois auxilia na evidenciação da presença de muco (MAZAN; HOFFMAN, 2003).

Grande parte dos veterinários tem dificuldade em diferenciar o diagnóstico de DIVA e ORVA, devido à similaridade dos sinais clínicos apresentados por ambas. Devido a isto, em discussão realizada pelo American College of Veterinary Internal Medicine (ACVIM) sobre o tema, deliberou algumas diretrizes para auxiliar nesta diferenciação, no qual ficou definido que, a DIVA pode acometer animais de qualquer faixa etária, podendo apresentar baixo rendimento esportivo e relutância a realização de exercício de alta intensidade. Os animais acometidos apresentam tosse durante a realização de exercício com ou sem a presença de muco. Além disso observa-se a presença de inflamação não-séptica e evidências de obstrução das vias aéreas inferiores. Esta discussão também estabeleceu alguns fatores de exclusão para a DIVA, tais como, evidências de sinais sistêmicos de infecção, como alterações hematológicas, além da presença de dificuldade respiratória no repouso (COUËTIL et al., 2007).

2.2.3 Pneumonia fúngica

Devido à presença constante de esporos de fungos no ambiente dos cavalos, a inalação destas partículas pelos animais é praticamente inevitável. E a inalação destas partículas, além das afecções descritas acima, podem causar também a pneumonia fúngica. Isso ocorre quando os esporos de fungos são pequenos o suficiente para penetrarem nas vias aéreas inferiores e causarem infecção pulmonar. O quadro geralmente acomete animais imunocomprometidos, mas também pode acometer animais clinicamente saudáveis. Isto depende do tipo de fungo inalado (SWEENEY, 2006).

Esta afecção é caracterizada por processo inflamatório crônico, desencadeado após a infecção pulmonar por fungos dos gêneros *Cryptococcus* spp., *Histoplasma*

spp., *Coccidioides* spp., *Blastomyces* spp., *Aspergillus* spp. e *Pneumocystis carinii*. Seus principais sinais clínicos são tosse úmida e curta, presença de secreção nasal mucoide espessa, febre, dispneia e fraqueza. Em alguns casos, a infecção por fungo ocorre de maneira intercorrente com infecção bacteriana (BAYLY, 2001).

O diagnóstico da pneumonia fúngica, em geral, é feito após a realização de biópsia pulmonar percutânea, que busca evidenciar a presença de fungo no pulmão. O LBA e o lavado traqueobrônquico (LTB) também apresentam valor diagnóstico quando as amostras obtidas são submetidas a cultura fúngica (SWEENEY, 2006).

2.3 Lavado broncoalveolar (LBA)

O LBA é um método diagnóstico especializado para avaliação do sistema respiratório, que consiste na obtenção de amostras de secreções das vias aéreas inferiores, por meio de instilação de alíquotas de solução salina através de sonda ou broncoscópio, que variam de 60 a 300 mililitros (mL). O volume instilado, ou parte dele, é aspirado e devidamente analisados para identificação de sua celularidade e possível presença de microrganismos, como fungos e bactérias (BEECH, 2006).

Este procedimento é considerado seguro e não invasivo, além de ser excelente para a detecção de possíveis processos patológicos nas vias aéreas inferiores, muitas vezes causados pela presença de bactérias e fungos (MARQUÉS et al., 2011). Segundo Naylor, Clark e Claiton (1992), a amostra obtida por meio de técnica de LBA é mais representativa para a celularidade presente nas vias aéreas inferiores em relação a outras técnicas.

A eficácia do LBA na detecção de alterações patológicas se deve, principalmente, ao fato de que a mucosa que reveste o trato respiratório dos equinos, assim como de outras espécies, consiste em uma barreira onde atuam vários mecanismos de defesa. Estes se manifestam por meio da ação de diversos tipos celulares como, por exemplo, monócitos e fagócitos, dentre outros, que podem ser identificados após a análise das amostras obtidas com esta técnica (FREEMAN et al., 1993). A citologia broncoalveolar apresenta alta sensibilidade para o diagnóstico de doenças inflamatórias das vias aéreas inferiores dos equinos. Juntamente com exame físico e histórico possui grande valor diagnóstico nas afecções respiratórias (JORGE

et al., 2014). O LBA de animais clinicamente saudáveis apresenta menos de 5% de neutrófilos na contagem de células nucleadas (RADOSTITS et al., 2002).

2.4 Estresse oxidativo no sistema respiratório

O estresse oxidativo ocorre devido ao desequilíbrio entre a geração de compostos oxidantes e antioxidantes. As espécies reativas de oxigênio (EROs) são moléculas com um ou mais elétrons desemparelhados e provêm do metabolismo do oxigênio. Este é um processo contínuo e fisiológico, essencial para o cumprimento de funções biológicas importantes, como por exemplo, a geração de adenosina trifosfato (ATP) por meio da cadeia transportadora de elétrons. Entretanto, a produção de radicais livres em demasia ou a falha nos processos de remoção destes, pode trazer prejuízos ao organismo animal (BARBOSA et al., 2010).

Tais prejuízos se devem principalmente ao fato de que a produção excessiva de radicais livres pode ocasionar a oxidação de biomoléculas, como lipídeos, proteínas, e até DNA, levando a perda de suas funções e ao desequilíbrio homeostático. Como consequência ocorre lesão celular e tecidual (HALLIWELL; WHITEMAN, 2004).

Para proteger o organismo animal dos efeitos nocivos do excesso de radicais livres, o sistema de defesa antioxidante mantém o equilíbrio entre agentes oxidantes e antioxidantes. Os agentes antioxidantes são substratos que, mesmo em pequenas concentrações, conseguem evitar o processo oxidativo. A maior parte destes é encontrada no meio intracelular (FERREIRA; MATSUBARA, 1997).

Este sistema de defesa antioxidante consegue inibir ou reduzir os danos causados pela ação dos radicais livres por meio de três mecanismos principais, o sistema de prevenção, que visa impedir a formação das EROs, o sistema de varredores, que tende impedir o ataque destes radicais livres às células e tecidos, e o sistema de reparo, que auxilia na reconstituição das células e tecidos lesados (KOURI; DONANGELO, 2003).

O sistema de defesa comumente é dividido em enzimático e não-enzimático, sendo o primeiro formado por enzimas como superóxido dismutase (SOD), catalase e glutaciona peroxidase (GPX), já o segundo é formado por diversas substâncias

antioxidantes, em grande parte provenientes da dieta ou de origem endógena. Dentre estas substâncias estão vitaminas como a vitamina C (ácido ascórbico), vitamina A (β -caroteno), vitamina E (α -tocoferol), alguns minerais como o cobre, zinco, manganês e selênio, além de alguns compostos fenólicos (BARBOSA et al., 2010).

A superóxido dismutase (SOD) é um importante agente antioxidante que atua prevenindo o acúmulo do radical superóxido, que é extremamente danoso às células e tecidos. A SOD atua catalisando a dismutação do radical superóxido (O_2^-) em oxigênio (O_2) e peróxido de hidrogênio (H_2O_2), deste modo, ela transforma o radical superóxido potencialmente deletério ao organismo em dois componentes inofensivos (ANDRADE JUNIOR et al., 2005).

Existem três tipos de SOD, que classificadas de acordo com os íons metálicos aos quais se ligam, deste modo tem-se, SOD-Cu/Zn (cobre e zinco) que em geral está presente no citoplasma, SOD-Mn (manganês) presente nas mitocôndrias e SOD-Fe (ferro) (MILLER, 2012).

A SOD-Cu/Zn está presente no sistema respiratório principalmente nas células epiteliais alveolares e brônquicas, pneumócitos do tipo II, fibroblastos, macrófagos alveolares e no endotélio capilar pulmonar. Já a SOD-Mn (manganês) que representa cerca de 10 a 15% do total de SODs, é predominantemente encontrada no sistema respiratório nas mitocôndrias dos pneumócitos do tipo II, macrófagos alveolares, nas células da parede das vias aéreas e nas células da parede de arteríolas localizadas adjacientemente as vias aéreas (RAHMAN; BISWAS; KODE, 2006).

A glutathione é um agente antioxidante encontrado em grande escala em organismos anaeróbios. A capacidade antioxidante da glutathione está relacionada à habilidade desta enzima em levar à redução das EROs, conseqüentemente as neutralizando. Esta redução se dá através de seu ciclo catalítico, em que a glutathione reduzida possui um grupo tiol que atua como doador de prótons para as EROs. Ao doar prótons para a neutralização do radical livre a glutathione reduzida (GSH) sofre oxidação e se converte em glutathione oxidada (GSSG) por meio da ação catalítica da glutathione peroxidase. Para que a ação antioxidante da glutathione seja mantida, a GSSG é reduzida pela ação da glutathione redutase, que a transforma novamente em GSH, que ficara novamente disponível para doar prótons para novos radicais livres quando necessário (HUBER; ALMEIDA, 2008).

A glutathiona reduzida (GSH) está presente em grandes quantidades no LBA, o que aumenta a defesa do sistema respiratório a ação de agentes oxidantes. A queda nas concentrações da GSH no LBA tem sido relacionada à maior predisposição ao desenvolvimento de afecções pulmonares (ANDRADE JUNIOR et al., 2005).

A glutathiona peroxidase (GPX), citada anteriormente no ciclo de redução de GSH, é uma proteína tetramérica pertencente à família de enzimas antioxidantes selênio dependentes. Esta enzima utiliza a GSH como substrato para a redução de hidroperóxidos, atuando de forma importante na defesa celular contra os radicais livres (JORDÃO-JUNIOR et al., 1998; RAHMAN; BISWAS; KODE, 2006).

A vitamina C é um composto vitamínico potencialmente antioxidante, que possui intensa atividade contra os radicais livres em meios hidrofílicos, e tem a característica de atuar cooperativamente com a vitamina E na proteção contra danos causados por hidroperóxidos. Esta cooperação se dá pelo fato da vitamina C restaurar as propriedades antioxidantes da vitamina E oxidada. O ácido ascórbico (vitamina C) também potencializa o poder antioxidante do selênio (ANDRADE JUNIOR et al., 2005; BARBOSA et al., 2010).

Estudos *in vitro* demonstraram que quando a vitamina C está na presença de metais de transição como o ferro, ela pode atuar como substância pró-oxidante, gerando radicais livres. Entretanto, *in vivo* estes metais estão disponíveis em quantidades consideravelmente reduzidas, o que garante as características antioxidantes da vitamina C (BIANCHI; ANTUNES, 1999).

O potencial antioxidante dos compostos não-enzimáticos como a vitamina C, varia de acordo com alguns fatores como por exemplo, absorção e biodisponibilidade em condições fisiológicas, concentração plasmática e tipo de radical livre a ser neutralizado (BARBOSA et al., 2010).

O ácido úrico (ACU) é um antioxidante não-enzimático, proveniente do metabolismo das purinas, mais especificamente da xantina, por meio da ação da xantina oxidase. É considerado o principal antioxidante presente no plasma sanguíneo, principalmente devido a sua intensa atividade antioxidante em meios hidrófilos. Seu potencial antioxidante está relacionado a sua facilidade em doar elétrons, neutralizando os radicais livres. O ácido úrico atua em conjunto com a

vitamina C, de modo que a ausência desta vitamina diminui consideravelmente seu potencial antioxidante (SAUTIN; JOHNSON, 2008).

O ácido úrico é considerado um dos principais antioxidantes dos fluidos do trato respiratório, juntamente com a GSH, mucina e a vitamina C (CAVALCANTE; BRUIN, 2009).

O malondialdeído (MDA) é um aldeído de baixo peso molecular, amplamente utilizado como biomarcador do estresse oxidativo, devido ao fato deste aldeído ser subproduto da peroxidação lipídica, ou seja, subproduto do estresse oxidativo, também responsável pelas lesões celulares devido a sua alta citotoxicidade. Os valores de MDA são elevados em diversas afecções dos seres humanos, como por exemplo, câncer, diabetes, mal de Alzheimer, asma, doença pulmonar obstrutiva crônica (DPOC), assim como em quadros de intoxicação por metais e solventes (GROTTO et al., 2009). Em equinos, o MDA é amplamente utilizado como marcador de estresse oxidativo após a realização de exercícios (YONEZAWA et al., 2010; FERNANDES et al., 2012).

O sistema respiratório, sob condições normais, raramente sofre danos causados pelo estresse oxidativo, principalmente devido ao bom balanço entre agentes oxidantes e antioxidantes. Entretanto, a quebra deste equilíbrio pode estar associada ao desenvolvimento de afecções do sistema respiratório de equinos, como por exemplo, a ORVA e a hemorragia pulmonar induzida pelo exercício (HPIE) (SILVA; GONÇALVES, 2010).

Devido a fatores como o contato constante das células do epitélio respiratório com os agentes oxidantes inalados durante a respiração, a grande área de superfície e o grande fluxo sanguíneo no pulmão, o sistema respiratório está susceptível a danos ocasionados pela ação das EROs (RAHMAN; BISWAS; KODE, 2006).

No trato respiratório, as EROs, quando em excesso, podem destruir as células e o tecido elástico pulmonar e causar alterações na musculatura lisa das vias aéreas. Além disso, podem promover degradação do líquido surfactante, o que pode prejudicar a capacidade de expansão pulmonar durante a respiração. Como consequência ocorre piora no desempenho atlético. As EROs também podem ser responsáveis pela potencialização das respostas inflamatórias no sistema respiratório, podendo acentuar a gravidade das afecções (MILLS; HIGGINS, 1997).

Os principais agentes do sistema de defesa antioxidante, atuantes no sistema respiratório são a SOD, catalase, GSH, GPX, as vitaminas C e E além do selênio e algumas proteínas quelantes de ferro (Fe) e cobre (Cu) (ANDRADE JUNIOR et al., 2005).

Além da defesa antioxidante presente nas células do sistema respiratório, o fluido que recobre a superfície do epitélio respiratório também auxilia na defesa contra a ação das EROs formadas no espaço extracelular ou de origem exógena. Este fluido contém agentes antioxidantes como a SOD, GPX, GSH e proteínas como a albumina, ceruplasmina e vitamina C. As glicoproteínas do muco presente no sistema respiratório também possuem ação antioxidante (SILVA; GONÇALVES, 2010).

Alguns metabólitos específicos de reações oxidantes ou antioxidantes são utilizados como marcadores de estresse oxidativo, devido ao fato de poderem ser identificados e quantificados. Dentre os mais utilizados estão, a catalase, a glutathione em suas formas reduzida e oxidada (GSH e GSSG), GPx, MDA, vitaminas C e E, ácido úrico, dentre outros (BARBOSA et al., 2010; RODRIGUES et al., 2010).

3. OBJETIVOS

3.1 Gerais

Avaliar o lavado broncoalveolar de equinos expostos a dois diferentes tipos de cama e a pasto quanto ao desenvolvimento de respostas inflamatórias mediante a identificação da celularidade e de marcadores de estresse oxidativo nas amostras de LBA, assim como, identificar a presença de espécies fúngicas nos dois diferentes tipos de cama e no feno utilizado na alimentação dos animais.

3.2 Específicos

- Avaliar o perfil eritroleucométrico sanguíneo de equinos mantidos em dois diferentes tipos de cama e a pasto;
- Avaliar a celularidade do LBA de equinos mantidos em dois diferentes tipos de cama e a pasto;
- Avaliar a lipoperoxidação utilizando-se o indicador malondialdeído (MDA) no LBA;
- Avaliar o comportamento de substâncias antioxidantes como a glutathione peroxidase (GPX), glutathione reduzida (GSH) e glutathione oxidada (GSSG), superóxido dismutase (SOD), vitamina C e ácido úrico;
- Verificar a ocorrência de estresse oxidativo no LBA, dado pelo desequilíbrio entre indicadores oxidativos e substâncias antioxidantes;
- Avaliar a presença de diferentes espécies fúngicas no feno pré-secado e nos dois diferentes tipos de cama utilizados.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Animais

Foram utilizados quinze equinos adultos, machos ou fêmeas, sem raça definida, com idade média de $14,2 \pm 3,1$ anos e peso médio de $402,1 \pm 30,4$ quilos. Previamente ao início do período experimental, os animais foram submetidos ao exame físico para determinação da higidez e passaram por programa de desverminação¹ e controle de ectoparasitas². Foram utilizados equinos hígidos, e em bom estado nutricional.

Os animais foram divididos em três grupos experimentais. No grupo ME os animais com idade média de $14,4 \pm 4,6$ anos, foram alocados em baias com cama de maravalha esterilizada (autoclavada) de pinus (*Pinus elliottii*) vendida comercialmente (Figura 1A). No grupo MNE os animais com idade média de $13,8 \pm 3,1$ anos, foram alocados em baias com revestimento de maravalha não esterilizada (Figura 1B) proveniente de madeiras e fábricas de móveis com diferentes tipos de madeira e no grupo Pasto, os animais com idade média de $14,2 \pm 3,1$ anos, foram mantidos em piquete previamente roçado, com pouca cobertura vegetal, para que não se alimentassem da pastagem e recebessem a mesma alimentação dos animais estabulados.

Todos os animais, independente do grupo, receberam como alimentação diária 1% do seu peso corpóreo em alimento volumoso, constituído de feno pré-secado de Tifton, 1% do peso corpóreo em ração comercial, sal mineral e água *ad libitum*.

Este estudo foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de animais (CEUA) da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias-FCAV-UNESP, Câmpus de Jaboticabal, com o número de protocolo 21034/15, estando de acordo com a lei nº 11.794, de oito de outubro de 2008, nº decreto 6.899, de quinze de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA).

¹Equalan®, Merial Saúde Animal LTDA, São Paulo, SP, Brasil.

²Butox® P CE 25, Intervet Brasil- Akzo Nobel Ltda, São Paulo, SP, Brasil.



Figura 1. Imagem comparativa dos dois tipos de materiais utilizados como revestimento das baias. (A) Maravalha esterilizada (ME). (B) Maravalha não esterilizada (MNE). Jaboticabal, 2017.

4.2 Instalações e alocação dos animais

Os animais dos grupos ME e MNE foram alocados em baias individuais com dimensões de 3 x 4 metros, no mesmo pavilhão de baias, nas dependências no Setor de Equinocultura da FCAV/UNESP, seguindo a divisão ilustrada na Figura 2, preconizando a separação entre os grupos por duas baias vazias, para minimizar possíveis trocas de partículas suspensas no ar entre os grupos.

Sala de Rações	ME	ME			MNE	MNE	MNE
Sala de Materiais	ME	ME	ME			MNE	MNE

Figura 2. Esquema da planta baixa do pavilhão de baias do Setor de Equinocultura da FCAV/UNESP, com o mapa da distribuição dos grupos ME (maravalha esterilizada) e MNE (maravalha não esterilizada). Jaboticabal, 2017.

Anteriormente ao início do período experimental, o conjunto de baias passou por processo de higienização e desinfecção constituído de três etapas, sendo elas, a lavagem das paredes, chão e cochos com água e detergente neutro, com auxílio de bomba pressurizadora, aplicação de hipoclorito de sódio (1%) (NaClO) e passagem de lança chamas (“vassoura de fogo”). Antes do início da lavagem, o forro de telhas de cerâmica foi totalmente varrido com vassoura para posterior passagem de soprador de ar de alta pressão, com o intuito de remover a maior parte das sujidades.

O armazenamento do feno e dos diferentes tipos de maravalha foi realizado em galpão acessório, próximo, mas sem comunicação com o conjunto de baias utilizado pelos animais. Os animais foram mantidos em seus respectivos locais durante todo o período experimental que durou 45 dias.

4.3 Limpeza e manutenção das baias

Durante o período experimental, foram realizadas limpeza e manutenção das baias diariamente, com a retirada das fezes e urina, e reposição da cama quando necessário. Da mesma forma foi realizada a lavagem dos cochos de água e retirada de feno remanescente do dia anterior. Durante estes procedimentos, que duravam aproximadamente quinze minutos, os animais eram retirados do local.

As camas das baias foram totalmente trocadas após 15 e 30 dias, sendo colocada a mesma quantidade de cama nova, de acordo com a distribuição dos grupos. Após o final do período experimental, procedeu-se a retirada total da cama de todas as baias.

4.4 Temperatura ambiente, umidade relativa do ar e velocidade média dos ventos

Para avaliação da temperatura ambiente, umidade relativa do ar e velocidade média dos ventos, e suas possíveis influências, foram utilizados dados meteorológicos convencionais coletados no período compreendido entre 30 de março e 28 de maio de 2015, na estação Agroclimática do Departamento de Ciências Exatas da Faculdade

de Ciências Agrárias e Veterinárias - FCAV/UNESP, Câmpus de Jaboticabal. A estação está localizada na latitude 21°15'22" e longitude 48°18'58", com altitude de 595 metros no município de Jaboticabal.

4.5 Colheitas de amostras

4.5.1 Lavado broncoalveolar

As amostras de LBA foram colhidas em quatro momentos, sendo eles, momento basal (Basal), imediatamente antes dos animais serem alocados nas baias e no pasto, após quinze dias da alocação (M15), após trinta dias da alocação (M30) e o último momento, após quarenta e cinco dias da alocação (M45).

A colheita das amostras do LBA utilizadas neste estudo se baseou na técnica descrita por Hoffman (1999), com adaptações, utilizando sondas flexíveis³ específicas para a realização de LBA em equinos.

Inicialmente, o animal foi mantido em tronco de contenção, e sedado com xilazina⁴, na dose de 0,05 mg/kg, por via intravenosa. Após a limpeza da narina esquerda, a sonda, lubrificada com lidocaína 2% em gel⁵ foi introduzida no meato ventral, enquanto o auxiliar realizava a extensão da cabeça do animal (paralela ao solo) (Figura 3), para facilitar a passagem da sonda pela laringe, chegando a traqueia. No momento em que o animal começava a tossir, indicativo da sonda ter atingido a carina, instilava-se 20 mL de solução de lidocaína 0,4% (20 mL de lidocaína 2%⁶ para 80 mL de solução fisiológica), com o objetivo de insensibilizar os receptores que estimulam a tosse. Ato contínuo, a inserção da sonda era retomada, até que houvesse resistência a sua passagem. Neste momento o cuff era inflado com volume de 5 mL de ar, promovendo a fixação temporária da sonda, isolando a porção do brônquio a ser lavada. A lavagem era realizada instilando-se 180 mL de solução de cloreto de sódio 0,9% estéril⁷. Ao término da instilação, procedia-se a aspiração do conteúdo, o

³ Large Animal Broncho-Alveolar Lavage Catheter-MILA international, Kentucky, Estados Unidos da América.

⁴ Sedomin® König SA, São Paulo, SP, Brasil.

⁵ Xylestesin® Cristália, Itapira, SP, Brasil.

⁶ Cloridrato de lidocaína 2%, Hipolabor Farmacêutica, Sabará, MG, Brasil.

⁷ Solução fisiológica 0,9%, JP Indústria Farmacêutica S.A., Ribeirão Preto, SP, Brasil.

qual continha a secreção espumosa de coloração esbranquiçada (Figura 4), diretamente relacionada com a efetividade do LBA (presença de surfactante).

As amostras obtidas foram armazenadas em criotubos, mantidos em freezer - 80°C, para posterior realização das análises do estresse oxidativo, e também, nas próprias seringas utilizadas para a aspiração. Estas eram devidamente identificadas e armazenadas em caixa térmica com gelo reutilizável, para que fossem transportadas ao laboratório onde eram realizadas as análises da celularidade do LBA em, no máximo, quatro horas após a colheita.



Figura 3. Realização da técnica de lavado broncoalveolar em equino, devidamente contido e sedado, com extensão da cabeça, facilitando a introdução da sonda na traqueia. Jaboticabal, 2017.



Figura 4. Amostra parcial obtida após a realização de lavado broncoalveolar em equino, com a presença de secreção espumosa de coloração esbranquiçada (surfactante), demonstrando a efetividade da colheita. Jaboticabal, 2017.

4.5.2 Amostras de cama

As amostras da cama das baias foram colhidas no momento basal e a cada sete dias, contados a partir do dia seguinte à colheita anterior, nos momentos M8, M15, M22, M29, M36 e M43. No entanto, nos momentos M15 e M29 foram coletadas duas amostras de cada baia, uma da cama suja (após ser utilizada por quinze dias) e outra da cama limpa (após a troca total da cama). O método de colheita nas dez baias que compunham os grupos ME e MNE, seguiu esquema de amostragem, como ilustrado na Figura 5, de modo que as amostras foram colhidas em doze pontos diferentes da baia, em diferentes profundidades. Após a colheita, as amostras foram homogeneizadas, visando representatividade maior da cama disposta em toda a baia.

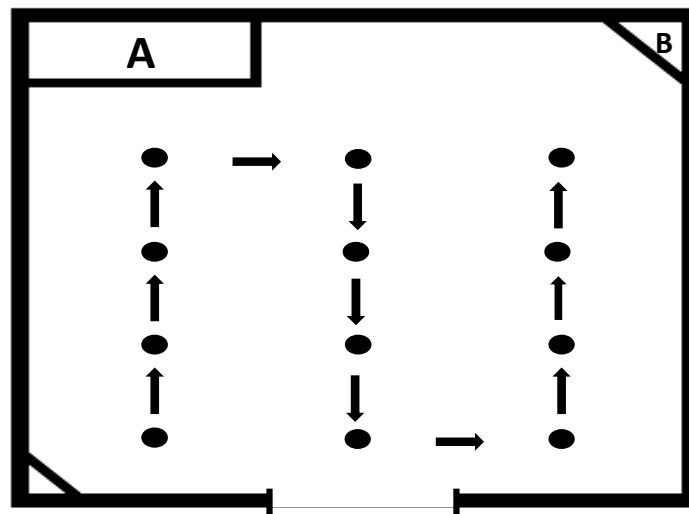


Figura 5. Esquema da planta de uma baía do Setor de Equinocultura da FCAV/UNESP, onde A representa o cocho de alimentação, e B representa o cocho de água, com os locais de colheita das amostras da cama para as análises fúngicas, representados pelos pontos no interior da planta da baía. Em cada um dos pontos a profundidade da colheita variava de forma randômica. Jaboticabal, 2017.

Após a colheita e homogeneização, as amostras eram acondicionadas em sacos de papel Kraft, devidamente identificados. Os sacos contendo as amostras foram armazenados em local seco e limpo, em temperatura ambiente, para posterior realização das análises fúngicas.

4.5.3 Amostras de feno

As amostras do feno pré-secado foram colhidas diariamente por amostragem em diversos pontos, com diferentes profundidades do rolo de feno. Após a colheita, a amostra foi homogeneizada para melhor representação. A colheita das amostras foi realizada imediatamente antes da retirada do feno para a alimentação dos animais no início da manhã.

Imediatamente após a colheita, as amostras foram armazenadas em sacos de papel Kraft, devidamente identificados. Os sacos contendo as amostras foram armazenados em local seco e limpo, em temperatura ambiente, para posterior realização do isolamento fúngico.

4.5.4 Amostras de sangue venoso

As amostras de sangue venoso foram colhidas nos momentos Basal, M15, M30 e M45, por meio de punção da veia jugular externa, utilizando-se tubos contendo ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA)⁸.

Após a colheita, os tubos foram imediatamente armazenados em caixa térmica contendo gelo reutilizável, para que fossem transportados ao laboratório onde eram realizadas as análises, logo após o término das colheitas.

4.6 ANÁLISES EXPERIMENTAIS

4.6.1 Lavado Broncoalveolar (LBA)

4.6.1.1 Celularidade

As análises de celularidade do LBA foram realizadas no Laboratório de Patologia Clínica Veterinária “Prof. Dr. Joaquim Martins Ferreira Neto” do Hospital Veterinário “Governador Laudo Natel” da FCAV-UNESP, Câmpus de Jaboticabal.

Seguindo a recomendação feita por McGorum e Dixon (1994), as amostras foram processadas em até quatro horas após a colheita. Inicialmente, foram realizadas as contagens de células nucleadas totais e eritrócitos em câmaras de Neubauer.

O volume restante das amostras foi centrifugado a 1.300 rotações por minuto (rpm), a 4°C, durante 6 minutos. Após isso, o sobrenadante foi reservado para análise posterior, e o “botão” celular (*pellet* celular) foi transferido para citocentrífuga para nova centrifugação. Terminada essa nova centrifugação, foram confeccionadas lâminas e coradas com panótico rápido e fixadas. A contagem citológica diferencial foi realizada em microscópio óptico, avaliando o percentual de linfócitos, eosinófilos, neutrófilos, macrófagos e mastócitos presentes nas amostras.

⁸ Tubo EDTA BD Vacutainer®, BD-Becton Dickinson Indústrias Cirúrgicas S.A., Juiz de Fora, MG, Brasil.

4.6.1.2 Estresse oxidativo

Foram realizadas análises para identificação e quantificação do malondialdeído (MDA), superóxido dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GPX), glutathione reduzida (GSH), glutathione oxidada (GSSH), proteínas totais (PT), ácido úrico (ACU) e vitamina C (Vit. C). Estas análises foram realizadas no Laboratório de Nutrição e Metabolismo da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo - FMRP-USP, a partir de amostras de LBA devidamente armazenadas a -80°C.

As análises do MDA foram realizadas por meio de técnica descrita por Gerard-Monnier et al. (1998), com adaptações, que consistiu na utilização de 100 µL da amostra de LBA total, adicionados a 300 µL de solução de 10 mM de 1-metil-fenilindol em acetonitrila e metanol (2:1, v/v) e 75µL de HCl puro (37%), posteriormente homogeneizados e incubados em banho-maria a 45°C durante 40 minutos. Após o banho-maria, as amostras foram resfriadas em gelo e posteriormente centrifugadas a 4.000 rpm durante 10 minutos. Finalizada a centrifugação, o sobrenadante foi utilizado para a leitura de absorbância com comprimentos de onda de 586 nanômetros, sendo a concentração de MDA calculada de acordo com a curva obtida.

As análises da SOD foram realizadas por meio de kit comercial⁹ de método colorimétrico, seguindo as instruções do fabricante. A GPX foi analisada segundo técnica descrita por Paglia e Valentine (1967), com adaptações. Utilizou-se solução constituída por 1,8 mL de tampão fosfato (PO⁴) 50 mM pH 7-7; 6,7 µL de azida sódica 1,125 mM; 67 µL de GSH 0,15 mM (0,1152 g em 2,5 mL de tampão fosfato); 67 µL NADPH 8,4 mM (0,0175 g em 2,5 mL tampão fosfato); 2 µL de GSH-Red, ao qual eram adicionados 67 µL de amostra. Posteriormente, a solução foi submetida a leitura de absorbância com comprimentos de onda de 340 nanômetros.

O ensaio realizado para a determinação dos valores de GSH e GSSH foi realizado de acordo com técnica descrita por Rahman, Kode e Biswas (2007), que por meio de espectrofotometria avalia a oxidação de GSH por reagente sulfidrilo 5,5'-ditio-bis (ácido 2-nitrobenzóico) formando o derivado 5'-tio-2-nitrobenzóico ácido. A curva obtida por estas leituras a 412 nanômetros foi comparada posteriormente com a curva padrão para cálculo dos valores de GSH e GSSG.

⁹ SOD Assay Kit-WST- 19160, Sigma-Aldrich, Buchs, Suíça.

Os valores referentes às concentrações de proteínas totais foram obtidos por meio de kit comercial¹⁰, que utiliza a metodologia do biureto. A determinação das concentrações de ACU foram realizadas por meio de kit comercial¹¹, o qual utiliza sistema enzimático por reação de ponto final, mediante método colorimétrico.

As concentrações da vitamina C foram determinadas por meio de técnica descrita por Bessey (1960). O volume de 0,25 mL da amostra foi homogeneizado juntamente com 1,0 mL de ácido tricloroacético 5%. Posteriormente, a solução foi centrifugada durante 10 minutos a 3.500 rpm. Após isto era retirado 0,6 mL do sobrenadante da solução previamente centrifugada, e adicionava-se 0,2 mL da solução reagente de dinitrofenilhidrazina+tiouréia+sulfato de cobre, que posteriormente foi incubada em banho-maria a 37°C durante quatro horas, sendo em seguida adicionado 1,0 mL de H₂SO₄ a 65%. Após 20 minutos, realizava-se a leitura em espectrofotômetro com comprimento de onda de 520 nanômetros.

4.6.2 Análises Fúngicas da cama/feno

As análises fúngicas das amostras das camas dos grupos ME e MNE e as amostras de feno foram realizadas no laboratório do Departamento de Fitossanidade da FCAV-UNESP, Câmpus de Jaboticabal.

As amostras armazenadas em sacos de papel Kraft foram submetidas a teste de sanidade fúngica em papel filtro (“blotter test”) descrito por Lucca Filho (1987) para análises de sementes, posteriormente adaptado para realização de análises em forragens.

Inicialmente, as amostras foram retiradas do saco de papel e selecionados fragmentos de modo randômico de cama/feno. Estes fragmentos foram reduzidos com auxílio de tesoura (caso houvesse necessidade) em fragmentos de aproximadamente 0,5 cm de comprimento e largura. Para cada amostra analisada, foram preparadas dez placas de Petri contendo 3 papéis filtro quantitativo com diâmetro de 9 cm, umedecidos com água bidestilada. Cada placa recebeu 10 fragmentos (0,5 cm) da amostra, perfazendo o total de 100 fragmentos analisados para cada amostra (dez

¹⁰ Kit Proteínas Totais- Ref. 99, LabTest Diagnostica, Lagoa Santa, MG, Brasil.

¹¹ Kit Ácido Úrico Liquiform - Ref 73, LabTest Diagnostica, Lagoa Santa, MG, Brasil.

placas de Petri contendo 10 fragmentos em cada). Estas placas foram incubadas em câmara de fotoperíodo a 22°C, durante sete dias, com doze horas de iluminação artificial (lâmpadas de luz fluorescente) por dia. Após o período de incubação, as placas foram analisadas em estereomicroscópio¹² para identificação fúngica. Quando havia dúvida quanto a identificação de determinada espécie fúngica, eram confeccionadas lâminas de microscopia e coradas com lactofenol-azul-algodão, para posterior análise em microscópio óptico convencional¹³. Após a identificação das espécies, foi calculada a incidência estimada de fungos nas amostras avaliadas. Este cálculo foi realizado pela aplicação de fórmula matemática descrita por Senthilkumar, Udayan e Manian (1993), que determinava a porcentagem da ocorrência dos fungos observados;

$$\text{Cálculo da \% de frequência} = \frac{\text{n}^\circ \text{ de fragmentos em que o fungo foi identificado}}{\text{n}^\circ \text{ Total de amostras analisadas}} \times 100$$

4.6.3. Análises hematológicas

As análises hematológicas foram realizadas no Laboratório de Patologia Clínica Veterinária “Prof. Dr. Joaquim Martins Ferreira Neto” do Hospital Veterinário “Governador Laudo Natel” da FCAV-UNESP, Câmpus de Jaboticabal. As amostras armazenadas em tubos contendo EDTA foram utilizadas para a obter os valores referentes as contagens de hemácias e leucócitos totais, plaquetas, teor de hemoglobina sanguínea e o hematócrito em analisador hematológico automático¹⁴.

As contagens diferenciais dos leucócitos sanguíneos foram realizadas em esfregaço corados com May-Grunwald-Giemsa, sendo os valores obtidos nesta contagem diferencial expressos em percentual e multiplicados pela contagem leucocitária, determinando as concentrações absolutas dos diferentes leucócitos.

¹² Quimis® Q7724S, Quimis Aparelhos Científicos, Diadema, SP, Brasil.

¹³ Olympus® CX31, Olympus Latin America, Brasil.

¹⁴ SYSMEX, pochH-100iVDiff®, Japão.

4.7. Análise estatística

As variáveis estudadas foram analisadas no programa computacional SAS¹⁵. As variáveis relacionadas ao estresse oxidativo (MDA, SOD, ácido úrico, vitamina C, GSH, GSSH, GPx), análises climatológicas e hemograma foram avaliadas por análise de variância de medidas repetidas no delineamento de parcelas subdivididas, testando o fator Grupo (ME, MNE e Pasto) nas parcelas e o fator Momento (Basal, M15, M30, M45) nas subparcelas, com 5 animais (repetições) para cada Grupo. O quadrado médio da interação Animal x Grupo, foi usado como resíduo para testar o efeito de grupo.

Posteriormente, foi utilizado o teste de comparação múltipla de Tukey, ao nível de significância de 5%. Para as análises foi utilizado o procedimento General Linear Models (GLM) do programa computacional.

Para as análises fúngicas, em relação as espécies encontradas, foi utilizado o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis, sendo que para valores de P iguais ou inferiores a 0,05, as diferenças entre as medianas entre grupos, momentos e momentos dentro de grupos foram consideradas significativas, tendo sido adotado para essa análise o procedimento npar1way do programa computacional.

¹⁵ SAS 9.1, SAS Institute, Cary, NC, Estados Unidos.

5. RESULTADOS

5.1 Temperatura ambiente, umidade relativa do ar e velocidade média dos ventos

Os valores referentes a temperatura ambiente, avaliada durante o período experimental, estão ilustrados na Figura 6. O período basal se refere as médias dos valores de quinze dias antes do início do experimento (Basal), quando todos os animais estavam a pasto. Já o período M15 faz referência as médias dos quinze primeiros dias do período experimental. Do mesmo modo o período M30 se refere as médias dos quinze dias após o período M15 e o período M45, se refere as médias dos quinze dias seguintes ao período M30, respectivamente. Esta distribuição foi utilizada para a temperatura ambiente, umidade relativa do ar e velocidade média dos ventos.

Apesar de não haver diferenças estatísticas, pode-se notar que houve diminuição progressiva da temperatura no período compreendido entre M15 e M45, com os valores mínimos entre 15 e 20°C e os máximos entre 25 a 30°C.

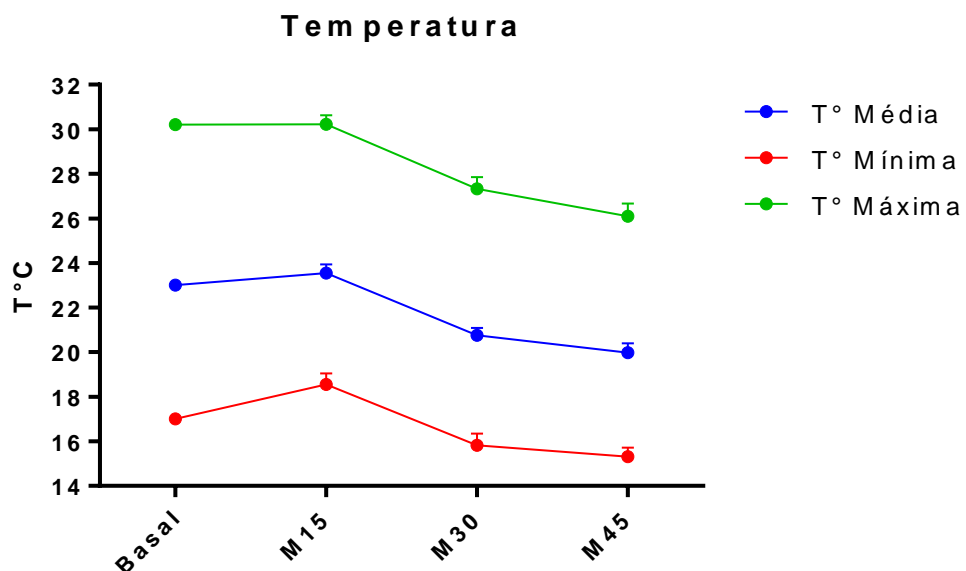


Figura 6. Comparativo da temperatura ambiente máxima, mínima e média, em graus Celsius, registrado durante o período experimental, compreendido por Basal, M15, M30 e M45, os quais correspondem a média dos valores dos quinze dias anteriores a cada um dos momentos de avaliação, respectivamente. Jaboticabal, 2017.

Os valores referentes a umidade relativa do ar permaneceram basicamente constantes, sendo que as menores porcentagens se deram nos períodos referentes a M15 e M30, como pode ser observado na Figura 7.

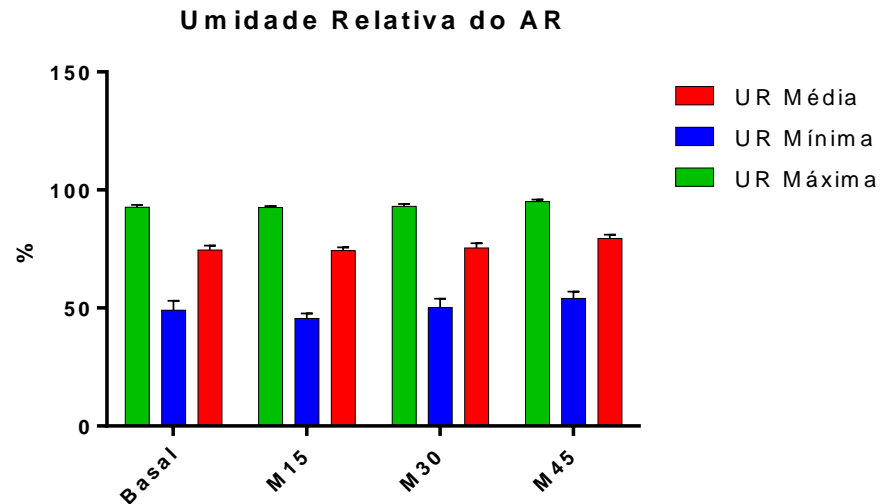


Figura 7. Comparativo da porcentagem da umidade relativa do ar máxima, mínima e média, registrado durante o período experimental, compreendido por Basal, M15, M30 e M45, os quais correspondem a média dos valores dos quinze dias anteriores a cada um dos momentos de avaliação, respectivamente. Jaboticabal, 2017.

Pode-se observar que o período referente a M15 apresentou os valores mais altos de temperatura média e os valores mais baixos da porcentagem de umidade relativa do ar média, porém sem que houvesse diferença significativa. O índice pluviométrico durante todo o período experimental foi de 175,3 mm, distribuídos nos períodos, como ilustrado na Figura 8.

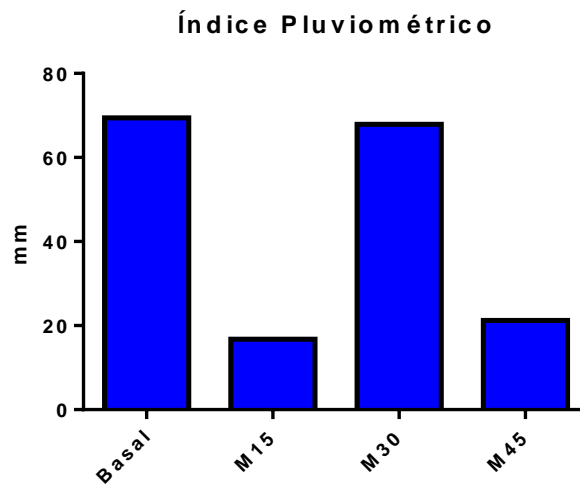


Figura 8. Comparativo da pluviosidade durante o período experimental, compreendido por Basal, M15, M30 e M45, os quais correspondem a média dos valores dos quinze dias anteriores a cada um dos momentos de avaliação, respectivamente Jaboticabal, 2017.

Os valores referentes a velocidade média dos ventos, avaliada durante o período experimental, estão ilustrados na Figura 9. Não houve diferenças significativas nos valores entre os momentos avaliados. Entretanto, pode-se observar aumento progressivo da velocidade média dos ventos a partir do momento basal, com os maiores valores observados em M30, tendo em M45 havido queda para valores menores do que os observados no momento Basal.

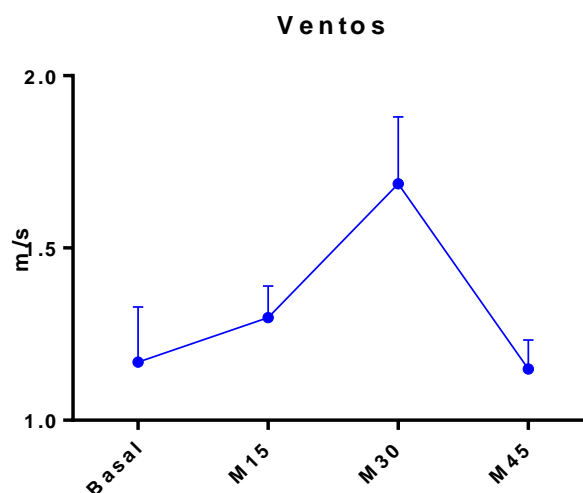


Figura 9. Comparativo da velocidade média dos ventos (m/s) durante o período experimental, compreendido por Basal, M15, M30 e M45, os quais correspondem a média dos valores dos quinze dias anteriores a cada um dos momentos de avaliação, respectivamente Jaboticabal, 2017.

5.2 Lavado broncoalveolar

5.2.1 Celularidade

Os valores referentes a contagem de células nucleadas totais (CCNT) no LBA estão dispostos na Tabela 1. Não houve diferenças significativas entre os grupos ou momentos avaliados e, os três grupos apresentaram valores semelhantes no momento Basal (Figura 10). Em M15, os valores referentes ao grupo Pasto apresentaram padrão crescente confirmado nos momentos posteriores (M30 e M45). Já os valores referentes ao grupo ME caíram em M15, posteriormente aumentando nos momentos M30 e M45, porém sem que houvesse diferenças significativas.

Tabela 1. Médias \pm desvio padrão da média (DPM) da contagem de células nucleadas totais (CCNT) ($\times 10^3/\mu\text{L}$) no lavado broncoalveolar de 15 equinos, subdivididos em três grupos, sendo eles, animais alocados a pasto (5) (Pasto), animais alocados em baia revestida com maravalha esterilizada (5) (ME) e maravalha não esterilizada (5) (MNE) em quatro diferentes momentos de avaliação, Basal, M15, M30 e M45. Jaboticabal, 2017.

	Pasto	ME	MNE
Basal	251,00 \pm 145,32	232,00 \pm 89,13	242,00 \pm 80,70
M15	311,20 \pm 182,39	140,60 \pm 42,30	197,00 \pm 43,67
M30	311,80 \pm 79,75	153,60 \pm 19,50	248,60 \pm 50,20
M45	336,800 \pm 94,94	270,20 \pm 15,71	227,60 \pm 44,21

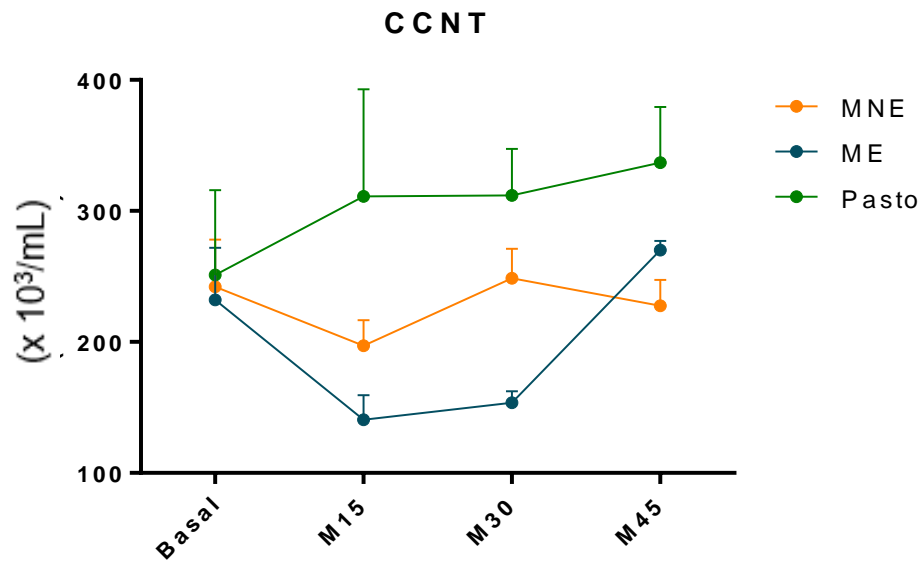


Figura 10. Contagem de células nucleadas totais (CCNT) no lavado broncoalveolar de 15 equinos, subdivididos em três grupos, sendo eles, animais alocados a pasto (5) (pasto), animais alocados em baia revestida com maravalha esterilizada (5) (ME) e maravalha não esterilizada (5) (MNE) em quatro diferentes momentos de avaliação, Basal, M15, M30 e M45. Jaboticabal, 2017.

Os valores referentes ao percentual de neutrófilos estão dispostos na Tabela 2. Trinta dias após terem sido alocados nas suas respectivas baias, os animais mantidos estabulados em cama com maravalha esterilizada (ME) apresentaram maior porcentagem de neutrófilos em relação aos outros grupos ($p \leq 0,05$) (Figura 11).

Tabela 2. Médias \pm desvio padrão da média (DPM) da contagem de neutrófilos segmentados (Ne) (%) no lavado broncoalveolar de equinos, subdivididos em três grupos, sendo eles, animais alocados a pasto, animais alocados em baia revestida com maravalha esterilizada (ME) e maravalha não esterilizada (MNE) em quatro diferentes momentos de avaliação, Basal, M15, M30 e M45. Jaboticabal, 2017.

	Pasto	ME	MNE
Basal	18,00 \pm 12,14 A a	12,80 \pm 5,79 A a	21,00 \pm 14,44 A a
M15	15,60 \pm 3,36 A a	8,20 \pm 5,54 A ac	10,40 \pm 2,79 A a
M30	9,40 \pm 4,80 A a	35,00 \pm 18,87 B b	16,40 \pm 2,88 A a
M45	7,80 \pm 3,35 A a	4,80 \pm 2,80 A c	4,40 \pm 2,97 A b

Letras maiúsculas iguais não diferem entre si na linha e letras minúsculas iguais não diferem entre si na coluna ($p > 0,05$).

Dentre os momentos, houve diferença significativa no grupo ME que apresentou maior valor em M30 e menores valores em M15 e M45, respectivamente. No grupo MNE, a média foi significativamente menor em M45, após apresentar valores oscilantes nos momentos Basal, M15 e M30.

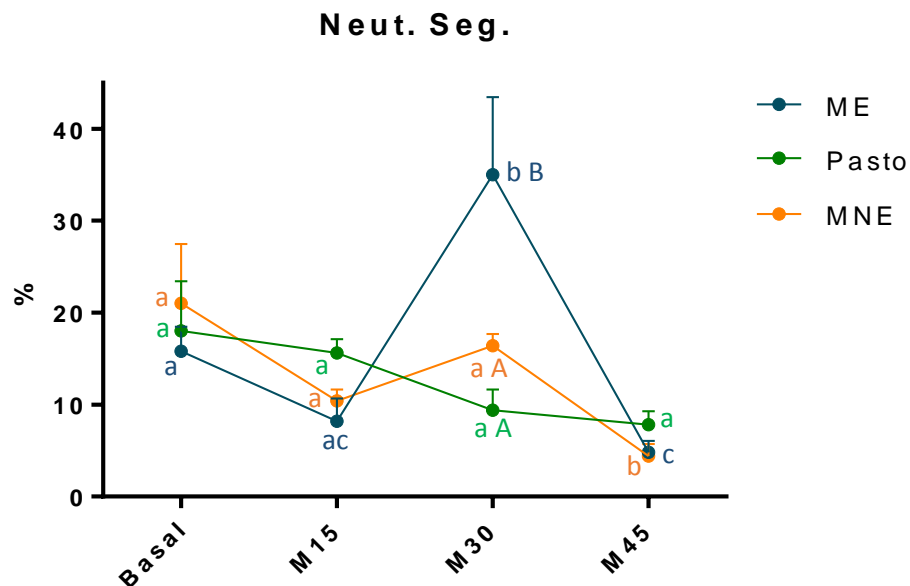


Figura 11. Percentuais de neutrófilos segmentados no lavado broncoalveolar de equinos, subdivididos em três grupos, sendo eles, animais alocados a pasto (5) (Pasto), animais alocados em baia revestida com maravalha esterilizada (5) (ME) e maravalha não esterilizada (5) (MNE) em quatro diferentes momentos de avaliação, Basal, M15, M30 e M45. Letras iguais não diferem entre-si na mesma linha ($p > 0,05$). Jaboticabal, 2017.

Os valores referentes ao percentual de linfócitos estão demonstrados na Tabela 3 e Figura 12. Houve diminuição nos valores referentes ao grupo ME no momento M30, que posteriormente retornou aos valores basais em M45. Já no grupo MNE, os valores apresentaram padrão decrescente do momento basal até M30 ($p > 0,05$), apresentando aumento significativo em M45. O grupo Pasto apresentou médias menores em M15 e M30, com diferença significativa em relação aos momentos Basal e M45.

Tabela 3. Médias \pm desvio padrão da média (DPM) da contagem de linfócitos (LF) (%) no lavado broncoalveolar de 15 equinos, subdivididos em três grupos, sendo eles, animais alocados a pasto (5) (Pasto), animais alocados em baia revestida com maravalha esterilizada (5) (ME) e maravalha não esterilizada (5) (MNE) em quatro diferentes momentos de avaliação, Basal, M15, M30 e M45. Jaboticabal, 2017.

	Pasto	ME	MNE
Basal	72,40 \pm 9,86 A a	71,80 \pm 14,44 A a	71,80 \pm 13,81 A ab
M15	51,20 \pm 13,57 A b	66,60 \pm 15,53 A a	66,60 \pm 6,99 A ab
M30	56,50 \pm 4,98 A b	41,60 \pm 6,70 A b	58,20 \pm 7,05 A b
M45	80,20 \pm 1,92 A a	78,40 \pm 5,50 A a	80,80 \pm 4,87 A a

Letras maiúsculas iguais não diferem entre si na linha e letras minúsculas iguais não diferem entre si na coluna ($p>0,05$).

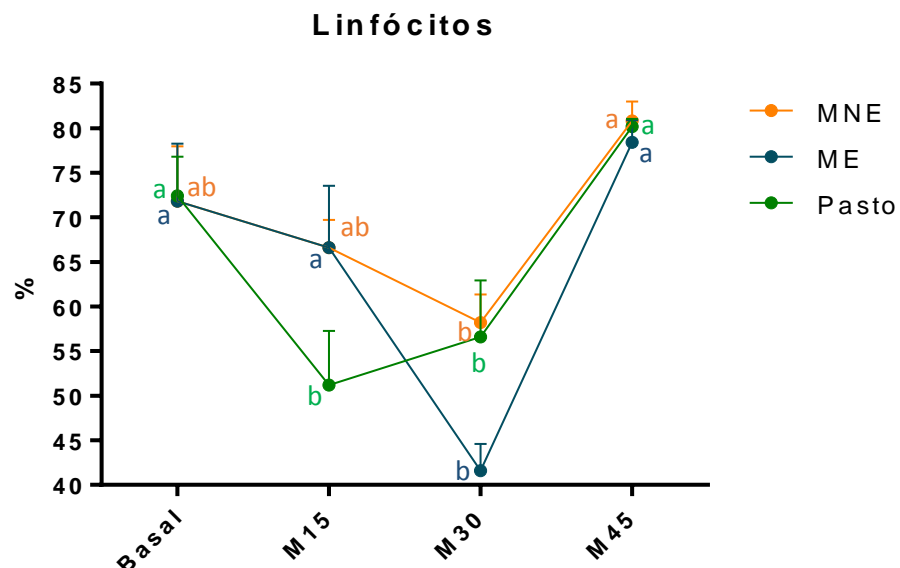


Figura 12. Percentual de linfócitos no lavado broncoalveolar de 15 equinos, subdivididos em três grupos, sendo eles, animais alocados a pasto (5) (Pasto), animais alocados em baia revestida com maravalha esterilizada (5) (ME) e maravalha não esterilizada (5) (MNE) em quatro diferentes momentos de avaliação, Basal, M15, M30 e M45. Letras iguais não diferem entre-si na mesma linha ($p>0,05$). Jaboticabal, 2017.

Os valores referentes ao percentual de macrófagos obtidos na contagem diferencial do LBA estão dispostos na Tabela 4.

O grupo Pasto apresentou aumento significativo em M15 e M30 quando em comparação aos momentos Basal e M45, assim como pode-se observar na Figura 13. Os grupos ME e MNE apresentaram aumento numérico nos momentos M15 e M30, com posterior queda a valores próximos aos basais em M45, porém sem que houvesse diferença significativa.

Tabela 4. Médias \pm desvio padrão da média (DPM) da contagem de macrófagos (MC) (%) no lavado broncoalveolar de 15 equinos, subdivididos em três grupos, sendo eles, animais alocados a pasto (5) (Pasto), animais alocados em baia revestida com maravalha esterilizada (5) (ME) e maravalha não esterilizada (5) (MNE) em quatro diferentes momentos de avaliação, Basal, M15, M30 e M45. Jaboticabal, 2017.

	Pasto	ME	MNE
Basal	6,80 \pm 2,77 A a	10,60 \pm 6,46 A a	6,60 \pm 3,13 A a
M15	27,60 \pm 12,74 A b	23,60 \pm 15,42 A a	21,40 \pm 5,68 A a
M30	33,20 \pm 14,12 A b	23,00 \pm 12,51 A a	24,80 \pm 9,42 A a
M45	11,60 \pm 1,03 A a	14,80 \pm 9,20 A a	14,60 \pm 6,70 A a

Letras maiúsculas iguais não diferem entre si na linha e letras minúsculas iguais não diferem entre si na coluna ($p>0,05$).

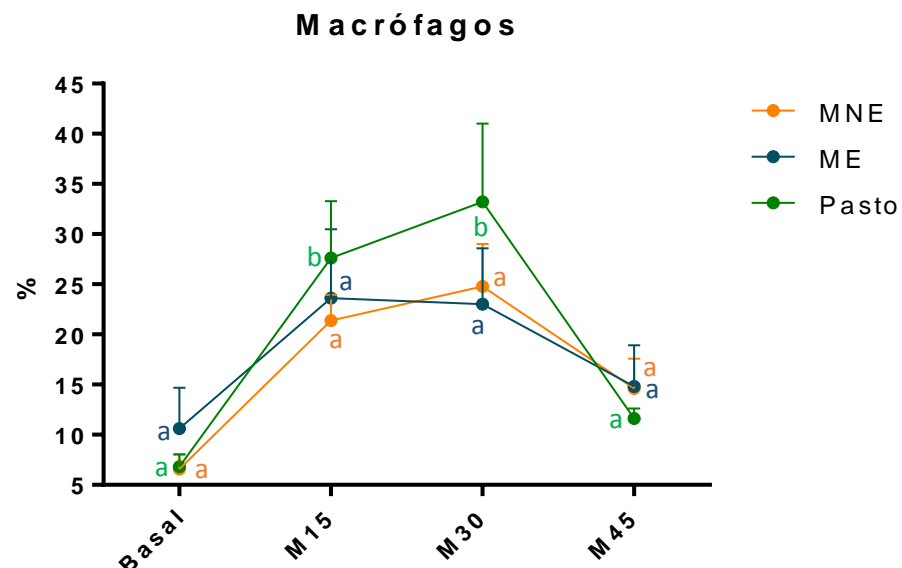


Figura 13. Percentual de macrófagos no lavado broncoalveolar de equinos, subdivididos em três grupos, sendo eles, animais alocados a pasto (5) (Pasto), animais alocados em baia revestida com maravalha esterilizada (5) (ME) e maravalha não esterilizada (5) (MNE) em quatro diferentes momentos de avaliação, Basal, M15, M30 e M45. Letras iguais não diferem entre-si na mesma linha ($p>0,05$). Jaboticabal, 2017.

Como pode-se observar na Tabela 5, as médias percentuais de eosinófilos obtidas na contagem diferencial do LBA não demonstraram diferenças significativas entre os grupos nos diferentes momentos. Entretanto, podemos ressaltar um padrão decrescente dos valores após M15 nos três grupos.

Tabela 5. Médias \pm desvio padrão da média (DPM) da contagem de eosinófilos (Eo) (%) no lavado broncoalveolar de 15 equinos, subdivididos em três grupos, sendo eles, animais alocados a pasto (5) (Pasto), animais alocados em baia revestida com maravalha esterilizada (5) (ME) e maravalha não esterilizada (5) (MNE) em quatro diferentes momentos de avaliação, Basal, M15, M30 e M45. Jaboticabal, 2017.

	Pasto	ME	MNE
Basal	2,80 \pm 5,15	1,80 \pm 3,03	0,60 \pm 1,34
M15	5,60 \pm 11,97	1,60 \pm 1,14	1,60 \pm 1,3
M30	0,80 \pm 1,30	0,40 \pm 0,00	0,60 \pm 0,54
M45	0,40 \pm 0,25	0,00 \pm 0,00	0,00 \pm 0,00

5.2.2 Estresse oxidativo

Os valores de malondialdeído não apresentaram diferenças significativas entre os momentos e grupos avaliados (Tabela 6). Todavia, pode-se observar sutil diminuição dos valores de MDA nos três grupos (ME, MNE e Pasto) em M30, com posterior elevação em M45 (Figura 14).

Tabela 6. Médias \pm desvio padrão da média (DPM) de malondialdeído (MDA) (μ M) no lavado broncoalveolar de 15 equinos, subdivididos em três grupos, sendo eles, animais alocados a pasto (Pasto) (5), animais alocados em baia revestida com maravalha esterilizada (5) (ME) e maravalha não esterilizada (5) (MNE), em quatro diferentes momentos de avaliação, Basal, M15, M30 e M45. Jaboticabal, 2017.

	Pasto	ME	MNE
Basal	0,23 \pm 0,10	0,26 \pm 0,17	0,27 \pm 0,10
M15	0,26 \pm 0,09	0,29 \pm 0,09	0,20 \pm 0,05
M30	0,16 \pm 0,02	0,14 \pm 0,06	0,16 \pm 0,02
M45	0,25 \pm 0,13	0,25 \pm 0,10	0,41 \pm 0,12

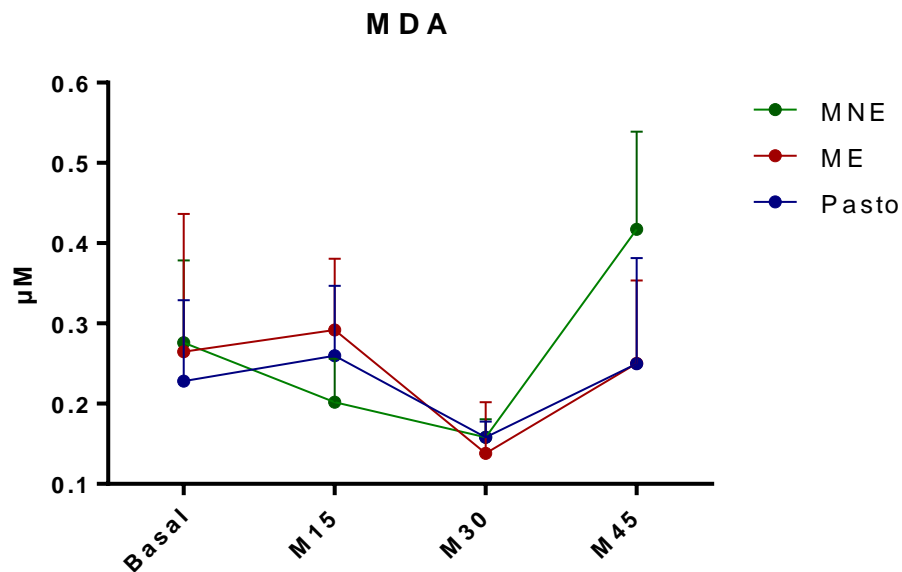


Figura 14. Comparativo dos valores do malondialdeído (MDA) no lavado broncoalveolar de 15 equinos, subdivididos em três grupos, sendo eles, animais alocados a pasto (Pasto) (5), animais alocados em baia revestida com maravalha esterilizada (5) (ME) e maravalha não esterilizada (5) (MNE) em quatro diferentes momentos de avaliação, Basal, M15, M30 e M45. Jaboticabal, 2017.

Os valores referentes às concentrações de proteínas totais do LBA não apresentaram diferenças significativas entre os grupos e momentos avaliados (Tabela 7).

Tabela 7. Médias \pm desvio padrão da média (DPM) das proteínas totais (PT) (g/dL) no lavado broncoalveolar de 15 equinos, subdivididos em três grupos, sendo eles, animais alocados a pasto (5) (Pasto), animais alocados em baia revestida com maravalha esterilizada (5) (ME) e maravalha não esterilizada (5) (MNE) em quatro diferentes momentos de avaliação, Basal, M15, M30 e M45. Jaboticabal, 2017.

	Pasto	ME	MNE
Basal	0,12 \pm 0,02	0,13 \pm 0,03	0,16 \pm 0,10
M15	0,29 \pm 0,05	0,12 \pm 0,02	0,23 \pm 0,02
M30	0,18 \pm 0,05	0,14 \pm 0,02	0,15 \pm 0,02
M45	0,22 \pm 0,06	0,16 \pm 0,04	0,22 \pm 0,04

A Tabela 8 demonstra os valores referentes ao ácido úrico (ACU) no LBA dos equinos avaliados neste estudo, de acordo com os grupos (ME, MNE e Pasto) e momentos (Basal, M15, M30 e M45). Estes valores não apresentaram diferença significativa entre os grupos e momentos avaliados.

Tabela 8. Médias \pm desvio padrão da média (DPM) do ácido úrico (ACU) (μM) no lavado broncoalveolar de 15 equinos, subdivididos em três grupos, sendo eles, animais alocados a pasto (5) (Pasto), animais alocados em baia revestida com maravalha esterilizada (5) (ME) e maravalha não esterilizada (5) (MNE) em quatro diferentes momentos de avaliação, Basal, M15, M30 e M45. Jaboticabal, 2017.

	Pasto	ME	MNE
Basal	0,21 \pm 0,10	0,22 \pm 0,14	0,28 \pm 0,08
M15	0,12 \pm 0,02	0,28 \pm 0,07	0,22 \pm 0,06
M30	0,19 \pm 0,06	0,15 \pm 0,04	0,17 \pm 0,04
M45	0,10 \pm 0,02	0,20 \pm 0,05	0,12 \pm 0,03

Os valores de vitamina C (Vit. C) estão dispostos na Tabela 9. Com relação ao grupo Pasto, houve queda ($p \leq 0,05$) na concentração de vitamina C, 30 dias após os animais terem sido acondicionados no piquete. A concentração voltou aos níveis basais ao término do período de avaliação (M45). Já nos demais grupos não foram observadas variações na concentração de vitamina C no LBA (Figura 15).

Tabela 9. Médias \pm desvio padrão da média (DPM) de vitamina C (Vit. C) (μM) no lavado broncoalveolar de 15 equinos, subdivididos em três grupos, sendo eles, animais alocados a pasto (5) (Pasto), animais alocados em baia revestida com maravalha esterilizada (5) (ME) e maravalha não esterilizada (5) (MNE) em quatro diferentes momentos de avaliação, Basal, M15, M30 e M45. Jaboticabal, 2017.

	Pasto	ME	MNE
Basal	2,41 \pm 0,49 A a	1,70 \pm 0,23 A a	1,62 \pm 0,22 A a
M15	1,83 \pm 0,50 A ab	1,40 \pm 0,19 A a	1,70 \pm 0,15 A a
M30	0,88 \pm 0,15 A b	1,29 \pm 0,22 A a	0,65 \pm 0,06 A a
M45	1,40 \pm 0,13 A ab	1,44 \pm 0,22 A a	1,59 \pm 0,32 A a

Letras maiúsculas iguais não diferem entre si na linha e letras minúsculas iguais não diferem entre si na coluna ($p > 0,05$).

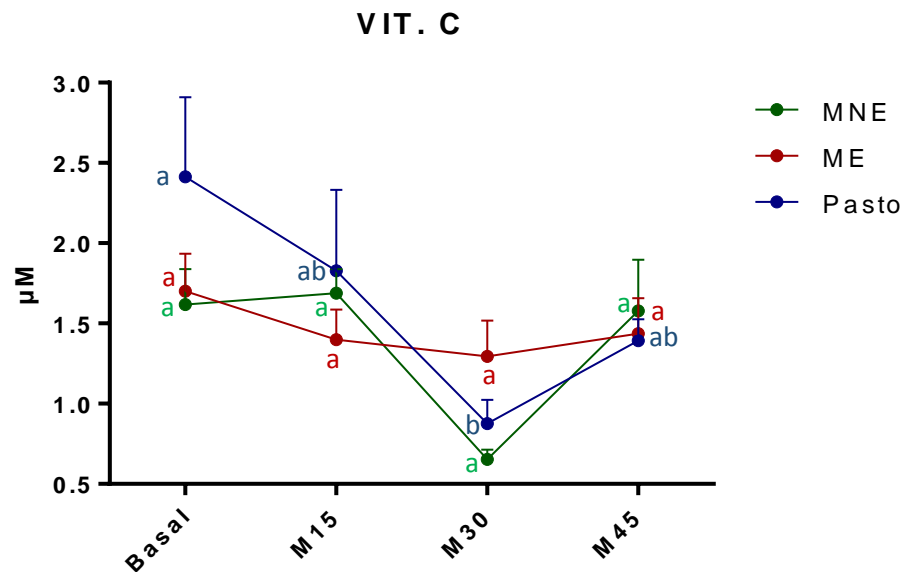


Figura 15. Comparativo dos valores de vitamina C (Vit. C) no lavado broncoalveolar de 15 equinos, subdivididos em três grupos, sendo eles, animais alocados a pasto (5) (Pasto), animais alocados em baia revestida com maravalha esterilizada (5) (ME) e maravalha não esterilizada (5) (MNE) em quatro diferentes momentos de avaliação, Basal, M15, M30 e M45. Letras iguais não diferem entre-si na mesma linha ($p > 0,05$). Jaboticabal, 2017.

Os valores obtidos nas análises da glutathiona reduzida (GSH) estão dispostos na Tabela 10. O grupo Pasto apresentou diminuição significativa nos valores de GSH entre M15 e M30, assim como ilustrado na Figura 16. O grupo ME também apresentou queda significativa em M30 em relação aos momentos Basal e M15. O grupo MNE, assim como os demais grupos avaliados apresentou queda significativa nos valores de GSH em M30, com posterior retorno aos valores basais em M45.

Nas comparações entre grupos, houve diferença significativa entre os grupos Pasto e MNE no momento M30. Nas demais comparações, não houve diferenças significativas.

Tabela 10. Médias \pm desvio padrão da média (DPM) de glutathiona reduzida (GSH) (μM) no lavado broncoalveolar de 15 equinos, subdivididos em três grupos, sendo eles, animais alocados a pasto (5) (Pasto), animais alocados em baia revestida com maravalha esterilizada (5) (ME) e maravalha não esterilizada (5) (MNE) em quatro diferentes momentos de avaliação, Basal, M15, M30 e M45. Jaboticabal, 2017.

	Pasto	ME	MNE
Basal	0,30 \pm 0,01 A ab	0,30 \pm 0,01 A a	0,31 \pm 0,01 A a
M15	0,37 \pm 0,01 A a	0,30 \pm 0,01 A a	0,30 \pm 0,02 A a
M30	0,24 \pm 0,02 A b	0,16 \pm 0,05 AB b	0,08 \pm 0,01 B b
M45	0,26 \pm 0,03 A ab	0,23 \pm 0,01 A ab	0,25 \pm 0,04 A a

Letras maiúsculas iguais não diferem entre si na linha e letras minúsculas iguais não diferem entre si na coluna ($p>0,05$).

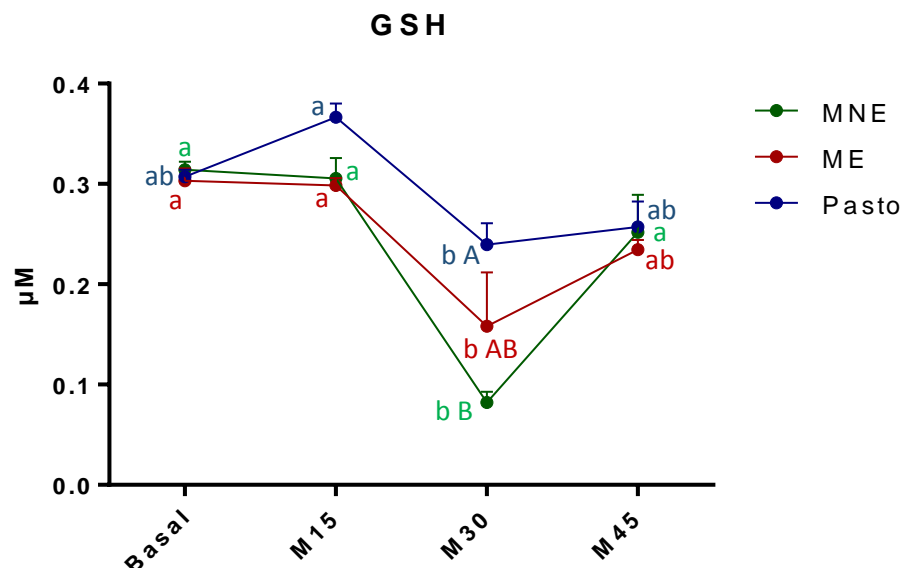


Figura 16. Comparativo dos valores de glutathiona reduzida (GSH) (μM) no lavado broncoalveolar de 15 equinos, subdivididos em três grupos, sendo eles, animais alocados a pasto (5) (Pasto), animais alocados em baia revestida com maravalha esterilizada (5) (ME) e maravalha não esterilizada (5) (MNE) em quatro diferentes momentos de avaliação, Basal, M15, M30 e M45. Letras minúsculas iguais não diferem entre-si na mesma linha e letras maiúsculas iguais não diferem entre-si no mesmo momento experimental ($p>0,05$) Jaboticabal, 2017.

Os valores obtidos referentes a glutathiona oxidada estão disposto na Tabela 11. No grupo Pasto, observou-se queda dos valores em M30 em relação ao momento M15 ($p\leq 0,05$), o qual manteve-se abaixo do valor basal ao final do período de avaliação (M45) conforme observado na Figura 17. Similarmente no grupo ME, observou-se aumento nos níveis da glutathiona oxidada, apresentando diferença significativa no momento M15 ($p>0,05$). A partir de M15 os valores tornaram-se

decrecentes, ficando abaixo dos valores basais.

Já no grupo MNE os níveis mantiveram-se constantes por 30 dias, reduzindo consideravelmente em relação aos demais momentos, no final do período de avaliação ($p \leq 0,05$). A comparação entre os grupos apresentou diferença significativa entre os grupos somente em M30, onde o grupo Pasto diferiu do grupo ME. As demais comparações entre grupos e momentos não apresentaram diferenças significativas.

Tabela 11. Médias \pm desvio padrão da média (DPM) de glutatona oxidada (GSSG) (μM) no lavado broncoalveolar de 15 equinos, subdivididos em três grupos, sendo eles, animais alocados a pasto (5) (Pasto), animais alocados em baia revestida com maravalha esterilizada (5) (ME) e maravalha não esterilizada (5) (MNE) em quatro diferentes momentos de avaliação, Basal, M15, M30 e M45. Jaboticabal, 2017.

	Pasto	ME	MNE
Basal	2,34 \pm 0,11 A ac	2,54 \pm 0,18 A ab	2,62 \pm 0,14 A a
M15	2,83 \pm 0,15 A a	2,67 \pm 0,18 A a	2,55 \pm 0,11 A a
M30	1,35 \pm 0,10 A cd	2,37 \pm 0,03 B ab	2,32 \pm 0,09 AB a
M45	1,05 \pm 0,46 A bd	1,57 \pm 0,13 A b	1,17 \pm 0,07 A b

Letras maiúsculas iguais não diferem entre si na linha e letras minúsculas iguais não diferem entre si na coluna ($p > 0,05$).

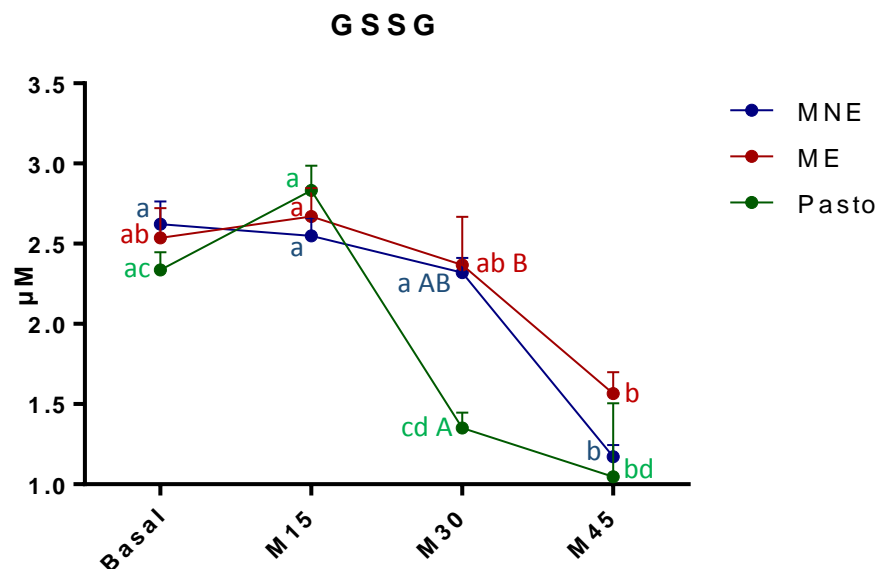


Figura 17. Comparativo dos valores de glutatona oxidada (GSSG) no lavado broncoalveolar de 15 equinos, subdivididos em três grupos, sendo eles, animais alocados a pasto (5) (Pasto), animais alocados em baia revestida com maravalha esterilizada (5) (ME) e maravalha não esterilizada (5) (MNE) em quatro diferentes momentos de avaliação, Basal, M15, M30 e M45. Letras minúsculas iguais não diferem entre-si na mesma linha e letras maiúsculas iguais não diferem entre-si no mesmo momento experimental ($p > 0,05$) Jaboticabal, 2017.

Os valores referentes a glutathiona peroxidase (GPX) estão dispostos na Tabela 12. Após os animais terem sido alocados em baias com cama de maravalha esterilizada (ME), observou-se discreta redução dos valores de GPX no 15º dia de estabulação ($p>0,05$) e retorno aos seus valores basais aos 30 dias de avaliação. Entretanto, quando os animais foram avaliados 45 dias após o início da estabulação, observou-se redução expressiva ($p\leq 0,05$) da GPX no LBA destes animais, conforme ilustrado na Figura 18. As comparações entre os momentos nos grupos Pasto e MNE não apresentaram diferenças significativas. Todavia o grupo MNE também apresentou elevação nos valores em M30 com posterior queda em M45, e o grupo Pasto apresentou queda nos valores em M30, porém sem que houvesse diferenças estatísticas.

Tabela 12. Médias \pm desvio padrão da média (DPM) de glutathiona peroxidase (GPX) (U/g/proteína) no lavado broncoalveolar de 15 equinos, subdivididos em três grupos, sendo eles, animais alocados a pasto (5) (Pasto), animais alocados em baia revestida com maravalha esterilizada (5) (ME) e maravalha não esterilizada (5) (MNE) em quatro diferentes momentos de avaliação, Basal, M15, M30 e M45. Jaboticabal, 2017.

	Pasto	ME	MNE
Basal	43,89 \pm 9,18 A a	48,13 \pm 6,47 A a	32,28 \pm 5,91 A a
M15	49,23 \pm 9,54 A a	40,50 \pm 7,63 A ab	32,14 \pm 1,98 A a
M30	22,19 \pm 7,74 A a	49,24 \pm 5,29 A a	52,07 \pm 5,66 A a
M45	18,27 \pm 3,10 A a	15,46 \pm 4,43 A b	23,30 \pm 10,97 A a

Letras maiúsculas iguais não diferem entre si na linha e letras minúsculas iguais não diferem entre si na coluna ($p>0,05$).

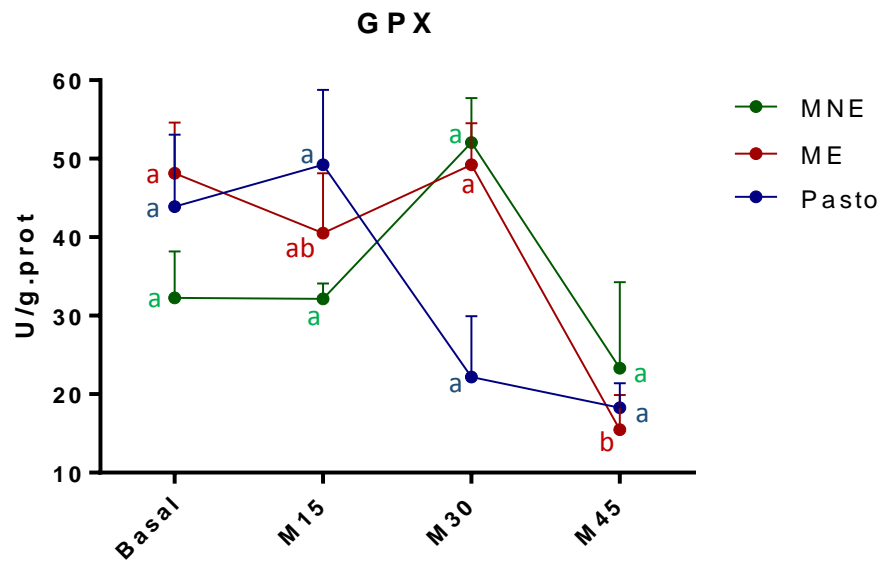


Figura 18. Comparativo dos valores de glutatona peroxidase (GPX) no lavado broncoalveolar de 15 equinos, subdivididos em três grupos, sendo eles, animais alocados a pasto (5) (Pasto), animais alocados em baia revestida com maravalha esterilizada (5) (ME) e maravalha não esterilizada (5) (MNE) em quatro diferentes momentos de avaliação, Basal, M15, M30 e M45. Letras minúsculas iguais não diferem entre-si na mesma linha ($p>0,05$). Jaboticabal, 2017.

A Tabela 13 traz os valores da superóxido dismutase. Dentre as comparações entre momentos, no grupo MNE, houve aumento expressivo dos seus níveis, 30 dias após os animais terem sido alocados em baias com cama de maravalha não esterilizada (MNE) ($p\leq 0,05$). Os valores da superóxido dismutase retornaram aos valores basais ao término do período de avaliação. Para os outros grupos não houve variação (Figura 19). Houve diferença significativa nas comparações entre os grupos Pasto e ME em relação ao grupo MNE no momento M30, nas demais comparações entre grupos e momentos não houve diferenças significativas.

Tabela 13. Médias \pm desvio padrão da média (DPM) de superóxido dismutase (SOD) (μM) no lavado broncoalveolar de 15 equinos, subdivididos em três grupos, sendo eles, animais alocados a pasto (5) (Pasto), animais alocados em baia revestida com maravalha esterilizada (5) (ME) e maravalha não esterilizada (5) (MNE) em quatro diferentes momentos de avaliação, Basal, M15, M30 e M45. Jaboticabal, 2017.

	Pasto	ME	MNE
Basal	0,07 \pm 0,03 A a	0,02 \pm 0,01 A a	0,06 \pm 0,06 A a
M15	0,19 \pm 0,07 A a	0,13 \pm 0,06 A a	0,11 \pm 0,04 A a
M30	0,08 \pm 0,05 A a	0,03 \pm 0,02 A a	0,73 \pm 0,30 B b
M45	0,01 \pm 0,01 A a	0,05 \pm 0,03 A a	0,03 \pm 0,03 A a

Letras maiúsculas iguais não diferem entre si na linha e letras minúsculas iguais não diferem entre si na coluna ($p>0,05$).

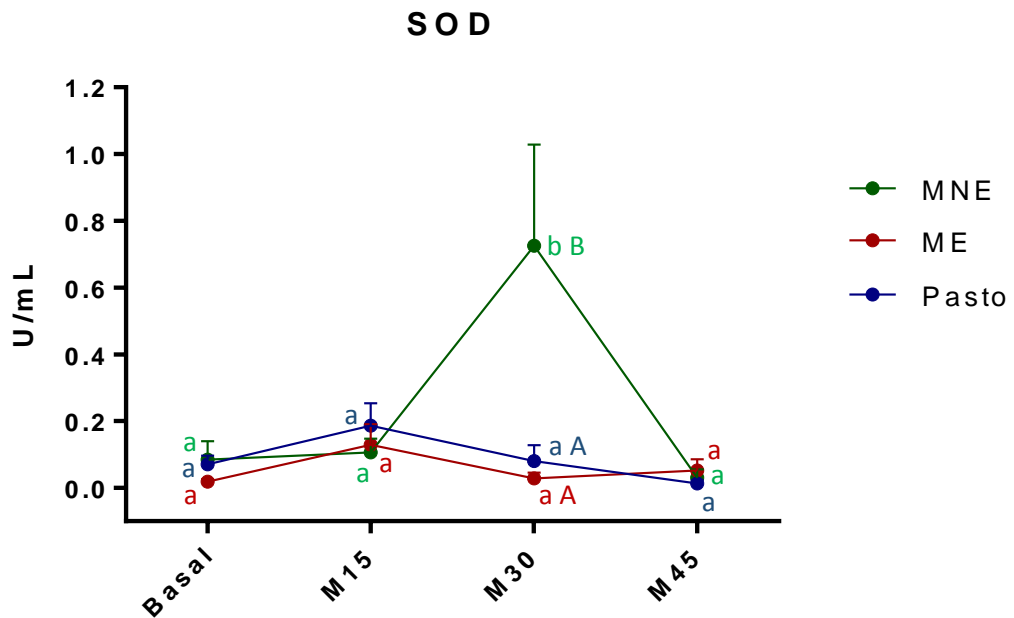


Figura 19. Comparativo dos valores de superóxido dismutase (SOD) (μM) no lavado broncoalveolar de 15 equinos, subdivididos em três grupos, sendo eles, animais alocados a pasto (5) (Pasto), animais alocados em baia revestida com maravalha esterilizada (5) (ME) e maravalha não esterilizada (5) (MNE) em quatro diferentes momentos de avaliação, Basal, M15, M30 e M45. Letras minúsculas iguais não diferem entre-si na mesma linha e letras maiúsculas iguais não diferem entre-si no mesmo momento experimental ($p>0,05$) Jaboticabal, 2017.

5.3 Hemograma

Os valores referentes a contagem de leucócitos totais, linfócitos, monócitos, neutrófilos, eosinófilos, hemácias, teor de hemoglobina, hematócrito, contagem de plaquetas e concentração de fibrinogênio estão dispostos nas Tabelas 14, 15 e 16, para os diferentes grupos ME, MNE e Pasto, respectivamente.

Tabela 14. Médias \pm desvio padrão da média (DPM) dos parâmetros hematimétricos de cinco equinos alocados em baia revestida com maravalha esterilizada (ME) em quatro diferentes momentos de avaliação, Basal, M15, M30 e M45. Jaboticabal, 2017.

	Basal	M15	M30	M45
Le	8,18 \pm 1,54 a	8,12 \pm 1,18 a	7,12 \pm 0,66 a	7,02 \pm 1,23 a
Lf	1,86 \pm 0,18 a	2,48 \pm 0,41 b	2,86 \pm 0,42 b	2,32 \pm 0,29 ab
Mo	0,24 \pm 0,05 a	0,24 \pm 0,05 a	0,26 \pm 0,05 a	0,20 \pm 0,07 a
Ne	6,08 \pm 1,56 a	5,40 \pm 1,31 a	4,0 \pm 0,94 a	4,50 \pm 1,20 a
Eo	0,50 \pm 0,24 a	0,35 \pm 0,71 a	0,20 \pm 0,03 a	0,33 \pm 0,07 a
He	8,69 \pm 1,53 a	7,59 \pm 1,34 ab	7,61 \pm 0,51 ab	6,89 \pm 0,71 b
Hb	13,50 \pm 2,40 a	11,98 \pm 2,11 ab	12,28 \pm 0,94 ab	11,16 \pm 0,90 b
Ht	39,10 \pm 7,70 a	34,14 \pm 6,46 ab	34,30 \pm 2,67 ab	30,62 \pm 2,78 b
PI	270,0 \pm 61,70 a	259,40 \pm 22,50 a	296,60 \pm 45,72 a	241,60 \pm 40,56 a
Fb	0,40 \pm 0,24 a	0,42 \pm 0,23 a	0,40 \pm 0,14 a	0,76 \pm 0,30 a

Leucócitos totais (Le) ($\times 10^3/\mu\text{L}$), linfócitos (Lf) ($\times 10^3/\mu\text{L}$), monócitos (Mo) ($\times 10^3/\mu\text{L}$), neutrófilos (Ne) ($\times 10^3/\text{mL}$), eosinófilos (Eo) ($\times 10^3/\mu\text{L}$), hemácias (He) ($\times 10^6/\mu\text{L}$), hemoglobina (Hb) (g/dL), hematócrito (Ht) (%), plaquetas (PI) ($\times 10^3/\mu\text{L}$), fibrinogênio (Fb) (g/dL). Letras iguais não diferem entre si na linha ($p>0,05$).

Tabela 15. Médias \pm desvio padrão da média (DPM) dos parâmetros hematimétricos de cinco equinos alocados em baia revestida com maravalha não esterilizada (MNE) em quatro diferentes momentos de avaliação, Basal, M15, M30 e M45. Jaboticabal, 2017.

	Basal	M15	M30	M45
Le	7,72 \pm 0,81 a	8,40 \pm 1,14 a	6,64 \pm 0,60 a	6,66 \pm 0,71 a
Lf	1,96 \pm 0,32 a	2,60 \pm 0,46 b	2,40 \pm 0,64 ab	2,22 \pm 0,51 ab
Mo	0,28 \pm 0,04 a	0,24 \pm 0,05 a	26,00 \pm 0,09 a	0,20 \pm 0,00 a
Ne	5,48 \pm 0,53 a	5,56 \pm 0,96 a	3,98 \pm 0,39 a	4,24 \pm 0,23 a
Eo	0,47 \pm 0,11 a	0,34 \pm 0,12 ab	0,21 \pm 0,06 b	0,20 \pm 0,04 b
He	7,82 \pm 0,72 a	7,54 \pm 0,74 a	7,35 \pm 0,56 a	8,12 \pm 1,15 a
Hb	12,02 \pm 0,76 a	11,86 \pm 0,88 a	11,60 \pm 0,59 a	12,94 \pm 1,71 a
Ht	34,40 \pm 2,34 a	33,26 \pm 2,85 a	32,18 \pm 1,99 a	35,32 \pm 4,74 a
PI	262,40 \pm 41,33 a	276,60 \pm 32,45 a	258,20 \pm 19,64 a	240,20 \pm 64,10 a
Fb	0,46 \pm 0,37 a	0,22 \pm 0,04 a	0,42 \pm 0,28 a	1,26 \pm 0,88 a

Leucócitos totais (Le) ($\times 10^3/\mu\text{L}$), linfócitos (Lf) ($\times 10^3/\mu\text{L}$), monócitos (Mo) ($\times 10^3/\mu\text{L}$), neutrófilos (Ne) ($\times 10^3/\text{mL}$), eosinófilos (Eo) ($\times 10^3/\mu\text{L}$), hemácias (He) ($\times 10^9/\mu\text{L}$), hemoglobina (Hb) (g/dL), hematócrito (Ht) (%), plaquetas (PI) ($\times 10^3/\mu\text{L}$), fibrinogênio (Fb) (g/dL). Letras iguais não diferem entre si na linha ($p>0,05$).

Tabela 16. Médias \pm desvio padrão da média (DPM) dos parâmetros hematimétricos de cinco equinos alocados a pasto em quatro diferentes momentos de avaliação, Basal, M15, M30 e M45. Jaboticabal, 2017.

	Basal	M15	M30	M45
Le	9,90 \pm 1,04 a	7,98 \pm 1,57 a	8,00 \pm 1,29 a	8,14 \pm 2,10 a
Lf	2,04 \pm 0,70 a	2,56 \pm 0,69 ab	2,76 \pm 0,70 b	2,58 \pm 0,69 ab
Mo	0,32 \pm 0,08 a	0,26 \pm 0,09 a	0,28 \pm 0,08 a	0,24 \pm 0,09 a
Ne	7,54 \pm 1,31 a	5,16 \pm 0,86 b	4,96 \pm 1,09 b	5,32 \pm 1,41 b
Eo	0,46 \pm 0,24 a	0,37 \pm 0,11 a	0,28 \pm 0,70 a	0,43 \pm 0,18 a
He	6,72 \pm 1,37 a	6,42 \pm 0,60 a	6,91 \pm 0,54 a	6,73 \pm 0,58 a
Hb	10,64 \pm 1,92 a	10,20 \pm 1,23 a	11,00 \pm 0,36 a	10,90 \pm 0,77 a
Ht	30,20 \pm 5,99 a	28,76 \pm 3,51 a	30,60 \pm 0,95 a	29,62 \pm 2,12 a
PI	342,80 \pm 44,97 a	295,40 \pm 62,89 a	302,60 \pm 46,82 a	254,40 \pm 26,58 a
Fb	0,66 \pm 0,75 a	0,32 \pm 0,16 a	0,60 \pm 0,56 a	1,46 \pm 1,27 a

Leucócitos totais (Le) ($\times 10^3/\mu\text{L}$), linfócitos (Lf) ($\times 10^3/\mu\text{L}$), monócitos (Mo) ($\times 10^3/\mu\text{L}$), neutrófilos (Ne) ($\times 10^3/\text{mL}$), eosinófilos (Eo) ($\times 10^3/\mu\text{L}$), hemácias (He) ($\times 10^9/\mu\text{L}$), hemoglobina (Hb) (g/dL), hematócrito (Ht) (%), plaquetas (PI) ($\times 10^3/\mu\text{L}$), fibrinogênio (Fb) (g/dL). Letras iguais não diferem entre si na linha ($p>0,05$).

No grupo ME, as contagens de linfócitos foram significativamente menores no momento Basal quando comparadas com M15 e M30 mantendo-se acima dos valores basais, ao término do período de avaliação.

Já no grupo MNE, os valores dos linfócitos apresentaram aumento significativo em M15 em relação ao Basal, posteriormente apresentando valores decrescentes em M30 e M45.

O grupo Pasto apresentou valores significativamente maiores em relação à contagem de linfócitos em M30, quando em comparação ao Basal, tendo nos momentos M15 e M45 apresentado valores numericamente maiores, porém sem que houvesse diferença significativa, assim como ilustrado na Figura 20.

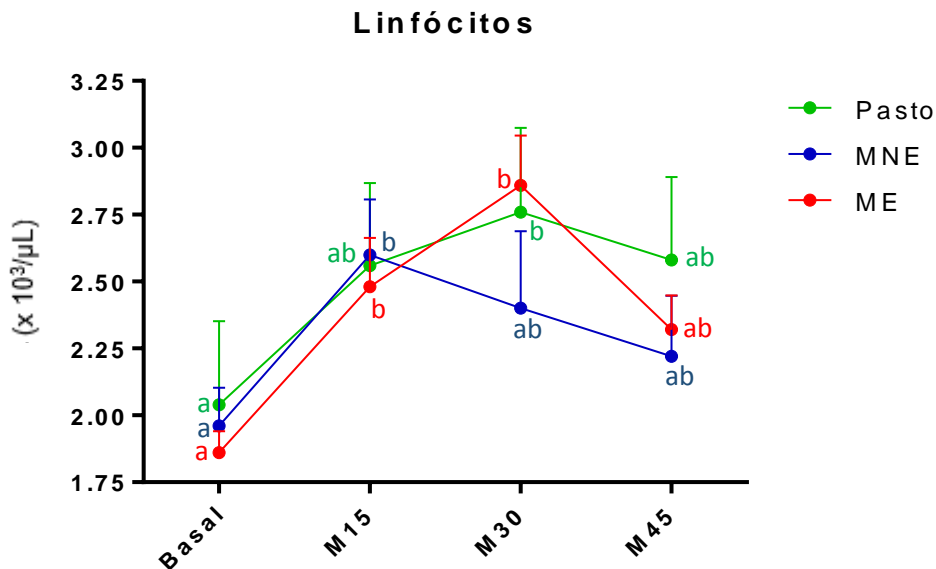


Figura 20. Comparativo das médias \pm desvio padrão da média (DPM) de linfócitos mensurados no sangue venoso de 15 equinos, subdivididos em três grupos, sendo eles, animais alocados a pasto (5) (Pasto), animais alocados em baia revestida com maravalha esterilizada (5) (ME) e maravalha não esterilizada (5) (MNE) em quatro diferentes momentos de avaliação, Basal, M15, M30 e M45. Letras iguais não diferem entre-si na mesma linha ($p > 0,05$). Jaboticabal, 2017.

Os valores referentes a contagem de neutrófilos nos grupos ME e MNE não apresentaram diferenças significativas entre os momentos avaliados.

Já o grupo dos animais alocados a pasto (Pasto) apresentou queda nos valores de neutrófilos após 15 dias do início do período experimental (M15), mantendo estes valores até M45, como pode-se observar na Figura 21.

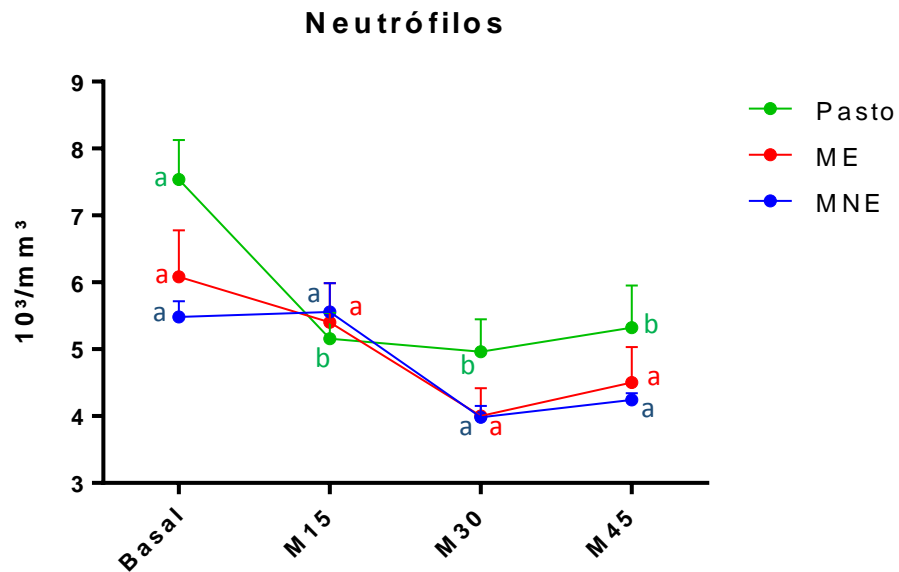


Figura 21. Comparativo das m3dias \pm desvio padr3o da m3dia (DPM) de neutr3filos mensurados no sangue venoso de 15 equinos, subdivididos em tr3s grupos, sendo eles, animais alocados a pasto (5) (Pasto), animais alocados em baia revestida com maravalha esterilizada (5) (ME) e maravalha n3o esterilizada (5) (MNE) em quatro diferentes momentos de avalia33o, Basal, M15, M30 e M45. Letras iguais n3o diferem entre-si na mesma linha ($p > 0,05$). Jaboticabal, 2017.

Os valores da contagem de eosin3filos nos grupos ME e Pasto n3o apresentaram diferen3as significativas, mesmo tendo apresentado valores decrescentes do momento basal at3 M30. J3 no grupo MNE, observa-se valores significativamente maiores no momento basal em compara33o com os valores dos momentos M30 e M45, assim como pode-se observar na Figura 22.

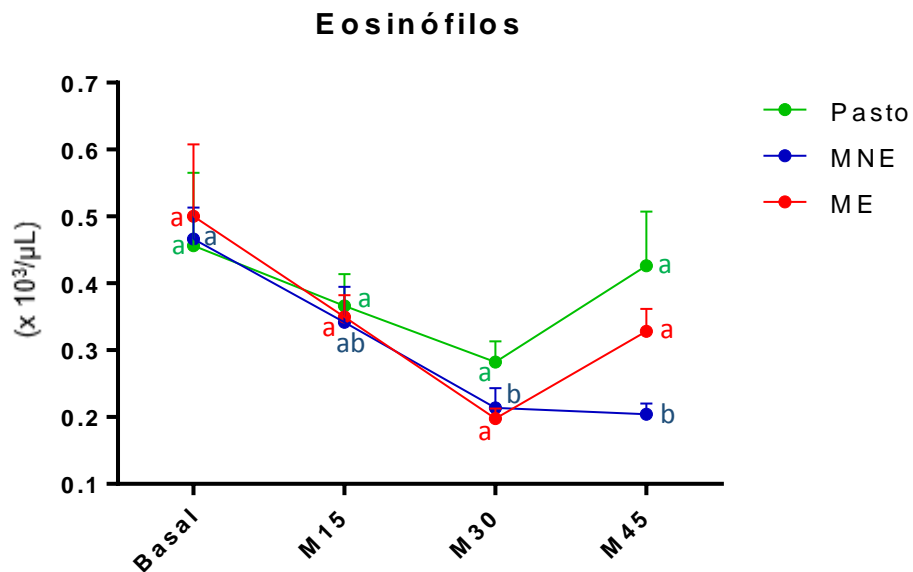


Figura 22. Comparativo das médias \pm desvio padrão da média (DPM) de eosinófilos mensurados no sangue venoso de 15 equinos, subdivididos em três grupos, sendo eles, animais alocados a pasto (5) (Pasto), animais alocados em baia revestida com maravalha esterilizada (5) (ME) e maravalha não esterilizada (5) (MNE) em quatro diferentes momentos de avaliação, Basal, M15, M30 e M45. Letras iguais não diferem entre-si na mesma linha ($p > 0,05$). Jaboticabal, 2017.

Os valores da contagem de hemácias no grupo ME apresentaram diferenças significativas entre os momentos Basal e M45, tendo nos demais momentos apresentado valores decrescentes, porém sem que houvesse diferença significativa. Os grupos MNE e Pasto não apresentaram diferenças significativas entre os momentos, sendo possível observar somente alterações sutis nos valores em cada momento (Figura 23).

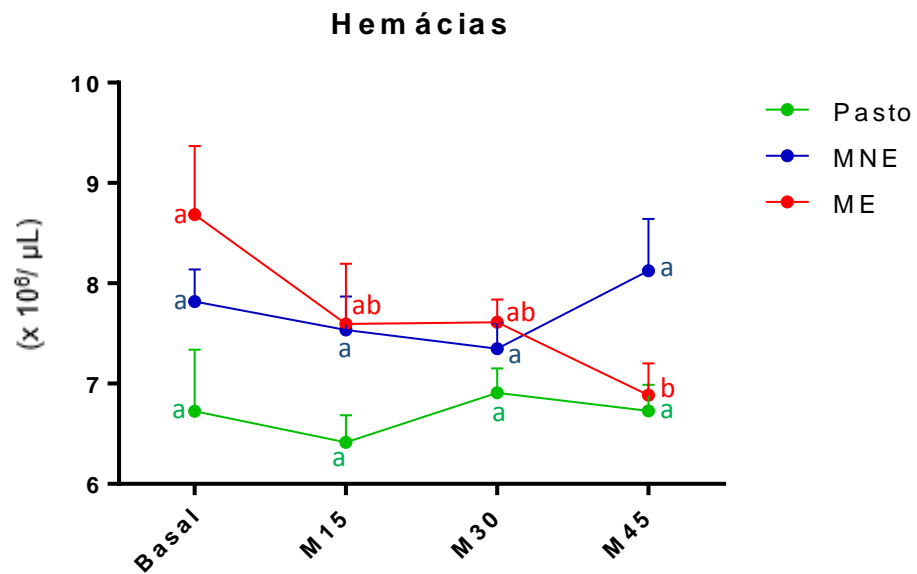


Figura 23. Comparativo das médias \pm desvio padrão da média (DPM) de hemácias mensurados no sangue venoso de 15 equinos, subdivididos em três grupos, sendo eles, animais alocados a pasto (5) (Pasto), animais alocados em baia revestida com maravalha esterilizada (5) (ME) e maravalha não esterilizada (5) (MNE) em quatro diferentes momentos de avaliação, Basal, M15, M30 e M45. Letras iguais não diferem entre-si na mesma linha ($p > 0,05$). Jaboticabal, 2017.

Os valores referentes aos teores de hemoglobina não apresentaram diferença significativa nos grupos MNE e Pasto no momento Basal. No grupo ME os valores apresentaram valores decrescentes, havendo diferença significativa apenas entre os momentos Basal e M45, assim como demonstrado na Figura 24.

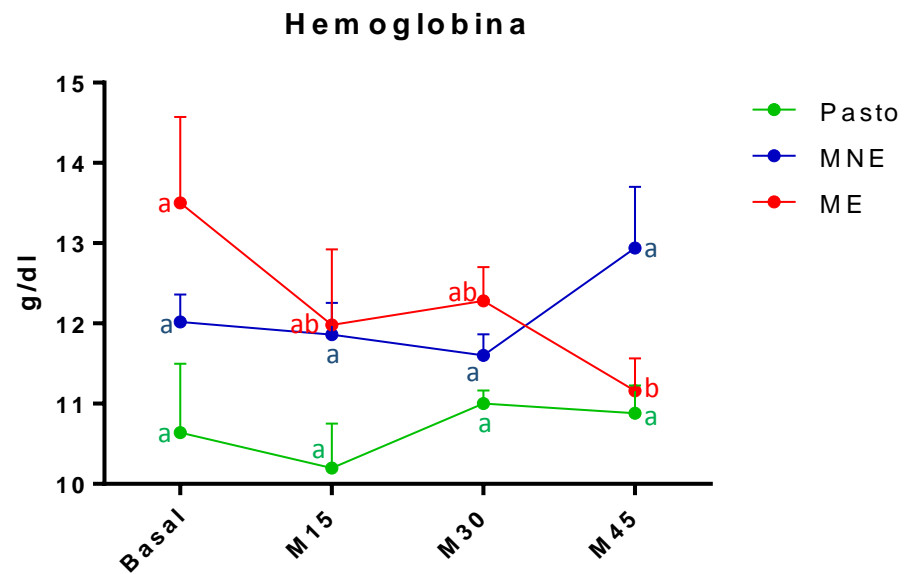


Figura 24. Comparativo das médias \pm desvio padrão da média (DPM) de hemoglobina mensurados no sangue venoso de 15 equinos, subdivididos em três grupos, sendo eles, animais alocados a pasto (5) (Pasto), animais alocados em baia revestida com maravalha esterilizada (5) (ME) e maravalha não esterilizada (5) (MNE) em quatro diferentes momentos de avaliação, Basal, M15, M30 e M45. Letras iguais não diferem entre-si na mesma linha ($p > 0,05$). Jaboticabal, 2017.

Não houve diferenças significativas nos valores de hematócrito nos grupos MNE e Pasto. O primeiro apresenta maiores médias em relação ao segundo. O grupo ME apresentou diferenças significativas entre os momentos Basal e M45, assim como demonstrado na Figura 25.

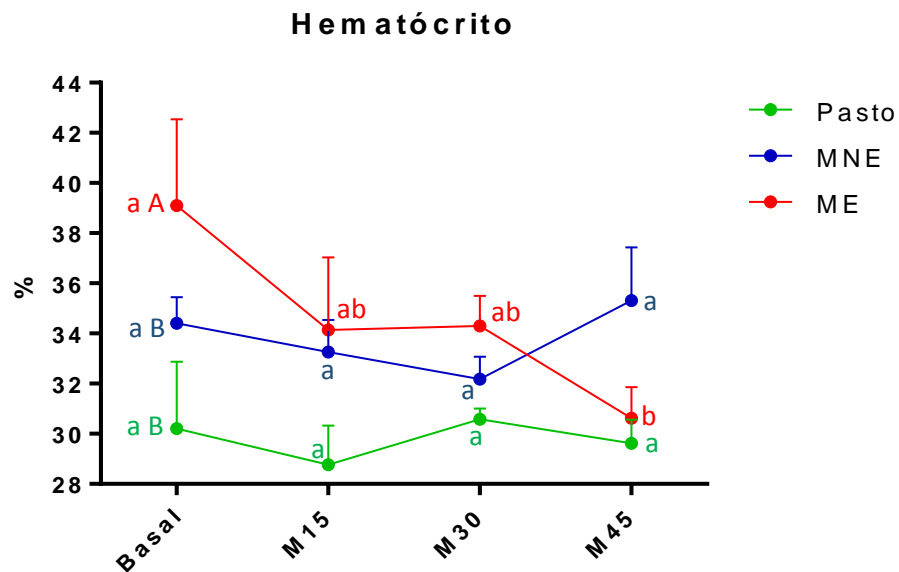


Figura 25. Comparativo das médias \pm desvio padrão da média (DPM) do hematócrito mensurado no sangue venoso de 15 equinos, subdivididos em três grupos, sendo eles, animais alocados a pasto (5) (Pasto), animais alocados em baia revestida com maravalha esterilizada (5) (ME) e maravalha não esterilizada (5) (MNE) em quatro diferentes momentos de avaliação, Basal, M15, M30 e M45. Letras minúsculas iguais não diferem entre-si na mesma linha e letras maiúsculas iguais não diferem entre si no mesmo momento ($p > 0,05$). Jaboticabal, 2017.

5.4 Análises Fúngicas

5.4.1 Cama

As análises fúngicas realizadas nos dois tipos de cama, ME e MNE, nos momentos Limpa e Suja, demonstraram a ocorrência de desenvolvimento (estímulo ao crescimento) ou supressão (inibição do crescimento) dos gêneros fúngicos avaliados.

Os resultados obtidos para ME demonstraram crescimento significativo dos gêneros *Ascochita*, *Monilia* e *Penicillium*, e supressão dos gêneros *Cladosporium* e *Helminthosporium*. Já os outros gêneros avaliados não apresentaram diferenças significativas entre ME suja e limpa, assim como demonstrado na Tabela 17 e Figura 26.

Tabela 17. Médias \pm desvio padrão da média (DPM) da frequência dos diferentes gêneros de fungos presentes na maravalha esterilizada (ME) antes da utilização (Limpa) e após 15 dias de utilização (Suja). Jaboticabal, 2017.

Gênero	Limpa	Suja
<i>Aschochyta</i>	0,0 a	1,6 \pm 1,5 b
<i>Cladosporium</i>	5,6 \pm 4,2 a	0,4 \pm 0,5 b
<i>Curvularia</i>	1,0 \pm 1,7	0,8 \pm 1,3
<i>Epicocum</i>	1,0 \pm 1,0	1,8 \pm 3,5
<i>Fusarium</i>	0,2 \pm 0,4	0,0
<i>Helminthosporium</i>	1,0 \pm 1,0 a	0,0 b
<i>Monilia</i>	0,0 a	7,0 \pm 5,3 b
<i>Nigrospora</i>	0,2 \pm 0,4	0,2 \pm 0,4
<i>Penicillium</i>	0,0 a	0,8 \pm 0,8 b
<i>Rhizopus</i>	0,2 \pm 0,4	0,2 \pm 0,4
<i>Rhizoctonia</i>	0,4 \pm 0,9	0,4 \pm 0,9

Letras iguais não diferem entre si na linha ($p > 0,05$)

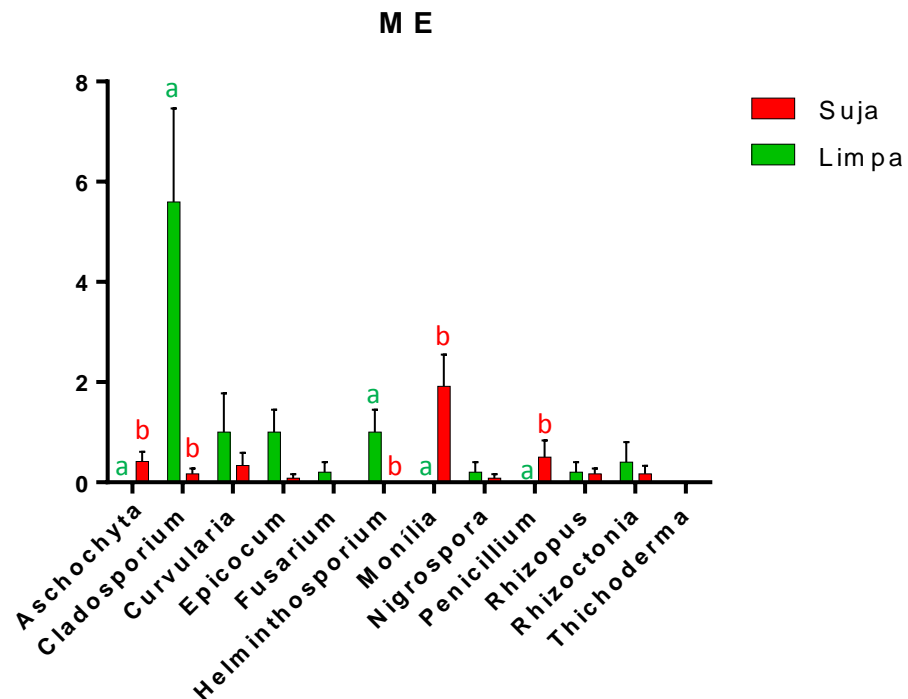


Figura 26. Comparativo com média \pm desvio padrão da média (DPM) dos gêneros de fungos encontrados na maravalha estéril (ME) antes de sua utilização (Limpa) e após quinze dias de utilização (Suja). Letras iguais não diferem entre si nas barras correspondentes ao mesmo gênero de fungo ($p > 0,05$). Jaboticabal, 2017.

Os resultados obtidos para a MNE evidenciaram crescimento significativo do gênero *Monilia*, e supressão do gênero *Rhizoctonia*. Os outros gêneros avaliados apesar de apresentarem variações em relação ao desenvolvimento e supressão entre a MNE limpa e suja, como observado na Tabela 18 e Figura 27, estes não apresentaram diferenças significativas ($p>0,05$).

Tabela 18. Médias \pm desvio padrão da média (DPM) da frequência dos diferentes gêneros de fungos presentes na maravalha não esterilizada (MNE) antes da utilização (Limpa) e após 15 dias de utilização (Suja). Jaboticabal, 2017.

Gênero	Limpa	Suja
<i>Aschochyta</i>	0,0	0,0
<i>Cladosporium</i>	0,4 \pm 0,9	2,0 \pm 2,1
<i>Curvularia</i>	0,4 \pm 0,5	0,0
<i>Epicocum</i>	0,0	0,25 \pm 2,6
<i>Helminthosporium</i>	0,2 \pm 0,4	0,0
<i>Monilia</i>	0,0 a	13,75 \pm 9,2 b
<i>Nigrospora</i>	3,2 \pm 4,0	0,5 \pm 0,5
<i>Penicillium</i>	2,8 \pm 2,8	4,5 \pm 4,7
<i>Rhizopus</i>	0,0	0,0
<i>Rhizoctonia</i>	3,8 \pm 3,3 a	0,0 b
<i>Thichoderma</i>	0,0	0,5 \pm 0,9

Letras iguais não diferem entre si na linha ($p>0,05$).

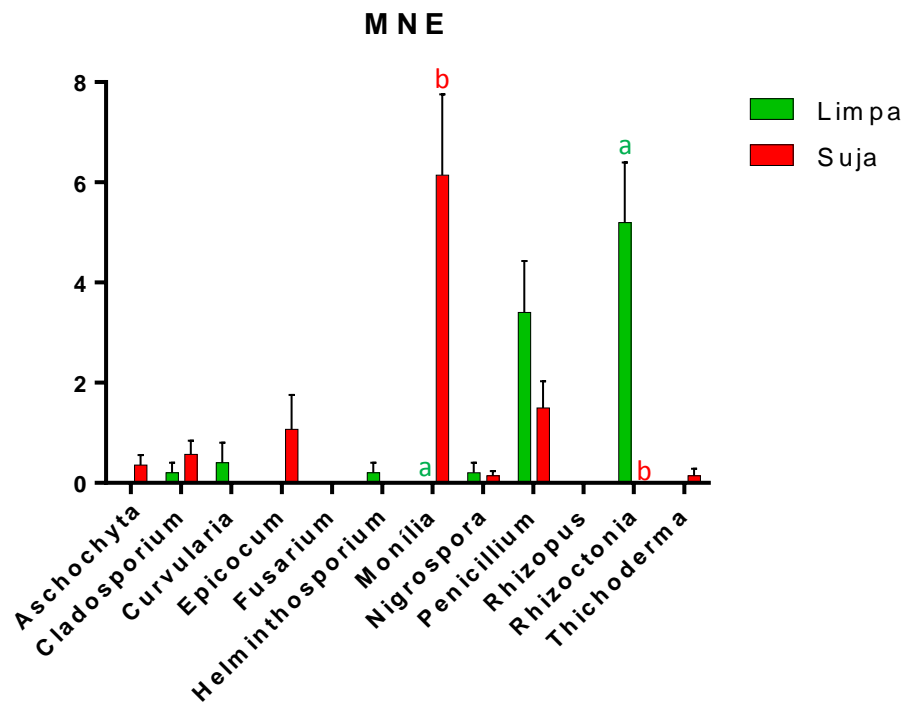


Figura 27. Comparativo com média \pm desvio padrão da média (DPM) dos gêneros de fungos encontrados na maravalha não estéril (MNE) antes de sua utilização (Limpa) e após quinze dias de utilização (Suja). Letras iguais não diferem entre si nas barras correspondentes ao mesmo gênero de fungo ($p > 0,05$). Jaboticabal, 2017.

5.4.2 Feno

As amostras de feno pré-secado analisadas evidenciaram a presença em destaque dos gêneros *Cladosporium*, com frequência de $27,85 \pm 19,36\%$, *Nigrospora*, com frequência de $11,0 \pm 6,41\%$, *Curvularia*, com frequência de $7,46 \pm 7,65\%$, *Bothodiplodia*, com frequência de $6,73 \pm 16,3\%$, *Rhizopus*, com frequência de $6,04 \pm 7,81\%$.

Em menor frequência também foram identificados os seguintes gêneros *Phoma* ($1,54 \pm 1,94\%$), *Penicillium* ($4,81 \pm 9,53\%$), *Monilia* ($5,04 \pm 9,1\%$), *Helminthosporium* ($2,04 \pm 2,09\%$), *Fusarium* ($5,35 \pm 9,23\%$), *Epicocum* ($6,62 \pm 5,73\%$), *Aspergillus* ($0,85 \pm 2,22\%$), *Aschochita* ($1,88 \pm 3,75\%$) e *Alternaria* ($1,81 \pm 1,65\%$), assim como ilustrado na Figura 28.

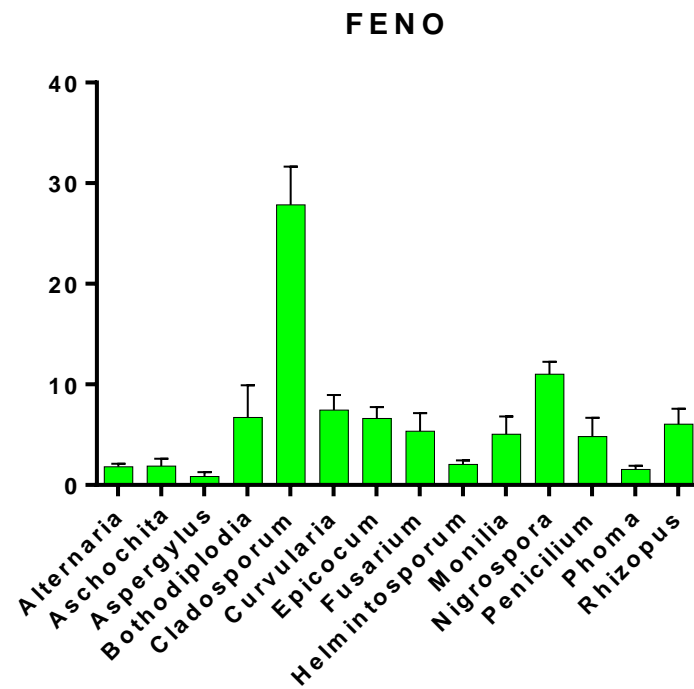


Figura 28. Comparativo com média \pm desvio padrão da média (DPM) dos gêneros de fungos encontrados nas amostras de feno pré-secado utilizados para a alimentação dos animais alocados a pasto, em baia revestida com maravalha esterilizada (ME) e maravalha não esterilizada (MNE) durante todo o período experimental. Jaboticabal, 2017.

6. DISCUSSÃO

A inalação de poeira e esporos de fungos é o principal fator desencadeante associados ao desenvolvimento da DIVA e da ORVA nos equinos, sendo a estabulação dos equinos fator importante para o aumento da ocorrência destas afecções uma vez que potencializa a concentração de partículas em suspensão no ambiente habitado pelo cavalo (ROBINSON, 1996; BAYLY, 2001; ROBINSON, BERNEY, EBERHART, 2003; THOMASSIAN, 2005; BEECH, 2006; SWEENEY, 2006; LAURENT et al., 2007). Diante disto, este estudo avaliou o desenvolvimento e a supressão de espécies fúngicas em dois diferentes materiais utilizados na forração das baias, que foram submetidas a diferentes processos de confecção, assim como, avaliou o uso destes materiais sobre o sistema respiratório de equinos.

Diversos autores indicam a utilização do feno na alimentação dos equinos como importante fator predisponente para o desenvolvimento de afecções alérgicas e inflamatórias do sistema respiratório (MCGORUM; DIXON; HALLIWELL, 1993; FRANCHINI et al., 2000; BEECH, 2006; CLEMENTS; PIRIE, 2007), devido a isto neste estudo foram realizadas análises fúngicas do feno pré-secado utilizado na alimentação dos animais.

Além do material utilizado como revestimento das baias e a utilização de feno na alimentação dos animais, outros fatores, como, a higienização inadequada ou insuficiente das baias, o que promove o acúmulo de poeira e sujidades também podem aumentar a quantidade de partículas nocivas no ambiente, que podem ser inaladas pelos animais (PICKRELL, 1991; BERNDT; DERKSEN; ROBINSON, 2010). Vários autores relacionam o desenvolvimento de afecções alérgicas e inflamatórias a higienização inadequada, acúmulo de poeira, fezes e urina (WOODS; ROBINSON; SWANSON, 1993; MCGORUM; ELLISON; CULLEN, 1998) devido a isso, em nosso estudo adotamos medidas de higiene e manejo diários, como a retirada dos animais no momento da limpeza das baias, que aliado a utilização de baias amplas e ventiladas, além da alimentação dos animais com ração peletizada, contribuíram de forma significativa para menor concentração de poeira em suspensão no ambiente.

Este estudo também realizou a comparação entre os animais mantidos estabulados (grupos ME e MNE) com o grupo de animais mantidos a pasto, assim

como realizou Berndt, Derksen e Robinson (2010) em estudo semelhante, em que foram avaliadas as quantidades de endotoxinas aerógenas, potencialmente patogênicas, inaladas pelos equinos mantidos estabulados e a pasto, tendo sido, a concentração média destas endotoxinas inaladas cerca de oito vezes maior nos animais mantidos em baias quando em comparação aos animais mantidos a pasto.

A maravalha esterilizada (ME), utilizada neste trabalho, é vendida comercialmente, prensada em cubos, embalado em plástico filme, e produzida industrialmente, a partir de madeira de *Pinnus elliottii*, seca, descascada, e cortada em lascas com tamanho e espessura padronizada, peneiradas e posteriormente autoclavadas e embaladas. Já a maravalha não esterilizada (MNE), também conhecida como serragem, é vendida a granel, sem invólucro, sendo proveniente de serrarias, e produzida a partir de diferentes tipos de madeira, cortada em lascas de diferentes tamanhos, sem passar por peneiragem ou controle de umidade. As principais características destes dois tipos de maravalha, observadas durante o decorrer deste estudo, foram as seguintes: a maravalha esterilizada (ME) possuía manejo consideravelmente fácil, principalmente devido a forma em que era embalada e a facilidade de limpeza diária, e formava uma camada de revestimento bem macia com ótima absorção. Entretanto, mesmo tendo passado por processo de peneiragem, este produto apresentava considerável quantidade de poeira, que ficava dispersa no ar principalmente no momento em que o tratador forrava a baia ou realizava a limpeza diária. Provavelmente essa quantidade de pó presente na maravalha esterilizada, se deva ao processo de controle de umidade ao qual era submetida durante sua fabricação, tendo em vista que, com a baixa umidade desta maravalha o pó que por ventura não foi eliminado durante a peneiragem ficava mais leve e se dispersava com maior facilidade no ambiente, quando a embalagem era retirada. Em seu estudo Saastamoinen, Särkijärvi e Hyypä (2015) utilizaram maravalha comercial semelhante a utilizada neste estudo.

A maravalha não esterilizada (MNE), de manejo consideravelmente mais difícil, principalmente devido a sua menor absorção, formava uma camada de revestimento mais compacta, porém de odor mais forte, alta umidade com elevada quantidade de pó. Apesar desta maravalha ser consideravelmente pulverulenta, este pó não se dispersava tanto no ambiente, provavelmente devido ao peso das

partículas, conferido pela alta umidade. Outra diferença a ser destacada é o custo, tendo em vista que a ME tem custo consideravelmente maior que a MNE, sendo este fator levado em consideração por grande parte dos criadores de equinos.

Além da maravalha, material avaliado neste estudo, com características já citadas anteriormente, diversos outros tipos de materiais como palha, turfa, aparas de papel, areia e palha de arroz, cada um com suas características individuais, são utilizados como revestimento para baias na equideocultura mundial, de acordo com sua disponibilidade, custos e qualidade (SAASTAMOINEN; SÄRKIJÄRVI; HYYPPÄ, 2015). Muitos destes materiais já foram avaliados em outros estudos, que assim como este, buscavam maiores informações sobre a influência destes revestimentos no sistema respiratório dos equinos, e conseqüentemente, na qualidade de vida destes animais (WOODS; ROBINSON; SWANSON, 1993; VANDENPUT et al., 1997; TANNER et al., 1998; KIRSCHVINK et al., 2002a; FLEMING; HESSEL; VAN DEN WEGHE, 2008b).

Para a avaliação de possíveis alterações no sistema respiratório dos equinos avaliados neste estudo, foi utilizada a técnica de lavado broncoalveolar descrita por Hoffman (1999), com pequenas adaptações, principalmente no que diz respeito ao volume de solução de cloreto de sódio 0,9% utilizada para a realização do lavado, tendo em vista que neste estudo o volume instilado foi de 180 mL em comparação aos 250 mL utilizados pelo autor. Esta redução do volume instilado se fez necessária para que fossem obtidas amostras ligeiramente mais concentradas, a tornar possível a mensuração dos marcadores de estresse oxidativo. Segundo Rendle (2012), variações no volume instilado no LBA em torno de 200 mL não causam diferença significativa nos valores da contagem celular obtida nas amostras. Por outro lado Sweeney et al. (1992), relatam que o volume de fluido infundido pode influenciar de forma significativa a contagem diferencial das células no LBA, quando na comparação da infusão de um volume de 50 mL em relação a volumes superiores a 300 mL.

A escolha da técnica de LBA para obtenção de amostras representativas do trato respiratório inferior em vez da técnica de lavado traqueobrônquico (LTB), também utilizada por alguns autores, se deve ao fato da técnica ser menos invasiva, possibilitando a sua repetição em curto intervalo (a cada 15 dias), além da sensibilidade da técnica, que é amplamente utilizada como procedimento clínico de

rotina quando existe a suspeita de afecções pulmonares difusas, como a DIVA e a ORVA, sendo a amostra obtida considerada representativa de todo o pulmão dos equinos (ROBINSON, 2001). A técnica de LTB também é utilizada com o intuito de obter amostras das secreções das vias aéreas distais de equinos, contudo, sua utilização para avaliação de afecções pulmonares tem sido questionada, principalmente devido aos valores encontrados na citologia em relação a manifestação clínica da doença (FERNANDES; MORI; SANCHES, 2000; ROBINSON, 2001; HOFFMAN, 2008).

A contagem de células nucleadas totais no LBA não diferiu significativamente entre os grupos e momentos avaliados neste estudo, entretanto se pode observar que no grupo Pasto, mesmo que sem grandes variações, os valores foram maiores que nos grupos ME e MNE em todos os momentos avaliados (Tabela 1 e Figura 10), discordando do que foi descrito por Holcomb et al. (2001) que avaliaram a influência da estabulação sobre o perfil citológico do LBA, e evidenciaram a CCNT maior nos animais durante o período de estabulação. Discordando também do que foi relatado por Tremblay et al. (1993), e por Berndt, Derksen e Robinson (2010) que em estudos semelhantes não observaram diferença na CCNT no LBA dos animais mantidos a pasto e após a sua estabulação. Do mesmo modo, se pode observar que a CCNT do grupo MNE foi maior que a do grupo ME em três dos quatro momentos de avaliação, sugerindo que as baias revestidas com MNE apresentam maior potencial para o desenvolvimento de resposta inflamatória nas vias aéreas, provavelmente devido à maior concentração de partículas aerógenas, potencialmente alergênicas, presentes neste tipo de material.

A porcentagem de neutrófilos no LBA no grupo dos animais mantidos a pasto (Pasto) mesmo que sem diferença significativa, apresentou valores decrescentes a partir do momento Basal, com valores menores do que os observados nos grupos dos animais mantidos estabulados, nos momentos Basal e M30 (Tabela 2 e Figura 11), o que condiz com o descrito por outros autores quando da comparação de animais mantidos a pasto e animais estabulados (TREMBLEY et al., 1993; HOLCOMB et al., 2001). O grupo ME apresentou aumento significativo nos valores em M30, (diferindo estatisticamente dos grupos Pasto e MNE), com queda acentuada em M45. Este mesmo aumento em M30 com posterior queda em M45 também ocorreu no grupo

MNE, em menores proporções. Possivelmente, o aumento destes valores em M30 esteja relacionado a queda de temperatura e ao aumento da velocidade dos ventos que ocorreu no mesmo período. Tendo em vista que as baias utilizadas neste estudo são amplamente ventiladas, existe a possibilidade das partículas aerógenas das camas terem sido dispersas em maior proporção dentro do espaço das baias devido a maior força dos ventos, aumentando a inalação destas partículas pelos animais e desencadeando aumento destas células inflamatórias neste período. Alguns autores sugerem que a quantidade de endotoxinas presentes em partículas aerógenas, ou seja, a quantidade de agentes alergênicos presentes em um ambiente está diretamente associada a temperatura ambiente e a umidade relativa do ar, de modo que quando as temperaturas são mais baixas e a umidade relativa do ar é menor, uma maior quantidade de endotoxinas se desloca e fica dispersa no ar. (WICKENS et al., 2002; CARTY et al., 2003; BERNDT; DERKSEN; ROBINSON, 2010).

Segundo Leclere, Lavoie-Lamoreaux e Lavoie (2011) a inserção e manutenção dos equinos estabulados, levam ao aumento das porcentagens de neutrófilos no LBA, sejam eles animais saudáveis ou com histórico prévio de doença respiratória, fato que neste estudo, só ocorreu em M30, nos dois grupos de animais estabulados (ME e MNE). Podemos atribuir esta divergência de resultados encontrados em nosso estudo com o curto período de avaliação (45 dias), tempo inferior ao avaliado pelos autores citados anteriormente.

Em estudo realizado por Pirie et al. (2001), em que equinos saudáveis e portadores de afecções alérgicas do sistema respiratório foram submetidos a protocolo de inalação experimental de doses crescentes de endotoxinas, além de passarem por desafio ambiental em baias com feno e cama de palha, constatou-se que a inalação de endotoxinas produziu resposta inflamatória neutrofílica em ambos os grupos (saudáveis ou não) que variaram em intensidade de acordo com a dose inalada, demonstrando que o aumento dos neutrófilos no LBA varia de acordo com o grau de exposição aos alergênicos. Já os animais que foram expostos somente ao desafio do feno e da baia forrada com palha não desenvolveram aumento significativo de neutrófilos, sugerindo que a quantidade de alergênicos no ambiente nem sempre é suficiente para desencadear resposta inflamatória das vias aéreas. Entretanto, o autor ressalta que níveis de endotoxinas semelhantes aos administrados por inalação em

seu estudo e que levam a quadros de inflamação, podem ser encontrados em ambientes de baias com limpeza e ventilação inadequadas. Diante disto, pode-se supor que os desafios oferecidos pelo ambiente em no presente estudo, foram insuficientes para levar a alterações significativas na porcentagem de neutrófilos no LBA, que ocorreram somente em M30 e não nos demais momentos experimentais, isso provavelmente se deva ao rigor na limpeza e manutenção das baias que foi adotado durante o período de avaliação deste estudo.

A porcentagem de linfócitos no LBA dos três grupos avaliados, apresentaram valores semelhantes no momento Basal, com posterior queda significativa em M15 e M30, seguido de alta, acima dos valores basais, em M45 (Tabela 3 e Figura 12). Este aumento nos valores de linfócitos ocorre no mesmo momento experimental em que são registradas as menores temperaturas ambientais dentre todos os períodos avaliados. Segundo Robinson et al. (2006) as condições climáticas, como temperaturas mais baixas, podem estar relacionadas a maior propensão dos equinos ao desenvolvimento de afecções respiratórias.

A queda nos valores de linfócitos registrados em M15 e M30 nos grupos ME e MNE, pode estar relacionada a possibilidade de que o ambiente em que estes animais eram mantidos previamente ao início do estudo (pasto) de alguma forma apresentava maior exposição ao que foi imposto durante o período experimental neste estudo, o que levou a aumento dos valores no momento da avaliação basal, que posteriormente diminuíram em M15 e M30. Aqui se destaca, que os exames clínicos realizados previamente ao início do período experimental, juntamente com a ausência de sinais clínicos e históricos indicativos de afecção respiratória, descarta a possibilidade destes animais possuírem doença respiratória em momento anterior ao início do período experimental.

Assim como neste trabalho, Holcomb et al. (2001), em estudo que testou a influência da estabulação na celularidade do LBA em potros árabes, também observaram diminuição nos valores de linfócitos em animais estabulados que previamente estavam a pasto.

Neste estudo os linfócitos foram o tipo celular predominante encontrado no LBA em todos os grupos e momentos avaliados, diferente do encontrado por Hoffman (1999), que relatou a predominância de macrófagos no LBA de equinos saudáveis.

Em relação à porcentagem de macrófagos, o grupo Pasto apresentou aumento significativo em M15 e M30, retornando aos valores basais em M45 (Tabela 4 e Figura 13). Possivelmente este aumento se deva a influência da queda da temperatura e aumento da velocidade dos ventos que ocorreu também em M15 e M30. Segundo Robinson et al. (2006), o aumento dos valores de células inflamatórias no trato respiratório está relacionado com a manutenção dos animais ao ar livre e suscetíveis a baixas temperaturas, corroborando com as afirmações feitas por Davies et al. (2002) de que a exposição dos animais ao ar frio pode levar a inflamação das vias aéreas. Este aumento nos valores de macrófagos observado neste estudo, em parte está relacionado ao aumento das partículas de poeira em suspensão no ar, em decorrência da maior velocidade dos ventos, o que induz a elevação da quantidade de partículas inaladas pelos animais, levando por consequência ao aumento na mobilização de macrófagos, devido ao aumento no desafio imposto as vias aéreas.

Ainda segundo Robinson et al. (2006) relataram que os equinos que ficavam a maior parte do tempo alojados ao ar livre possuíam valores de macrófagos no trato respiratório consideravelmente mais altos do que os animais que ficavam a maior parte do tempo em baias, o que não ocorreu neste estudo, tendo em vista que os valores de macrófagos nos grupos ME e MNE, apresentaram perfil semelhante ao do grupo Pasto, de modo que, mesmo sem diferença significativa, também apresentaram aumento em seus valores em M15 e M30 com posterior queda em M45, levando a crer mais uma vez, que o fato das baias utilizadas neste experimento serem muito bem ventiladas aumentou a influência exercida pela queda de temperatura e o aumento da velocidade dos ventos.

Os valores de macrófagos no LBA não apresentaram diferença significativa entre os grupos de animais estabulados (ME e MNE) e o grupo dos animais alocados a pasto (Pasto), assim como relatado por Holcomb et al. (2001) em estudo semelhante.

Os valores de eosinófilos no LBA não demonstraram diferenças significativas entre os grupos e momentos avaliados, mas pode-se observar queda nos valores dos três grupos (Pasto, ME e MNE) nos momentos M30 e M45 (Tabela 5) condizendo também com a queda de temperatura já mencionada anteriormente.

Assim como neste trabalho, Holcomb et al. (2001) e Berndt et al. (2007) não relataram alterações significativas nas porcentagens de eosinófilos no LBA em seus estudos. Em estudo que comparou a forma como o feno utilizado na alimentação dos equinos era oferecido, Ivester et al. (2014) concluíram que quando o feno era servido aos animais em rede de feno pendurada na baia, os animais estavam suscetíveis a maior inalação de partículas aerógenas, o que por consequência levou a aumento nos valores de eosinófilos no LBA destes animais, quando em comparação com equinos que se alimentaram de feno servido no chão ou em cocho, como foi realizado neste estudo, nos levando a supor que este fator também possa ter influenciado no baixo desafio ambiental oferecido aos animais neste estudo, tendo em vista que os três grupos (Pasto, ME e MNE) receberam o feno no cocho, estando menos suscetíveis a inalação de partículas aerógenas do que se tivessem sido alimentados com feno disposto em redes.

Hare e Viel (1998) associaram o aumento da porcentagem de neutrófilos no LBA com quadro de hipersensibilidade a alérgenos no sistema respiratório de equinos, o que não ocorreu neste estudo, possivelmente devido ao baixo desafio alérgico oferecido pelos ambientes avaliados.

Os valores do MDA no LBA não apresentaram diferenças significativas entre os momento e grupos avaliados neste estudo. Entretanto, em M30 podemos notar sutil queda nos valores obtidos nos três grupos avaliados (Tabela 6 e Figura 17).

Pode-se atribuir esta pouca variação nos valores de MDA, entre os grupos e momentos avaliados, ao fato de que as principais fontes endógenas de oxidantes são as células inflamatórias como os neutrófilos, eosinófilos, linfócitos e também os macrófagos, que ao serem ativadas liberam O_2^- , que é prontamente convertido em H_2O_2 , composto altamente oxidante e conseqüentemente citotóxico (CAVALCANTE; BRUIN, 2009). E, tendo em vista que estes tipos celulares não tiveram grandes aumentos em seus valores no LBA, pode-se supor que o desafio ambiental imposto aos diferentes grupos experimentais (Pasto, ME e MNE) não levou ao desenvolvimento de quadro inflamatório intenso o suficiente para ocasionar desequilíbrio oxidativo significativo, mais especificamente a peroxidação lipídica, que levaria ao aumento nos valores de MDA no LBA dos animais avaliados neste estudo.

Assim como o MDA os valores de ácido úrico no LBA dos animais avaliados neste estudo não apresentaram diferenças significativas entre os grupos e momentos avaliados, possivelmente pelos mesmos motivos citados para o marcador anterior (MDA). Aumentos nos valores de ACU no LBA tem sido relacionados com a realização de exercícios de alta intensidade, assim como em animais acometidos com ORVA (DEATON et al., 2004), o que reforça a teoria de que o desafio ambiental infligido aos animais deste estudo, não foi suficiente para desencadear resposta alérgica inflamatória nestes animais.

O valor de vitamina C no LBA dos animais avaliados neste estudo apresentou queda significativa em M30 no grupo dos animais alocados a pasto. Apesar de não ter havido diferença significativa, o grupo MNE também apresentou sensível queda nos valores de vit. C em M30. Não houve diferenças significativas entre os grupos em nenhum dos momentos avaliados (Tabela 9).

Provavelmente, esta queda nos valores em M30 no grupo de animais a pasto se deva a queda na temperatura e ao aumento da velocidade dos ventos, o que diminuiu consideravelmente a sensação térmica para os animais que estavam ao ar livre, já que estes estavam mais expostos as variações térmicas. Tendo em vista que a vitamina C é um antioxidante com intensa atividade em meios hidrofílicos como o LBA (ANDRADE JUNIOR et al., 2005; BARBOSA et al., 2010), sendo considerado quantitativamente o principal antioxidante não-enzimático para os equinos devido à alta capacidade destes animais de produzirem esta vitamina (DEATON et al., 2002), pode-se pressupor que a queda na temperatura ocorrida em M30 desencadeou um desequilíbrio oxidativo de grau leve, que foi rapidamente reequilibrado pela ação antioxidante da vitamina C, o que justifica a diminuição dos valores de vitamina C livre presente no LBA em M30, que foi oxidada para que o equilíbrio oxidativo fosse retomado, tendo retornado aos valores basais em M45 em consequência da produção constante de vit. C pelos equinos. Esta influência da temperatura nos animais a pasto em M30 condiz com as variações nos valores de linfócitos, macrófagos e eosinófilos, já citadas anteriormente, que ocorreram no mesmo momento e grupo de animais.

Segundo Deaton et al. (2004), animais com histórico de ORVA possuem menores concentrações de vit. C no LBA, quando em comparação com animais saudáveis, o que torna os animais com ORVA mais propensos ao desenvolvimento

de estresse oxidativo, corroborando com o relatado por Tan et al. (2010). Neste mesmo estudo Tan et al. (2010) não observaram diferença significativa nas concentrações de vitamina C no LBA de equinos saudáveis, após terem sido submetidos a desafio semelhante ao utilizado neste estudo, sendo os animais alimentados com feno e alocados em baias revestidas com palha.

Os três grupos avaliados neste estudo apresentaram queda nos valores de GSH em M30, e posteriormente retornaram aos valores basais em M45. Assim como nos resultados obtidos para os parâmetros anteriormente analisados, se pode observar as maiores variações novamente em M30, momento em que houve queda da temperatura. Este fator possivelmente tenha levado a alterações que desencadearam desequilíbrio oxidativo momentâneo no sistema respiratório dos animais avaliados, que culminou na mobilização de GSH (oxidação) para combater a presença de EROs, e o retorno aos valores basais de GSH em M45 se deve a grande eficiência do ciclo catalítico da glutathiona, em que a GSSG é novamente reduzida a GSH, por meio da ação da glutathiona redutase, recompondo os níveis da GSH, para que recomponham a defesa antioxidante (HUBER; ALMEIDA, 2008).

O grupo MNE apresentou valores de GSH significativamente menores em M30 quando em comparação com o grupo Pasto no mesmo momento. A queda nas concentrações de GSH é relacionada com maior predisposição ao desenvolvimento de afecções pulmonares (ANDRADE JUNIOR et al., 2005), deste modo, pontualmente neste momento de avaliação, se pode dizer que a MNE apresentou maior risco ao desenvolvimento de desequilíbrio oxidativo.

Em estudo de Kirschvink et al. (2002b), que avaliaram equinos acometidos por ORVA, (durante crise alérgica, durante remissão clínica sem sinais clínicos característicos e animais saudáveis), se constatou que os animais acometidos por ORVA durante as crises alérgicas apresentavam maiores taxas de oxidação de GSH em GSSG, conseqüentemente, reduzindo mesmo que momentaneamente os valores de GSH, corroborando com o que foi relatado acima por Andrade Junior et al. (2005) e com o que foi observado no grupo MNE em M30.

Mills e Higgs (1997) correlacionaram o grau de inflamação das vias aéreas inferiores com a taxa de oxidação da GSH no LBA, iniciando a teoria de que equinos

com quadro de inflamação das vias aéreas passam por desequilíbrio oxidativo (SILVA; GONÇALVES, 2010).

Segundo Cavalcante e Bruin (2009), pacientes humanos, fumantes crônicos, apresentam níveis elevados de GSH no LBA como defesa contra os oxidantes provenientes da fumaça do cigarro, defesa esta que em muitos casos é superada pela carga excessiva de oxidantes durante a fase aguda do tabagismo.

O grupo Pasto apresentou queda nos valores de GSSG no LBA em M30 e em M45. De forma semelhante os grupos ME e MNE também apresentaram o mesmo perfil nos valores de GSSG, com queda acentuada em M45 (Tabela 11 e Figura 17). Este perfil apresentado por GSSG em cada um dos grupos condiz com o perfil apresentado anteriormente para os valores de GSH, tendo em vista que os valores de GSH e GSSG apresentam comportamentos inversos, já que a GSH quando se oxida para neutralizar um radical livre, se transforma em GSSG, como já descrito anteriormente. Diante destes fatores se pode observar que quando o equilíbrio oxidativo é desregulado em M30 devido a fatores climáticos já discutidos anteriormente, o grupo Pasto ainda apresentava valores mais elevados de GSH em M30 em comparação com os grupos ME e principalmente MNE, o que condiz com os valores inversamente reduzidos de GSSG no grupo Pasto em M30, o que se acentua em M45 quando provavelmente termina-se o ciclo catalítico da glutathiona, reduzindo novamente GSSG em GSH, conseqüentemente reduzindo a quantidade de GSSG presente no LBA, em contrapartida ao aumento de GSH no mesmo momento (M45). O mesmo sincronismo ocorre nos grupos ME e MNE, que apresentaram aumento nos valores de GSH em M45 após queda acentuada em M30, conseqüentemente apresentando redução nos valores de GSSG em M45. Esta taxa de redução da GSH sugere que houve aumento na defesa antioxidante e elevação no grau de oxidação da GSH nestes animais, assim como sugerido por Silva e Gonçalves, 2010. Outros autores como Art et al. (1999), Deaton et al. (2004) e Lykkesfeldt e Svendsen (2007) também observaram correlação similar em seus trabalhos.

O grupo Pasto em comparação com os outros grupos apresentou valores de GSSG consideravelmente menores em M30 (Tabela 11 e Figura 17), diante disto, se pode pressupor que os animais alocados a pasto apresentaram menor tendência ao desenvolvimento de estresse oxidativo em comparação aos grupos de equinos

estabulados, mesmo sofrendo maior influência da queda de temperatura que desencadeou a oxidação de GSH em todos os grupos em M30.

O grupo ME foi o único grupo a apresentar alteração significativa nos valores de GPX, tendo apresentado diminuição em suas concentrações em M45 (Tabela 12 e Figura 18). Esta queda nos valores de GPX, condiz com os valores anteriormente descritos para os valores de GSH e GSSG, tendo em vista que a glutathiona peroxidase atua catalisando a oxidação da GSH em GSSG, função extremamente importante para a neutralização de radicais livres pela glutathiona (HUBER; ALMEIDA, 2008). A baixa concentração de GPX no momento M45 reflete a mobilização deste composto em M30, momento em que o grupo ME apresentou queda nos valores de GSH, ou seja, a GSH foi oxidada utilizando a GPX como catalisadora, o que levou a queda gradativa das concentrações da GPX, o que perdurou até o próximo momento de avaliação (M45).

Em estudo que avaliou as concentrações de GPX em equinos saudáveis e portadores de ORVA, após estes dois grupos serem estabeulados em baias forradas com palha e alimentados com feno (desafio semelhante ao imposto aos animais deste estudo), Tan et al. (2010) observaram maior atividade de GPX no sistema redox da glutathiona (reduzindo conseqüentemente a quantidade de GPX livre) assim como observado no grupo ME em M45. Segundo os autores, este aumento na atividade de GPX, que teve o intuito de combater o estresse oxidativo, ocorreu durante a exposição dos animais com ORVA ao desafio imposto pela estabeulação e a alimentação com feno.

No grupo MNE foi observada elevação nos valores da SOD, porém apenas em M30, sendo este o único grupo a apresentar alterações significativas entre os momentos avaliados. Esta elevação é forte indicativo de desequilíbrio oxidativo, ocasionado ao menos em parte pelas baixas temperaturas e maiores velocidades dos ventos registradas no momento (M30), juntamente com a grande quantidade material pulverulento presente na MNE. Este aumento em M30 foi significativo no grupo MNE em relação aos demais grupos (Pasto e ME), levando a crer que a MNE apresentou maior potencial em causar desequilíbrio oxidativo nas vias aéreas inferiores de equinos, diante das condições climáticas apresentadas em M30, do que a maravalha esterilizada (ME) e a manutenção dos animais a pasto (Pasto).

No pulmão, a SOD está presente também nos macrófagos alveolares, que neste estudo também não apresentaram grandes variações, nos grupos e momentos avaliados (RAHMAN; BISWAS; KODE, 2006).

Ao todo foram encontrados 14 gêneros fúngicos nas amostras de feno pré-secado avaliadas (Figura 28), dentre estes, os gêneros *Fusarium*, *Penicillium* e *Aspergillus* estão relacionados ao desenvolvimento de afecções de caráter inflamatório/alérgico no sistema respiratório dos cavalos (BEECH, 2006; RUSH, 2014).

As análises fúngicas dos dois tipos de cama utilizados neste estudo (ME e MNE) não evidenciaram diferença significativa entre as populações fúngicas nos dois materiais, que apresentaram basicamente os mesmos gêneros fúngicos em proporções semelhantes e porcentagens relativamente baixas. Em estudo semelhante, Saastamoinen, Särkijärvi e Hyyppä (2015) compararam um tipo de maravalha comercial semelhante a ME utilizada neste estudo com a turfa, e assim como neste estudo, não evidenciaram diferenças significativas nas quantidades de esporos fúngicos presentes nos diferentes tipos de materiais utilizados na forração dos estábulos.

Os fungos mais comumente relacionados ao desenvolvimento de afecções no sistema respiratório de equinos são os do gênero *Aspergillus* (*Aspergillus fumigatus*) e *Microspora* (*M. faeni*) (DERKSEN et al. 1987; BEECH, 2006) e não foram identificados dentre os 12 gêneros fúngicos encontrados nos dois tipos de cama, contudo, estes gêneros quando inalados em grandes quantidades também apresentam potencial para desencadear respostas alérgicas no trato respiratório (BEECH, 2006).

A maravalha esterilizada (ME) limpa (antes da sua utilização) apresentou médias maiores dos gêneros *Cladosporium*, *Curvularia*, *Epicocum*, *Fusarium*, *Helminthosporium*, *Nigrospora*, *Rhizopus* e *Rhizoctonia* em comparação a ME suja, que apresentou médias maiores somente dos gêneros *Aschochyta*, *Monilia* e *Penicillium* (Tabela 17 e Figura 26). A presença destes gêneros fúngicos na maravalha ainda nova, possivelmente se deva ao fato de que o processo de autoclavagem a que este material é submetido, não é totalmente eficiente, assim como a embalagem utilizada no produto não é adequada para impedir a entrada de sujidades, resultando na

presença de gêneros fúngicos semelhantes aos encontrados na MNE, considerada de qualidade inferior.

A queda nos valores das médias destes gêneros fúngicos assim como a supressão dos gêneros *Cladosporium* e *Helminthosporium*, possivelmente se deva a maior influência do ar sobre o crescimento e manutenção dos gêneros fúngicos, tendo em vista que após a abertura da embalagem e disposição da maravalha nas baias, houve maior ventilação da mesma, assim como a presença de sujidades (urina e fezes) que por ventura possam suprimir o crescimento fúngico, de forma semelhante ao que foi relatado por Brackmann et al. (1996).

A maravalha não esterilizada (MNE) apresentou crescimento significativo do gênero *Monilia* e a supressão do gênero *Rhizoctonia*. Além disso os gêneros *Curvularia*, *Helminthosporium*, *Nigrospora* e *Penicillium* apresentaram médias maiores na MNE limpa quando em comparação com a MNE suja, que apresentou médias maiores dos gêneros *Aschochyta*, *Cladosporium*, *Epicocum* e *Thichoderma* (Tabela 18 e Figura 27). No que diz respeito ao crescimento e manutenção de espécies fúngicas, a MNE apresentou qualidade muito semelhante a ME.

Clark, Madelin e Allpress (1988) concluíram que baias mal ventiladas favorecem o crescimento de gêneros fúngicos na cama, conseqüentemente aumentando os riscos da inalação de esporos de fungos potencialmente danosos ao trato respiratório dos equinos. O que pode explicar o baixo crescimento fúngico nas camas avaliadas neste trabalho, tendo em vista que as baias utilizadas eram amplas e arejadas.

Segundo Woods et al. (1993), Vandenput et al. (1997) e Holcomb et al. (2001), os níveis de poeira variam de acordo com o tipo de alimento a ser utilizado. O feno pré-secado, utilizado como alimento neste estudo, não apresentava grandes quantidades de pó quando em comparação aos tradicionais fenos em fardo. Em grande parte essa baixa quantidade de partículas aerógenas se deve a alta umidade apresentada pelo feno pré-secado, que diferentemente do feno em fardos, não é totalmente seco durante sua produção, sendo este cortado e embalado em plástico filme, o que mantém sua umidade elevada.

Robinson et al. (2006) correlacionam o uso de fardos de feno em rolo com valores mais elevados de neutrófilos no LBA de equinos, em comparação ao LBA de

animais que se alimentaram de feno tradicional (em fardos quadrados) e de pastagem. Deve-se ressaltar que o feno em rolo utilizado por este autor é o feno tradicional, que passa por processo de secagem na sua produção, e é enfardado em rolos, diferente do feno pré-secado utilizado neste estudo, que também é enfardado em rolo e embalado em plástico filme.

A forma de armazenamento do feno, segundo Clark, Madelin e Allpress (1988), também influencia diretamente a quantidade de partículas aerógenas no feno. Diante disto, se pode pressupor que o fato dos rolos de feno pré-secado utilizados neste estudo, não serem armazenados em grandes quantidades e durante longos períodos, também pode ter contribuído para o baixo crescimento dos gêneros fúngicos nas amostras de feno avaliadas.

As análises hematológicas apresentaram pequenas variações em seus valores de acordo com os grupos e momentos avaliados, entretanto, nenhuma destas variações excedeu os valores considerados normais para equinos (Tabelas 14,15 e 16 e Figuras 20 a 25) (BEECH, 2006; RUSH, 2014).

7. CONCLUSÃO

Os resultados obtidos permitem concluir que nas condições do presente trabalho não houve diferenças significativas na manutenção dos equinos estabulados em cama de maravalha esterilizada e maravalha não esterilizada ou a pasto, quanto ao potencial para desenvolvimento de resposta inflamatória das vias aéreas inferiores. O mesmo ocorreu em relação ao desenvolvimento de estresse oxidativo, tendo havido somente desequilíbrios oxidativos pontuais, que se apresentaram de forma semelhante em ambos os grupos de animais estabulados (ME e MNE), tendo o grupo de animais a pasto sido sensivelmente menos afetado por estes desequilíbrios.

Os dois tipos de cama também não apresentaram diferenças significativas em relação ao desenvolvimento e supressão de gêneros fúngicos, tendo a ME e a MNE apresentado baixas porcentagens e gêneros não comumente associados ao desenvolvimento de afecções respiratórias nos equinos. A cama de maravalha esterilizada (ME) apresentou melhor qualidade quanto a absorção, maciez, compactação, quantidade de pó e facilidade de manejo.

Este trabalho traz informações relevantes quanto ao desenvolvimento de protocolos que visem a manutenção de equinos estabulados com o menor impacto possível sobre o sistema respiratório. Além de incentivar o desenvolvimento de novos estudos acerca deste tema de grande importância para a equinocultura.

7.1 Considerações Finais

O uso de revestimentos de baias com as características da maravalha esterilizadas, principalmente devido a suas características de manejo e qualidade de absorção, juntamente com a adição de medidas de manejo semelhantes as utilizadas neste trabalho, que diminuam a exposição de equinos a ambientes com elevada concentração de partículas em suspensão, contribuem para o menor impacto sobre o sistema respiratório.

8. REFERÊNCIAS

- AKERS, R. M.; DENBOW, D. M. **Anatomy and Physiology of Domestic Animals**. Oxford, U.K.: Blackwell Publishing, 2008. p. 379-397.
- ANDRADE JUNIOR, D. R.; SOUZA, R. B.; SANTOS, S. A.; ANDRADE, D. R. Oxygen free radicals and pulmonary disease. **Jornal Brasileiro de Pneumologia**, Ribeirão Preto, v. 31, n. 1, p. 60-68, 2005.
- ART, T. KIRSCHVINK, N.; SMITH, N.; LEKEUX, P. Indices of oxidative stress in blood and pulmonary epithelium lining fluid in horses suffering from recurrent airway obstruction. **Equine Veterinary Journal**, Fordham, v. 31, n. 5, p. 397-401, 1999.
- BARBOSA, K. B. F.; COSTA, N. M. B.; ALFENAS, R. C. G.; DE PAULA, S. O.; MINIM, V. P. R.; BRESSAN, J. Estresse oxidativo: conceito, implicações e fatores modulatórios. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 23, n. 4, p. 629-643, 2010.
- BAYLY, W. M. **Manual Merck de medicina veterinária**. 8. ed. São Paulo: Roca, 2001. p. 137-149; 878-901.
- BERNDT, A.; DERKSEN, F. J.; VENTA, P. J.; EXART, S.; YUZBASIYAN-GURKAN, V.; ROBINSON, N. E. Elevated amount of Toll-like receptor 4 mRNA in bronchial epithelial cells is associated with airway inflammation in horses with recurrent airway obstruction. **American Journal of Physiology: Lung Cell and Molecular Physiology**, Bethesda, v. 292, n. 4, p. 936-943, 2007.
- BERNDT, A.; DERKSEN, F. J.; ROBINSON, N. E. Endotoxin concentrations within the breathing zone of horses are higher in stables than on pasture. **The Veterinary Journal**. v. 183, p. 54-57, 2010.
- BESSEY, A. O. Ascorbic acid microchemical methods. In: György P. (Ed.). **Vitamin methods**. New York: Academic Press, 1960. 303 p.
- BEECH, J. Doença pulmonar obstrutiva crônica (Obstrução das Vias Aéreas Recidivante Crônica). In: SMITH, B. P. **Medicina interna de grandes animais**. 3. ed. Barueri: Manole, 2006. p. 517-521.
- BIANCHI, M. L. P.; ANTUNES, L. M. G. Radicais livres e os principais antioxidantes da dieta. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 12, n. 2, p. 123-130, 1999.
- BOWLES, K. S.; BEADLE, R. E.; MOUCH, S.; PORCIAU, S. S.; LITTLEFIELD-CHABAUD, M. A.; LE BLANC, C.; MISTRIC, L.; FERAGLICH, T.; HOROHOV, D.W. A novel model for equine recurrent airway obstruction. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, Amsterdam, v. 87, n. 3-4, p. 385-389, 2002.

BRACKMANN, A.; SAQUET, A.; VEIGA, V.; BORTOLUZ, L. Efeito das concentrações de co₂ e o₂ no crescimento e esporulação de *Penicillium expansum* (Link.) Thom, in vitro. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v. 2, n. 3, p. 147-150, 1996.

BURREL, M. H. Endoscopic and virological observations on respiratory disease in a group of young thoroughbred horses in training. **Equine Veterinary Journal**, Fordham, v. 17, n. 2, p. 99-103, 1985.

CARTY, C. L.; GEHRING, U.; CYRYS, J.; BISCHOF, W.; HEINRICH, J. Seasonal variability of endotoxin in ambient fine particulate matter. **Journal of Environmental Monitoring**, Cambridge, v. 5, n. 6, p. 953-958, 2003.

CAVALCANTE, A. G. M.; BRUIN, P. F. C. O papel do estresse oxidativo na DPOC: Conceitos atuais e perspectivas. **Jornal Brasileiro de Pneumologia**, Ribeirão Preto, v. 35, n. 12, p. 1227-1237, 2009.

CLARK, A. F., MADELIN, T. M., ALLPRESS, R. G. The relationship of air hygiene in stables to lower airway disease during an outbreak of equine Herpesvirus-1 infection. In. POWER, D. G., **Equine Infections Diseases: Proceedings of Fifth International Conference**. Kentucky, p.268-271, 1988.

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

COHN, L. A.; REINERO, C. R. Respiratory defenses in health and disease. **Veterinary Clinics Small Animal Practice**, Maryland Heights, v. 37, n. 5, p. 845-860, 2007.

COUËTIL, L. L.; HOFFMAN, A. M.; HODGSON, J.; BUECHNER-MAXWELL, V.; VIEL, L.; WOOD, J. L. N.; LAVOIE, J. P. Inflammatory airway disease of horses. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, Lakewood, v. 21, n. 2, p. 356-361, 2007.

CHRISTLEY, R.; RUSH, B. R. Inflammatory airway disease. **Journal Equine Respiratory Medicine and Surgery**, Philadelphia, v. 42, p. 591-599, 2007.

DAVIES, M. S.; LOCKARD, A. J.; MARLIN, D. J.; FREED, A. N. Airway cooling and mucosal injury during cold weather exercise. **Equine Veterinary Journal**, Hoboken, v. 34, p. 413-416, 2002. Supplement.

DEATON, C. M.; MARLIN, D. J.; SMITH, N. C.; ROBERTS, C. A.; HARRYS, P. A.; KELLY, F. J.; SCHROTER, R. C. Antioxidant supplementation and pulmonary function at rest and exercise. **Equine Veterinary Journal**, Hoboken, v. 34, p. 58-65, 2002. Supplement.

DEATON, C. M.; MARLIN, D. J.; SMITH, N. C.; HARRIS, P. A.; SCHROTER, R. C.; KELLY, F. J. Antioxidant supplementation in horses affected by recurrent airway obstruction. **Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 134, n. 8, p. 2065-2067, 2004. Supplement.

DERKSEN, F. J.; SCOTT, J. S.; SLOCOMB, R. F.; ROBINSON, N. E. Micropolyspora faeni causes airway inflammation but not hyperresponsiveness in sensitized ponies. **Journal of Applied physiology**, v. 62, n. 4, p. 1398-1404, 1987.

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**, Belo Horizonte, v. 52, n. 6, p. 604-609, 2000.

FERNANDES, W. R.; RODRIGUES, J. A.; MICHIMA, L. E. S.; SIQUEIRA, R. F. Avaliação do estresse oxidativo em cavalos de trote através da mensuração de malondialdeído (MDA) e glutatona reduzida (GSH) eritrocitária. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Seropédica, v. 32, n. 7, p. 677-680, 2012.

FERREIRA, A. L. A.; MATSUBARA, L. S. Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. **Revista da Associação Médica Brasileira**, São Paulo, v. 43, n. 1, p. 61-68, 1997.

FLEMING, K.; HESSEL, E. F.; VAN DEN WEGHE, H. F. A. Evaluation of factors influencing the generation of ammonia in different bedding materials used for horse keeping. **Journal of Equine Veterinary Science**, Maryland Heights, v. 28, n. 4, p. 223-231, 2008a.

FLEMING, K.; HESSEL, E. F.; VAN DEN WEGHE, H. F. A. Generation of airborne particles from different bedding materials used for horse keeping. **Journal of Equine Veterinary Science**, Maryland Heights, v. 28, n. 7, p. 408-418, 2008b.

FRANCHINI, M.; GILL, U.; FELLEBERG, R. V.; BRACHER, V. D. Interleukin-8 concentration and neutrophil chemotactic activity in bronchoalveolar lavage fluid of horses with chronic obstructive pulmonary disease following exposure to hay. **American Journal of Veterinary Research**, Schaumburg, v. 61, n. 11, p. 1369-1374, 2000.

FRANDSON, R. D.; WILKE, W. L.; FAILS, A. D. **Anatomia e fisiologia dos animais de fazenda**. 6. ed. Guanabara Koogan: Rio de Janeiro, 2005. p. 279-295.

FREEMAN, K. P.; ROSZEL, J. F.; MCCLURE, J. M.; MANNSMAN, R.; PATTONS, P. E.; NAILE, S. A review of cytological specimens from horses with and without clinical signs of respiratory disease. **Equine Veterinary Journal**, Hoboken, v. 25, n. 6, p. 523-526, 1993.

GERARD-MONNIER, D.; ERDELMEIER, I.; REGNARD, K.; MOZE-HENRY, N. YADAN, J. C.; CHAUDIERE, J. Reactions of 1-methyl-2-phenylindole with malondialdehyde and 4-hydroxyalkenals. Analytical applications to a colorimetric assay of lipid peroxidation. **Chemical Research in Toxicology**, Washington, v. 11, n. 10, p. 1176-1183, 1998.

GROTTO, D.; SANTA MARIA, L.; VALENTINI, J.; PANIZ, C.; SCHMITT, G.; GARCIA, S. C.; POMBLUM, V. J.; ROCHA, J. B. T.; FARINA, M. Importance of the lipid peroxidation biomarkers and methodological aspects for malondialdehyde quantification. **Química Nova**, São Paulo, v. 32, n. 1, p. 169-174, 2009.

HALLIWELL, B.; WHITEMAN, M. Measuring reactive species and oxidative damage in vivo and in cell culture: how should you do it and what do the results mean? **British Journal Pharmacology**, v. 142, n. 2, p. 231-255, 2004.

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

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

HOFFMAN, A. M.; ROBINSON, N. E.; WADE, J. F. Inflammatory airway disease: defining the syndrome. **Equine Veterinary Education**, Hoboken, v. 15, n. 2, p. 61-63, 2003.

HOFFMAN, A. M. Inflammatory airway diseases: definition and diagnostic in performance horse. In: ROBINSON, N. E. **Current therapy in equine medicine**. 5. ed. St. Louis: Elsevier, 2003. p. 412-417.

HOFFMAN, A. M. Bronchoalveolar lavage: sampling technique and guidelines for cytologic preparation and interpretation. **Veterinary Clinics of North America: Equine Practice**, Maryland Heights, v. 24, n. 2, p. 423-435, 2008.

HOLCOMB, S. J.; JACKSON, C.; GERBER, V.; JEFcoat, A.; BERNEY, C.; EBERHARDT, ROBINSON, N. E. Stabling is associated with airway inflammation in young Arabian horses. **Equine Veterinary Journal**, Hoboken, v. 33, n. 3, p. 244-249, 2001.

HOLCOMB, S. J. Epidemiology of airway inflammation and mucus in horses. **Proceedings of the annual convention of the AAEP**, Seattle, v. 51, 2005. [Reprinted in IVIS with the permission of the AAEP]. Disponível em: <<http://hurkyson.eu/wp-content/uploads/2011/02/IAD-w.o..pdf>>. Acesso em: 12 jan. 2016.

HORNICKLE, H.; MEIXNER, R.; POLLMAN, U. **Equine exercise physiology**. Cambridge: Granta Editions, 1983. p. 7.

HUBER, P. C.; ALMEIDA, W. P. Glutathione e enzimas relacionadas: papel biológico e importância em processos patológicos. **Química Nova**, São Paulo, v. 31, n. 5, p. 1170-1179, 2008.

IVESTER, K. M.; COUETIL, L. L.; MOORE, G. E.; ZIMMERMAN, N. J.; RASKIN, R. E. Environmental exposures and airway inflammation in young thoroughbred horses. **Journal Veterinary Internal Medicine**, Hoboken, v. 28, n. 3, p. 918-924, 2014.

JORDÃO-JUNIOR, A. A.; CHIARELLO, P. G.; BERNARDES, M. S. M.; VANNUCCHI, H. Peroxidação lipídica e etanol: papel da glutatona reduzida e da vitamina E. **Revista da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto**, Ribeirão Preto, v. 31, n. 3, p. 434-449, 1998.

JORGE, M. L. L. A.; VISCARDI, V.; SILVA, K. M.; OTAKA, J. N. P.; ALENCAR, N. X.; TORRES FILHO, R. A.; LESSA, D. A. B. Atividade da fostatase alcalina no lavado broncoalveolar de equinos de policiamento montado no Estado do Rio de Janeiro. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 44, n. 1, p. 92-96, 2014.

JOST, U.; KLUKOWSKA-ROTZLER, J.; DOLF, G.; SWINBURNE, J. E.; RAMSEYER, A.; BUGNO, M.; BURGER, D.; BLOTT, S.; GERBER, V. A region on equine chromosome 13 is linked to recurrent airway obstruction in horses. **Equine Veterinary Journal**, Hoboken, v. 39, n. 3, p. 236-241, 2007.

KIRSCHVINK, N.; DI SILVESTRO, F.; SBAI, I.; VANDENPUT, S.; ART, T.; ROBERTS, C.; LEKEUX, P. The use of cardboard bedding material as part of an environmental control regime for heaves-affected horses: in vitro assessment of airborne dust and aeroallergen concentration and in vivo effects on lung function. **The Veterinary Journal**, London, v. 163, n. 3, p. 319-325, 2002a.

KIRSCHVINK, N.; SMITH, N.; FIÉVEZ, L.; BOUGNET, V.; ART, T. DEGAND, G.; MARLIN, D.; ROBERTS, C.; GÉNICOTS, B.; LINDSEY, P.; LEKEUX, P. Effect of chronic airway inflammation and exercise on pulmonary and systemic antioxidant status of healthy and heaves-affected horses. **Equine Veterinary Journal**, Hoboken, v. 34, n. 6, p. 563-571, 2002b.

KÖNIG, H. E.; LIEBICH, H. G. **Anatomia dos animais domésticos**. 4. ed. Artmed: Porto Alegre, 2011. p. 389-410.

KOURY, J. C.; DONANGELO, C. M. Zinc, oxidative stress and physical activity. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 16, n. 4, p. 433-441, 2003.

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

LECLERE, M.; LAVOIE-LAMOUREUX, A. LAVOIE, J. P. Heaves, an asthma-like disease of horses. **Respirology**, Richmond, v. 16, n. 7, p. 1027-1046, 2011.

LUCCA FILHO, O. A. Metodologia dos testes de sanidade de sementes. In: SOAVE, J.; WETZEL, M. M. V. da S. (Ed.). **Patologia de sementes**. Campinas: Fundação Cargill, 1987. p. 276-298.

LYKKESFELDT, J.; SVENDSEN, O. Oxidants and antioxidants in disease: Oxidative stress in farm animals. **The Veterinary Journal**, London, v. 173, p. 502-511, 2007.

MARQUÉS, F. J.; LOHMANN, K. L.; LÓPEZ, M.; MANNING, S.; PINTO, R.; DICKINSON, R.; CAMPBELL, J.; TOWNSEND, H. A Standardized bronchoalveolar lavage (bal) technique using large volume of infused fluid in young foals under intravenous general anesthesia. **International Journal of Applied Research in Veterinary Medicine**, Apopka, v. 9, n. 4, p. 407-415, 2011.

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

MCGORUM, B. C.; DIXON, P. M.; HALLIWELL, R. E. W. Responses of horses affected with chronic obstructive pulmonary disease to inhalation challenges with mould antigens. **Equine Veterinary Journal**, Hoboken, v. 25, n. 4, p. 261-267, 1993.

MCGORUM, B. C.; DIXON, P. M. The analysis and interpretation of equine bronchoalveolar lavage fluid (BALF) cytology. **Equine Veterinary Education**, Hoboken, v. 6, n. 4, p. 203-209, 1994.

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

MILLER, A. F. Superoxide dismutases: ancient enzymes and new insights. **FEBS Letters**, Chichester, v. 586, n. 5, p. 585-595, 2012.

MILLS, P. C.; HIGGINS, A. J. Oxidant injury, nitric oxide and pulmonary vascular function: Implications for the exercising horse. **Veterinary Journal**, London, v. 135, n. 2, p. 125-148, 1997.

NAYLOR, J. M.; CLARK, E. G.; CLAYTON, H. M. Chronic obstructive pulmonary disease: Usefulness of clinical signs, bronchoalveolar lavage, and lung biopsy as diagnostic and prognostic aids. **Canadian Veterinary Journal**, Ottawa, v. 33, n. 9, p. 591-598, 1992.

PAGLIA, D. E.; VALENTINE, W. N. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. **Journal of Laboratory and Clinical Medicine**, Philadelphia, v. 70, n. 1, p. 158-169, 1967.

PICKRELL, J. Hazards in confinement housing-gases and dusts in confined animal houses for swine, poultry, horses and humans. **Veterinary and Human Toxicology**, Manhattan, v. 33, n. 1, p. 32-39, 1991.

PIRIE, R. S.; DIXON, P. M.; COLLIE, D. D. S.; MCGORUM, B. C. Pulmonary and systemic effects of inhaled endotoxin in control and heaves horses. **Equine Veterinary Journal**, Hoboken, v. 33, n. 3, p. 311-318, 2001.

RADOSTITS, O. M.; GAY, C. C.; BLOOD, D. C.; HINCHCLIFF, K. W. **Clínica Veterinária - um tratado de doenças de bovinos, ovinos, suínos, caprinos e equinos**. 9. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S.A, 2002. p. 384-425.

RAHMAN, I.; BISWAS, S. K.; KODE, A. Oxidant and antioxidant balance in the airways and airway diseases. **European Journal of Pharmacology**, Manhattan, v. 533, n. 1-3, p. 222-239, 2006.

RAHMAN, I.; KODE, A.; BISWAS, S. K. Assay for quantitative determination of glutathione and glutathione disulfide levels using enzymatic recycling method. **Nature Protocols**, London, v. 1, n. 6, p. 3159-3165, 2007.

RENDLE, D. Practice tip: bronchoalveolar lavage. **Companion Animal**, London, v. 17, p. 8-10, 2012.

ROBINSON, F. J.; DREKSEN, M. A.; OLSZEWSKI, M. A.; BUECHNER-MAXWELL, V. A. Review the pathogenesis of chronic obstructive pulmonary disease of horses. **British Veterinary Journal**, London, v. 152, p. 283-306, 1996.

ROBINSON, F. J. In: International workshop on equine chronic airway disease Michigan State University. **Equine Veterinary Journal**, Hoboken, v. 33, n. 1, p. 5-19, 2001.

ROBINSON, N. E.; BERNEY, C.; EBERHART, S. Coughing, mucus accumulation, airway obstruction, and airway inflammation in control horses and horses affected with recurrent airway obstruction. **American Journal of Veterinary Research**, Schaumburg, v. 64, n. 5, p. 550-557, 2003.

ROBINSON, N. E. **Tratado de fisiologia veterinária**. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004. p. 481-529.

ROBINSON, N. E.; KARMAUS, W.; HOLCOMBE, S. J.; CARR, E. A.; DERKSEN, F. J. Airway inflammation in Michigan pleasure horses: prevalence and risk factors. **Equine Veterinary Journal**, Hoboken, v. 38, n. 4, p. 293-299, 2006.

RODRIGUES, J. K.; DIB, L. A.; FERRIANI, R. A.; JORDÃO-JUNIOR, A. A.; NAVARRO, P. A. A. S. Marcadores séricos de estresse oxidativo e resultados dos procedimentos de reprodução assistida em pacientes inférteis com síndrome dos ovários policísticos e controles. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, Rio de Janeiro, v. 32, n. 3, p. 118-125, 2010.

RUSH, B.; MAIR, T. **Equine respiratory Diseases**. Oxford: Blackwell, 2004. 322 p.

RUSH, B. R. Overview of respiratory diseases of horses. In: KAHN, C. M. **The Merck veterinary manual**. New Jersey: Wiley, 2014. p. 867-870.

SAASTAMOINEN, M.; SÄRKIJÄRVI, S.; HYYPPÄ, S. Reducing respiratory health risks to horses and workers: a comparison of two stall bedding materials. **Animals**, Boston, v. 5, n. 4, p. 965-977, 2015.

SAUTIN, Y. Y.; JOHNSON, R. J. Uric acid: the oxidant-antioxidant paradox. **Journal Nucleosides, Nucleotides and Nucleic Acids**, New York, v. 27, n. 6, p. 608-619, 2008.

SENTHILKUMAR, K.; UDAYAN, K.; MANIAN, S. Successional pattern of mycoflora associated with litter degradation in a *Cymbopogon caesius* dominated tropical grassland. **Tropical Grasslands**, St. Lucia, v. 27, p. 121-127, 1993.

SILVA, A. A.; GONÇALVES, R. C. Reactive oxygen species and the respiratory tract diseases of large animals. **Revista Ciência Rural**, Santa Maria, v. 40, n. 4, p. 994-1002, 2010.

STEWART, A. J. **Current therapy in equine medicine**. 6. ed. St. Louis: Saunders Elsevier, 2009. p. 307-312.

SWEENEY, C. R.; ROSSIER, Y.; ZIEMER, E. L.; LINDBORG, S. Effects of lung site and fluid volume on results of bronchoalveolar lavage fluid analysis in horses. **American Journal of Veterinary Research**, Schaumburg, v. 53, n. 8, p. 1376-1379, 1992.

SWEENEY, C. R. **Medicina interna de grandes animais**. 3. ed. Barueri: Manole, 2006. p. 499-500.

TAN, R. H. H.; TATCHER, C. D.; BUECHNER-MAXWELL, V.; CHRISTMANN, U.; CRISMAN, M. V.; WERE, S. R. Measurement of ascorbic acid concentration and glutathione peroxidase activity in biological samples collected from horses with recurrent airway obstruction. **American Journal of Veterinary Research**, Schaumburg, v. 71, n. 12, p. 1500-1507, 2010.

TANNER, M. K.; SWINKER, A. M.; BEARD, M. L.; COSMA, G. L.; TRAUB-DARGATZ, J. L.; MARTINEZ, A. B.; OLENCHOCK, S. A. Effect of phone book paper versus sawdust and straw bedding on the presence of airborne gram-negative bacteria, fungi and endotoxin in horse stalls. **Journal of Equine Veterinary Science**, Maryland Heights, v. 18, n. 7, p. 457-461, 1998.

THOMASSIAN, A. **Enfermidade dos cavalos**. 5. ed. São Paulo: Livraria Varela LTDA, 2005. p. 173-176; 222-225; 197-221.

TREMBLAY, G. M.; FERLAND, C.; LAPOINTE, J. M.; VRINST, A.; LAVOIE, J. P.; CORMIER, Y. Effect of stabling on bronchoalveolar cells obtained from normal and COPD horses. **Equine Veterinary Journal**, Hoboken, v. 25, n. 3, p. 194-197, 1993.

VANDENPUT, S.; ISTASSE, L.; NICKS, B.; LEKEUX, P. Airborne dust and aeroallergen concentrations in different sources of feed and bedding for horses. **The Veterinary Quarterly**, Oxfordshire, v. 19, n. 4, p. 154-158, 1997.

WICKENS, K.; LANE, J. M.; FITZHARRIS, P.; SIEBERS, R.; RILEY, G.; DOUWES, J.; SMITH, T.; CRANE, J. Farm residence and exposures and the risk of allergic diseases in New Zealand children. **Allergy**, Chichester, v. 57, n. 12, p. 1171-1179, 2002.

WOODS, P. S.; ROBINSON, N. E.; SWANSON, M. C. Airbone dust and aeroallergen concentration in a horse stable under two different management systems. **Equine Veterinary Journal**, Hoboken, v. 25, n. 3, p. 208-213, 1993.

XU, B.; WAGNER, N.; PHAN, L. N.; MAGNO, V.; SHAN, Z.; BUTCHER, E. C.; MICHIE, S. A. Lymphocyte homing to bronchus-associated lymphoid tissue (balt) is mediated by I-selectin/pnad, $\alpha 4\beta 1$ integrin/vcam-1, and lfa-1 adhesion pathways. **The Journal of Experimental Medicine**, New York, v. 197, n. 10, p. 1255-1267, 2003.

YONEZAWA, L. A.; MACHADO, L. P.; SILVEIRA, V. F.; WATANABE, M. J.; SAITO, M. E.; KITAMURA, S. S.; KOHAYAGAWA, A. Malondialdeído e troponina I cardíaca em equinos da raça Puro Sangue Árabe submetidos ao exercício e à suplementação com vitamina E. **Revista Ciência Rural**, Santa Maria, v. 40, n. 6, p. 1321-1326, 2010.