UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

AVALIAÇÃO CLÍNICA, ENDOSCÓPICA E CITOLÓGICA DA HEMORRAGIA PULMONAR INDUZIDA POR EXERCÍCIO (EIPH) EM CAVALOS DA RAÇA QUARTO DE MILHA

JANAINA SOCOLOVSKI BIAVA

Botucatu - SP
Novembro/ 2007

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

AVALIAÇÃO CLÍNICA, ENDOSCÓPICA E CITOLÓGICA DA HEMORRAGIA PULMONAR INDUZIDA POR EXERCÍCIO (EIPH) EM CAVALOS DA RAÇA QUARTO DE MILHA.

JANAINA SOCOLOVSKI BIAVA

Dissertação apresentada junto ao Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária para obtenção do título de Mestre em Medicina Veterinária.

Orientador: Prof. Dr. Roberto Calderon Gonçalves

Janaina Socolovski Biava

AVALIAÇÃO CLÍNICA, ENDOSCÓPICA E CITOLÓGICA DA HEMORRAGIA PULMONAR INDUZIDA POR EXERCÍCIO (EIPH) EM CAVALOS DA RAÇA QUARTO DE MILHA.

COMISSÃO EXAMINADORA

Prof. Dr. Roberto Calderon Gonçalves
Orientador
Departamento de Clínica Veterinária
FMVZ – UNESP – Botucatu

Prof. Dr. Simone Biagio Chiacchio
Membro
Departamento de Clínica Veterinária
FMVZ – UNESP – Botucatu

Prof. Dr. Alexander Welker Biondo
Membro
Departamento de Medicina Veterinária
UFPR – PR

Data da defesa: 05 de novembro de 2007.

Meus agradecimentos especiais a Deus, pela graça alcançada de concluir meu curso de mestrado sem dificuldades; Ao meu pai pela confiança depositada e pela oportunidade oferecida; À minha mãe pelos esforços, encorajamento, durante horas boas e ruins em toda minha vida.

“Com os nossos pensamentos e palavras, construímos o verdadeiro mundo em que vivemos. Por isso, nossa vida e nossa felicidade dependem exclusivamente de nossas palavras. Vigie o momento presente, para que seu futuro seja feliz. Plante sementes de otimismo e de amor, para colher amanhã os frutos da alegria e da felicidade.”

Minutos de Sabedoria

AGRADECIMENTOS

À Deus por tudo que tem me proporcionado

Ao Prof. Dr. Roberto Calderon Gonçalves, orientador, pela amizade, incentivo e esforço para o meu crescimento profissional, assim como pela atenção e ensinamento durante a realização do mestrado;

Ao Prof. Dr. Alexander Welker Biondo, por corrigir-me e transformar-me em uma pessoa crítica, e principalmente pelos ensinamentos passados;

Ao Prof. Dr. José Ederaldo Queiroz Telles, médico do Hospital de Clínicas, por oferecer ajuda no processamento das lâminas, oferecendo sua ajuda e experiência em Patologia.

Aos funcionários do departamento de Anátomo-Patologia do Hospital de Clínicas; Janir Terezinha Marchi e Maurício de Oliveira, pela ajuda na preparação das lâminas, pela atenção demonstrada em todo o experimento e pela ajuda incondicional.

Aos meus pais, Fiorindo e Leoni, que souberam ter paciência pela minha ausência sem cobrar minha falta na família e no trabalho.

Aos meus irmãos por estarem ao meu lado em tudo que precisei, e, ao Júlio, que onde quer que esteja, sempre esteve ao meu lado.

Jean Carlo Paisani, pelas idas e vindas, carinho, ajuda infinita, paciência e por apoiar-me em tudo que realizei.

Aos alunos de iniciação cientifica da UFPR/PR: Gustavo Miranda Zanotto e Mariane Angélica Finger pelo companheirismo durante as coletas; os trabalhos e os congressos;

Aos meus amigos especiais Rolf, Fabiana, Paula, Ricardo, Débora, Ana, pela amizade, dedicação durante todo o meu projeto;

A todos os Profs. da Clínica de Grandes Animais, Alexandre Secorun Borges, Simone Biagio Chiacchio, Rogério Martins Amorim, pela atenção, pelo apoio, pelas críticas que propiciaram maior aprofundamento e pelos ensinamentos passados;

A todos os amigos que se dedicaram a mim, e principalmente por transformarem meus dias em dias harmoniosos, tranqüilos e cheios de paz;

A todos os Profs. da Pontifícia Universidade Católica do Paraná – PUC-PR- que se dedicaram, pelo andamento do projeto; pelo carinho e amizade;

À FAPESP por contribuir para a realização deste trabalho, fornecendo a bolsa de mestrado.

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - NÚMERO TOTAL DE CÉLULAS DO LAVADO BRONCOALVEOLAR: MÉDIA (M), DESVIO PADRÃO (S), EM CAVALOS DA RAÇA QM SUBMETIDOS ÀS PROVAS DE SEIS BALIZAS E TRÊS TAMBORES (G1) E DE LAÇO EM DUPLA (G2). 24

TABELA 1 - NÚMERO TOTAL DE CÉLULAS DO LAVADO BRONCOALVEOLAR: MÉDIA (M), DESVIO PADRÃO (S), EM CAVALOS DA RAÇA QM SUBMETIDOS ÀS PROVAS DE SEIS BALIZAS E TRÊS TAMBORES (G1) E DE LAÇO EM DUPLA (G2). 24

TABELA 2 - CONTAGEM DIFERENCIAL (%) DE CÉLULAS DO LAVADO BRONCOALVEOLAR: MÉDIA (M), DESVIO PADRÃO (S) DA PORCENTAGEM DE MACRÓFAGOS (M), LINFÓCITOS (L) NEUTRÓFILOS (N), EOSINÓFILOS (E), CÉLULAS EPITELIAIS CILÍNDRICAS (CE), MASTÓCITOS (MT) EM CAVALOS DA RAÇA QM SUBMETIDOS ÀS PROVAS DE SEIS BALIZAS E TRÊS TAMBORES (G1) E DE LAÇO EM DUPLA (G2). 26

TABELA 3 - CONTAGEM DE MACRÓFAGOS COM HEMOSSIDERINA INTRACITOPLASMÁTICA E ESCORE TOTAL DE HEMOSSIDERÓFAGOS (THS) DO LAVADO BRONCOALVEOLAR: MÉDIA (M), DESVIO PADRÃO (S), EM CAVALOS DA RAÇA QM SUBMETIDOS ÀS PROVAS DE SEIS BALIZAS E TRÊS TAMBORES (G1) E DE LAÇO EM DUPLA (G2). 31

TABELA 4 - NÚMERO DE CAVALOS POSITIVOS PARA EIPH PELOS MÉTODOS DE CONTAGEM PERCENTUAL DE MACRÓFAGOS E THS DIAGNOSTICADOS A CITOLOGIA DO LAVADO BRONCOALVEOLAR. 34

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 - NÚMERO TOTAL DE HEMÁCIAS E LEUCÓCITOS DO LAVADO BRONCOALVEOLAR EM CAVALOS DA RAÇA QM SUBMETIDOS ÀS PROVAS DE SEIS BALIZAS E TRÊS TAMBORES (G1) E DE LAÇO EM DUPLA (G2). 25

FIGURA 2 - CONTAGEM DIFERENCIAL (%) DE CÉLULAS DO LAVADO BRONCOALVEOLAR DE CAVALOS DA RAÇA QUARTO DE MILHA EM DIFERENTES MODALIDADES ESPORTIVAS (G1) E (G2). 27

FIGURA 3 - MACRÓFAGO ALVEOLAR (A) E MACRÓFAGO ALVEOLAR ESPUMOSO (B) DE CÉLULAS DO LAVADO BRONCOALVEOLAR DE CAVALOS DA RAÇA QM SUBMETIDOS EXERCÍCIOS — PAPANICOLAU (1000X)..... 28

FIGURA 4 – LINFÓCITOS (A) E NEUTRÓFILOS (B) DE CÉLULAS DO LAVADO BRONCOALVEOLAR DE CAVALOS QM, SUBMETIDOS AO EXERCÍCIO— GIEMSA (1000X). 29

FIGURA 5 – EOSINÓFILOS (A) E CÉLULAS EPITELIAIS CILÍNDRICAS CILIADAS (B) DE CÉLULAS DO LAVADO BRONCOALVEOLAR DE CAVALOS QM, SUBMETIDOS AO EXERCÍCIO— GIEMSA (1000X). 30

FIGURA 6 - CONTAGEM DE MACRÓFAGOS COM HEMOSSIDERINA INTRACITOPLASMÁTICA E ESCORE TOTAL DE HEMOSSIDERÓFAGOS (THS) DO LAVADO BRONCOALVEOLAR EM CAVALOS DA RAÇA QM SUBMETIDOS ÀS PROVAS DE SEIS BALIZAS E TRÊS TAMBORES (G1) E DE LAÇO EM DUPLA (G2). 32

FIGURA 7 – HEMOSSIDERÓFAGO GRAU I; II, III E IV (A E B) DE CÉLULAS DO LAVADO BRONCOALVEOLAR DE CAVALOS QM, SUBMETIDOS AO EXERCÍCIO - GIEMSA (1000X). 33

FIGURA 8 - DIAGRAMA DE DISPERSÃO MOSTRANDO CORRELAÇÃO (R^2=0,955) ENTRE A PERCENTAGEM DE HEMOSSIDERÓFAGOS E O ESCORE THS NO LAVADO BRONCOALVEOLAR DE CAVALOS DA RAÇA QUARTO DE MILHA NOS DOIS GRUPOS (G1) E (G2). 36

LISTA DE QUADROS

QUADRO 1 - SENSIBILIDADE E ESPECIFICIDADE DO THS EM CAVALOS DE CORRIDA 18

QUADRO 2: ACHADOS ENDOSCÓPICOS EM CAVALOS QUARTO DE MILHA APÓS TREINO DE UMA HORA. 21

QUADRO 3 - TESTE ESTATÍSTICO PARA AVALIAR A SENSIBILIDADE E ESPECIFICIDADE DE VALORES ≥ /< 5 PARA A CONTAGEM PERCENTUAL DE HEMOSSIDERÓFAGOS 35

QUADRO 4 - TESTE ESTATÍSTICO PARA AVALIAR A SENSIBILIDADE E ESPECIFICIDADE DE VALORES ≥ /< 10 PARA A CONTAGEM PERCENTUAL DE HEMOSSIDERÓFAGOS 35

QUADRO 5 - TESTE ESTATÍSTICO PARA AVALIAR A SENSIBILIDADE E ESPECIFICIDADE DE VALORES ≥ /< 15 PARA A CONTAGEM PERCENTUAL DE HEMOSSIDERÓFAGOS 35

SIGLAS

BAL	- Lavado Broncoalveolar
EIPH	- Hemorragia Pulmonar Induzida por Exercício
PSI	- Puro Sangue Inglês
QM	- Quarto de Milha
DPOC	- Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica
SB	- Seis Balizas
TT	- Três Tambores
LD	- Laço em Dupla
IV	- Intravenoso
IAD	- Doenças inflamatórias das vias aéreas
RAO	- Doença recorrente das vias aéreas
ORVA	- Obstrução recorrente das vias aéreas

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS VIII

LISTA DE FIGURAS IX

LISTA DE QUADROS X

SIGLAS XI

RESUMO XV

ABSTRACT XVII

I – INTRODUÇÃO 1

II – REVISÃO DE LITERATURA 3

2.1 DEFINIÇÃO E HISTÓRICO 3
2.2 PREVALÊNCIA 3
2.3 DIAGNÓSTICO 4
2.3.1 Aspecto Clínico do "cavalo sangrador" 4
2.3.2. Exame endoscópico 5
2.3.3 Citologia 7
2.3.4 Citologia x Histopatologia 9
2.4 PREDISPOSIÇÕES ANATÔMICAS E FISIOLÓGICAS DO PULMÃO EQÜINO À HEMORRAGIA PULMONAR INDUZIDA POR EXERCÍCIO 10

III – OBJETIVOS 12

IV - MATERIAIS E MÉTODOS 13

4.1 ANIMAIS 13
4.2 INSTALAÇÕES E CONDIÇÕES AMBIENTAIS 14
4.3 EXAME ENDOSCÓPICO 15
4.3.1 Equipamento 15
4.3.2 Contenção dos Animais 15
4.3.3 Técnica da endoscopia 15
4.3.4 Avaliação da hemorragia pulmonar induzida por exercício pela endoscopia 16
4.4 EXAME CITOLÓGICO 16
4.4.1 Lavado broncoalveolar 16
4.4.2 Transporte e conservação do lavado broncoalveolar 17
4.4.3 Preparo das lâminas 17
4.4.4 Avaliações da EIPH pela citologia 17
4.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA 19

V – RESULTADOS 20

5.1 ANIMAIS EXAMINADOS 20

5.2 CONDIÇÕES AMBIENTAIS..... 20
5.3 ACHADOS ENDOSCÓPICOS DAS VIAS AÉREAS 20
5.4 ACHADOS CITOLÓGICOS DO LAVADO BRONCOALVEOLAR 22
5.4.1 Hemorragia Pulmonar Induzida por Exercícios diagnosticada através da citologia..... 22

VI – DISCUSSÃO 37

VII – CONCLUSÃO 42

VIII - BIBLIOGRAFIA 43

IX – TRABALHO CIENTÍFICO NA REVISTA – ARCHIVES OF VETERINARY SCIENCE 53

ANEXOS 1: FICHA DE AVALIAÇÃO RESPIRATÓRIA DE CAVALOS ATLETAS. 68

ANEXO 2 RESUMOS APRESENTADOS NO 13° EVENTO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFPR, 2005. 70

ANEXO 3: RESUMOS APRESENTADOS NO 14° EVENTO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFPR, 2006. 72

ANEXO 4: RESUMOS APRESENTADOS NO 14° EVENTO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFPR, 2006. 74

ANEXO 5: RESUMOS APRESENTADOS NO VII CONFERÊNCIA ANUAL DA ABRAVEQ E II CONGRESSO DA FEI..... 76

ANEXO 6: RESUMOS APRESENTADOS NO VII CONFERÊNCIA ANUAL DA ABRAVEQ E II CONGRESSO DA FEI..... 78

ANEXO 7: RESUMO APRESENTADO NA 6º CONFERÊNCIA SUL-AMERICANA DE MEDICINA VETERINÁRIA, 2006. 80

ANEXO 8: RESUMO APRESENTADO NA 6º CONFERÊNCIA SUL-AMERICANA DE MEDICINA VETERINÁRIA, 2006. 84

ANEXO 9: RESUMO APRESENTADO NO III SIMPÓSIO INTERNACIONAL DO CAVALO ATLETA E V SEMANA DO CAVALO, 2007. 88

ANEXO 10: RESUMO APRESENTADO NO III SIMPÓSIO INTERNACIONAL DO CAVALO ATLETA E V SEMANA DO CAVALO, 2007. 90

ANEXO 11: RESUMO APRESENTADO NO III SIMPÓSIO INTERNACIONAL DO CAVALO ATLETA E V SEMANA DO CAVALO, 2007. 92

ANEXO 12: RESUMO APRESENTADO NA VIII CONFERÊNCIA ANUAL DA ABRAVEQ, 2007. 94

ANEXO 13: RESUMO APRESENTADO NA VIII CONFERÊNCIA ANUAL DA ABRAVEQ, 2007. 96

APÊNDICE..... 98

BIAVA, J. S. **Avaliação clínica, endoscópica e citológica da Hemorragia Pulmonar Induzida por Exercício (EIPH) em cavalos da raça Quarto de Milha.** Botucatu, 2007. 107 p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista.

RESUMO

A Hemorragia Pulmonar Induzida por Exercício (EIPH) é um processo caracterizado por apresentar sangue de origem pulmonar nas vias aéreas dos cavalos, em particular após exercício físico intenso. A presença de sangue na árvore traqueobrônquica é o principal sinal clínico desta síndrome, e afeta comumente cavalos atletas que participam de exercícios de curto percurso e alta intensidade. A síndrome está bem documentada em cavalos de corrida, onde a principal queixa é a incapacidade de manter desempenho atlético satisfatório durante a competição esportiva. Embora o grau de sangramento nesses animais seja variável, até 90% dos cavalos podem apresentar EIPH. Apesar de sua importância em cavalos de corrida o problema é ainda pouco investigado em outros cavalos de esporte como pólo, provas de três tambores, seis balizas, salto, laço em dupla e rédeas, entre outros. Com o objetivo de melhor conhecer os sinais clínicos e a prevalência de EIPH em cavalos da raça Quarto de Milha, bem como os potenciais fatores que predispõem o seu aparecimento, foram realizados os exames clínico, endoscópico e citológico do lavado broncoalveolar, colhido às cegas em tubo de silicone. Foram incluidos no presente estudo, 60 cavalos da raça Quarto de Milha da região metropolitana de Curitiba/PR, sendo 40 em provas de Seis Balizas e Três Tambores e 20 em provas de Laço em Dupla. Esses animais, após treino de uma hora nas atividades de laço em dupla, de três tambores e seis balizas, foram submetidos imediatamente ao exame clínico, e após 30 a 60 minutos ao exame endoscópico e citológico do lavado broncoalveolar (BAL). A presença e o grau de sangramento da EIPH foi determinada à inspeção, pelo exame endoscópico, utilizando-se a escala de Eppinger (1990) e pela contagem total de hemácias e percentual de hemossiderófagos, ao exame citológico. As lâminas do lavado foram coradas com Azul da Prússia para adequada

avaliação dos hemossiderófagos e com Giemsa e Papanicolau, para a contagem diferencial celular do BAL.

Os resultados mostraram ausência de sangue nas vias aéreas superiores. A análise citológica apresentou pequena variação no número total de células, com predomínio de macrófagos e de linfócitos em ambos os grupos. A EIPH foi caracterizada pela contagem percentual de macrófagos com hemossiderina intracitoplasmática e pelo THS em coloração especial de Azul da Prússia. A percentagem de macrófagos foi maior no Grupo 1 e as células epiteliais cilíndricas no grupo 2. Entretanto, linfócitos, neutrófilos e eosinófilos não diferenciaram entre os Grupos 1 e 2.

Baseado nos resultados clínicos, endoscópicos e citológicos obtidos no presente trabalho concluiu-se que a prevalência de EIPH na raça QM varia com o método utilizado para detectá-la. O exame citológico do BAL, utilizando-se o percentual de hemossiderófagos em relação aos macrófagos totais e a técnica de intensidade de coloração de hemossiderina (THS) mostraram maior sensibilidade e especificidade na detecção dos cavalos positivos para EIPH do que o exame endoscópico. Entretanto, a prevalência de EIPH, foi baixa para todas as técnicas nos dois grupos estudados.

Palavras-chaves: EIPH; hemorragia pulmonar induzida por exercício, lavado broncoalveolar; hemossiderófagos, cavalos, Quarto de Milha.

BIAVA, J. S. **Clinical, endoscopic and cytologic evaluation of Exercise-Induced Pulmonary Hemorrhage (EIPH) in Quarter horses.** Botucatu, 2007. 107 p. Dissertation (Master of Science) – College of Veterinary Medicine and Zootecny, Campus of Botucatu, Sao Paulo State University.

ABSTRACT

Exercise-Induced Pulmonary Hemorrhage (EIPH) is a process characterized by presence of pulmonary origin blood in upper airway of horses, particularly after intense physical exercise. The presence of blood in the tracheo-broncheal tree is the main sign of this syndrome, and it often affects horses which participate in short length and high intensity exercises. The syndrome is well reported in racing horses, in which the main complaining is the lack of capacity of athletic performance maintenance during sportive competition. Although the level of bleeding in these animals varies, up to 90% of horses may present EIPH. Despite its importance in racing horses, the problem is still under investigated in other sports horses such as polo, three barrels, six poles, jumping, roping, among others. To better understand clinical signs and prevalence of EIPH in Quarter horses of such activities, as well as the potential factors which predispose its appearance, clinical, endoscopic and cytological exams of broncho-alveolar lavage, was blinded sampled in silicon tubes. A total of 60 Quarter horses from Curitiba, Parana and surroundings were evaluated, with 40 horses of six poles and three barrels competition, and with 20 horses of double roping competition were included in the present study. Theses animals, after training of one hour in the respective activity, were immediately submitted to physical examination, and after 30 and 60 minutes to endoscopic and bronco-alveolar lavage (BAL) cytologic exams. EIPH presence and degree of bleeding was determinated by inspection, endoscopic exam, using the Eppinger scale and by the total erythrocyte count and hemosiderophage percentage on the cytologic smears. Slides of BAL were stained with Prussian blue for adequate evaluation of hemosiderophages, and with Giemsa and Papanicolau for differential cellular counting of BAL. The results showed absence of blood in the respiratory upper airway. Cytological analysis presented low variation in the total number of cells, with predominance of macrophages and lymphocytes in both groups. EIPH was characterized by percentage count of macrophages with

intra-cytoplasmatic hemosiderin and by THS in Prussian Blue stain. The percentage of macrophages was higher in the Group 1 and the cylindrical epithelial cells in the Group 2. However, lymphocytes, neutrophils and eosinophils did not presented differences between Groups 1 and 2. Based on clinical, endoscopic and cytologic results obtained in the present study, prevalence of EIPH in Quarter horses varies with the method used for its identification. The cytologic exam of BAL, using the hemosiderophage percentage rate to the total of macrophage count and the technique of hemosiderin staining intensity (THS) showed more sensibility and specificity for detection of positive EIPH horses than the endoscopic exam. However, the prevalence of EIPH was low for all performed techniques in both studied groups.

Keywords: EIPH; Exercise-Induced Pulmonary Hemorrhage, bronchoalveolar lavage; hemosiderophage, Quarter horse.

I – INTRODUÇÃO

As técnicas de exame citológico do trato respiratório de animais têm sido descritas para diagnóstico de afecções respiratórias há mais de 20 anos (BEECH, 1975; DECONTO, 1983, FOGARTY, 1992; GONÇALVES et al., 2004). Técnicas como o aspirado traqueobrônquico e lavagem broncoalveolar permitem coletar amostras de células de liberação e descamação de secreções de mucosas bronquiais e da região alveolar que podem indicar alterações respiratórias, principalmente crônicas.

As broncoscopias possibilitam o diagnóstico visível de alterações de vias aéreas anteriores como: neurolaringopatias, deslocamento de palato mole, paralisia de epiglote e o aprisionamento da epiglote. Nas vias aéreas posteriores pode-se diagnosticar por este método a doença obstrutiva crônica (DPOC) ou obstrução recorrente das vias aéreas (ORVA), hemorragia pulmonar induzida por exercício (EIPH) e as pneumonias (RUSH e MAIR, 2004).

Por permitir a visualização das vias aéreas posteriores dos eqüinos, a endoscopia propicia avaliar a quantidade de sangue depositada nas vias aéreas de animais que apresentam hemorragia pulmonar após exercícios forçados. Estas alterações são vistas especialmente em cavalos da raça PSI, submetidos às corridas extenuantes. Nos animais da raça QM, que são os mais utilizados para as provas rurais, também pode existir essa mesma relação (BACCARIN, 2004).

As provas rurais seis balizas, três tambores e de laço em dupla aparentemente, por serem provas de explosão, podem também provocar esta síndrome nos cavalos.

Na prova de seis balizas, o cavalo é levado a percorrer um traçado padrão, que envolve movimentos em linha reta e sinuosa, passando entre as marcas. Da mesma maneira, a prova de três tambores faz com que o animal tenha movimentos forçados em linha reta e entre os tambores, dispostos como um triângulo isósceles de aproximadamente 30 metros de lado (STRICKLIN, 1997). Na prova de laço em dupla utilizam-se dois cavalos, correndo em paralelo, que têm como função alinharem-se a um bezerro que é solto de um

brete, para que os cavaleiros lacem primeiro o pescoço depois os membros pélvicos do bovino (GALLEY, 1997).

Todas essas provas são pontuadas pela precisão dos movimentos, e pelo tempo gasto para desenvolvê-las. Isto exige muito do animal, fazendo com que ele seja obrigado a apresentar atividade muscular e cárdio-respiratória de grande intensidade e de forma repentina, podendo resultar em hemorragia intrapulmonar.

Os macrófagos, células de grande potencial fagocítico, tem como uma das funções limpar as vias aéreas das hemácias ali depositadas. A hemossiderina, pigmento próprio destas células, pode ser identificada por colorações especiais, podendo ser quantificada (DOUCET e VIEL, 2002b).

Dessa maneira, a utilização de metodologias de diagnóstico como endoscopia, o BAL, e a quantificação de macrófagos com hemossiderina intracitoplasmática, é possível avaliar a incidência de EIPH em cavalos da raça QM submetidos a exercícios intensos nas provas rurais de seis balizas, três tambores e laço em dupla.

II – REVISÃO DE LITERATURA

2.1 DEFINIÇÃO E HISTÓRICO

A presença de sangue nas narinas dos eqüinos durante ou após uma corrida, independente de sua origem, é conhecida como epistaxe ou sangramento (EPPINGER, 1990; RAINS et al., 2003). A presença de sangue na árvore traqueobrônquica é característica de Hemorragia Pulmonar e pode chegar até as cavidades nasais ocasionando epistaxe (DOUCET e VIEL, 2002a). Em 1981, Pascoe e colaboradores introduziram o termo Hemorragia Pulmonar Induzida por Exercício (EIPH). Atualmente a EIPH é definida como sendo a presença de sangue livre, de origem pulmonar, na árvore traqueobrônquica ou sinais de sangue, após exercício intenso, geralmente identificado por endoscopia após 30 a 60 minutos depois do exercício (COSTA et al., 2004; NEWTON et al., 2005) e com os hemossiderófagos no Lavado Broncoalveolar (DOUCET e VIEL, 2002a).

Para West et al. (1997) a constatação de sangramento nasal (epistaxe) em eqüinos após galope é conhecida desde os tempos da rainha Elizabeth II, no século XVI.

2.2 PREVALÊNCIA

Estudos têm mostrado que a prevalência da EIPH em cavalos varia com a distância, o tipo de corrida, a idade e o sexo (TAKAHASHI et al., 2001), sendo comum em condições de percurso curto e de exercícios de alta intensidade. Scipioni et al. (2003) avaliaram a incidência de EIPH em 1.811 cavalos Puro Sangue Inglês (PSI), entre 1997 a 2000, por endoscopia, após 30 minutos da corrida, e verificaram que em distâncias de 1.000 a 1.200 metros era de 48%; entre 1.400 a 1.800 metros de 47% e em distâncias superiores a 2.000 metros 5%. Biava et al., (2006c) avaliaram com endoscópio 40 cavalos da raça Quarto de Milha (QM) em provas rurais, 30 minutos após prova, e observaram incidência maior de EIPH em provas de três tambores (75%) quando comparada à de seis balizas (40%). À semelhança, outros autores afirmam que as corridas de curta e média distâncias favorecem ao

sangramento pulmonar (BURRELL, 1985; TAKAHASHI et al., 2001; ERICKSON e POOLE, 2007).

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

2.3 DIAGNÓSTICO

O histórico, os sinais clínicos, principalmente os detectados à auscultação, o exame endoscópico, a radiologia e o lavado broncoalveolar são as principais ferramentas utilizadas para o diagnóstico (FOREMAN, 1999; ROY e LAVOIE, 2003). O único sinal clínico da EIPH é a presença de sangue nas vias aéreas, que pode se manifestar como epistaxe ou, mais freqüentemente, passar despercebida (TEJERO, 2001).

2.3.1 Aspecto Clínico do “cavalo sangrador”

Os sinais clínicos associados com EIPH são, basicamente, diminuição do rendimento atlético e a presença de epistaxe. Esta última, entretanto, ocorre somente em 0,25 a 13% dos cavalos de corridas acometidos de EIPH (ERICKSON e POOLE, 2003). A epistaxe em equinos não deve ser considerada somente um sangramento nasal, e sim, um sinal de hemorragia em alguma área do aparelho respiratório que é drenada para a cavidade nasal. Ela pode ocorrer durante ou logo após o exercício, sendo freqüentemente

notada ao final do exercício, particularmente, quando o animal retorna à cocheira e lhe é permitido baixar a cabeça. Ela pode ser bilateral ou não, e se resolve dentro de algumas horas ou pode ainda recidivar (BACCARIN, 2005).

A conseqüência no desempenho atlético é contraditória, pois há trabalhos que relatam cavalos vencedores com EIPH (MACNAMARA et al., 1990; RAINS et al., 2003), embora o grau da hemorragia pulmonar pareça ser o fator limitante da capacidade de exercício do animal (EPPINGER, 1990).

Exceto pela pequena proporção de cavalos que apresentam epistaxe e o baixo rendimento atlético de alguns animais afetados há poucas anormalidades detectáveis no exame físico de rotina dos animais com Hemorragia Pulmonar Induzida por Exercício. A freqüência cardíaca e respiratória, assim como a temperatura retal podem estar elevadas logo após o exercício, e não estar relacionadas à hemorragia pulmonar, já que retornam à normalidade no período de repouso imediato (BACCARIN, 2005).

Os cavalos afetados podem deglutir e tossir mais freqüentemente, durante a recuperação do exercício devido à presença de sangue na faringe e laringe, embora a tosse seja uma observação comum em cavalos que estão se recuperando de exercícios extenuantes (RAINS et al., 2003). Dispnéia é rara em cavalos sangradores e, quando presente, indica hemorragia severa ou outras doenças pulmonares como pneumonia, pneumotórax ou ruptura de abscessos pulmonares (BACCARIN, 2005).

2.3.2. Exame endoscópico

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

realização do procedimento no segmento proximal e medial da traquéia. Já os aparelhos com 1,50 m de extensão e com 10 mm de diâmetro permitem broncoscopia, em cavalos adultos (SWEENEY, 1997). Para as broncoscopias, os animais devem estar bem contidos, evitando movimentos laterais com a cabeça. O endoscópio é então introduzido pelo meato nasal ventral, pela narina direita ou pela esquerda. De maneira seqüencial, as estruturas anatômicas do trato respiratório anterior são avaliadas durante a introdução do instrumento, das narinas à laringe. Depois, avança-se o endoscópio para a traquéia e avalia-se o lúmem traqueal, até a carina (MICHELOTTO, 1993). O exame da traquéia não requer anestesia adicional. A tosse usualmente não é induzida até proximidades da carina, porém 10 ml de cloridrato de lidocaína a 2%, infundida pelo canal de trabalho do endoscópio pode diminuir, mas não cessar completamente a tosse (SWEENEY, 1997). A traquéia estende-se da laringe à carina, na qual divide-se em brônquio principal direito e esquerdo. A traquéia é de aproximadamente 75 a 80 cm de comprimento e tem em média 7 cm de diâmetro. É formada por 50 a 60 anéis cartilaginosos incompletos, os quais são facilmente vistos durante o exame endoscópico. Os brônquios principais direito e esquerdo são formados pela bifurcação da traquéia e localizados dentro do tórax na altura na quinta costela (VOSS e SEAHORN, 2004).

Para Waldridge et al. (2006) o procedimento é rápido, com mínimo desconforto para o animal e traz informações valiosas pela visualização das vias aéreas no momento da passagem do endoscópio.

A presença de sangue nas vias aéreas pode ser observada um a três dias após o exercício, na maioria dos cavalos, ou até mesmo sete dias depois dos episódios de hemorragia (HINCHCLIFF et al., 2004). O exame endoscópico é utilizado também para estimar a severidade da EIPH. A quantidade de sangue nas vias aéreas pode variar de acordo com o grau de gravidade da hemorragia. A classificação utilizada nos hipódromos brasileiros baseia-se no volume de sangue observado e sua distribuição ao longo das vias aéreas (EPPINGER, 1990; BACCARIN, 2005).

São observados os seguintes graus de EIPH segundo estes autores:

- ✓ **Grau I:** presença de pequenas estrias e/ou coágulos situados no terço distal da traquéia.
- ✓ **Grau II:** filetes de sangue distribuídos aleatoriamente (não uniforme) por toda extensão da traquéia, coágulos maiores.
- ✓ **Grau III:** sangue distribuído uniformemente por toda extensão da traquéia.
- ✓ **Grau IV:** quantidade abundante de sangue por toda a traquéia, laringe, faringe, fossas nasais.
- ✓ **Grau V:** exacerbação do grau anterior e epistaxe.

2.3.3 Citologia

O exame citológico das vias aéreas posteriores pode ser realizado através do lavado transtraqueal, do aspirado traqueal, do lavado traqueobrônquico, ou do lavado broncoalveolar (BAL), auxiliando na avaliação das doenças do trato respiratório (FOGARTY, 1990; GONÇALVES et al., 2004, BIAVA et al., 2006c). Os lavados realizados por via transtraqueal e o aspirado traqueal são mais indicados para colheita microbiológica e apresentam maior contaminação com sangue pela perfuração cutânea (GONÇALVES, 1987). O lavado broncoalveolar envolve a lavagem das vias aéreas posteriores, guiada por endoscópio ou pela introdução de sonda, às cegas, em um brônquio (SPEIRS, 1997; SWEENEY e BEECH, 1991; ZINKL**,** 1992). A utilização da técnica de lavado broncoalveolar (BAL) com auxílio de endoscopia é importante instrumento na avaliação citológica das vias aéreas posteriores, permitindo diagnóstico mais preciso das afecções respiratórias em eqüinos. A grande vantagem do uso da endoscopia para a coleta do BAL é visualizar as estruturas das vias aéreas anteriores e posteriores, definindo com isso, suas alterações anatômicas (ROY e LAVOIE, 2003; BIAVA, et al., 2006c), além de classificar a intensidade da hemorragia pulmonar (ERICKSON e POOLE, 2003).

Fogarty (1990) rediscutindo a técnica de lavado broncoalveolar anteriormente descrita, afirmou que ela consiste em: através de um tubo plástico na traquéia, introduzir um cateter até a quarta ou quinta bifurcação bronquial, infundir 180 ml de solução fisiológica e imediatamente aspirar, recuperando pelo menos 45 ml do líquido inoculado. Os macrófagos são as

células predominantemente recuperadas, seguidos dos linfócitos, neutrófilos, eosinófilos e mastócitos. Células epiteliais também podem ser recuperadas (COWELL e TYLER, 1992; SPEIRS, 1997; HEWSON e VIEL, 2002). Não foram observadas lesões histopatológicas no pulmão de animais que foram submetidos ao lavado broncoalveolar (FOGARTY, 1990).

O BAL é a técnica mais sensível para avaliar o meio celular dentro de um segmento de brônquio, bronquíolos e alvéolos, sendo considerado o método mais adequado para avaliar as vias aéreas distais (FORGARTY e BUCKLEY,1991; CLARK et al., 1995). A interpretação citológica varia com o método de coleta da amostra e a técnica de processamento utilizada (HEWSON e VIEL, 2002; BIAVA et al., 2006b), assim como tipo, volume e pH do fluído inoculado, diâmetro do material de coleta e o tempo de estocagem da amostra antes do processamento (MCGORUM et al., 1993).

Moore (1996) utilizando a técnica de lavado broncoalveolar para o diagnóstico de afecções respiratórias em eqüinos considerou que ela não é o melhor método para as doenças de caráter difuso, já que os espécimes coletados representam uma porção bastante focalizada do pulmão.

Para melhor avaliação citológica, o uso da citocentrífuga é recomendado, pois pode concentrar um grande número de células por campo, formando um botão que facilita a visualização e identificação celular. O volume infundido influencia de modo negativo na contagem total e diferencial das células e na concentração de células recuperadas, ou seja, quanto maior o volume infundido menor será a concentração de células (HEWSON e VIEL, 2002). A avaliação citológica é feita pela contagem diferencial de macrófagos, linfócitos, neutrófilos, eosinófilos e células epiteliais cilíndricas (SWEENEY et al., 1992; CLARK et al., 1995).

A avaliação da população celular do líquido recuperado pela técnica de BAL pode indicar processos inflamatórios, quando houver aumento do número de neutrófilos; processos alérgicos, parasitários e fúngicos, quando houver aumento de eosinófilos; atesta a hemorragia pela presença de macrófagos alveolares fagocitando eritrócitos ou de hemossiderófagos quando houver hemossiderina em seu citoplasma (COWELL e TYLER, 1992; BIAVA et al., 2006b). É comum observar-se células gigantes multinucleadas com hemossiderina em cavalos de corrida, portadores de episódios recorrentes de

EIPH (HEWSON e VIEL, 2002). Segundo Mckane e Slocombe (1999), são observados poucos hemossiderófagos nos primeiros três dias após a hemorragia pulmonar. Estes autores relatam grande quantidade de hemossiderófagos e mesmo de eritrócitos, totalmente preservados, 14 dias após a hemorragia, o que, caracteriza a dificuldade do sistema mucociliar e fagocitário em remover os vestígios da hemorragia. Referem ainda, que foi observado um pequeno número de hemossiderófagos no lavado broncoalveolar, realizado 21 dias após a hemorragia pulmonar.

Doucet (1998) concluiu que a presença de hemossiderófagos em secreções coletadas por aspirado traqueal ou lavado broncoalveolar, por endoscopia, é definitiva para se diagnosticar a hemorragia pulmonar induzida por exercício, mostrando também relação significativa entre a hemorragia pulmonar e a presença de hemossiderófagos no exame citológico.

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

2.3.4 Citologia x Histopatologia

Rossier et al. (1991) observaram correlação positiva entre o exame citológico de material colhido por lavado broncoalveolar e os achados histopatológicos de cavalos com afecções respiratórias. O autor encontrou no lavado broncoalveolar de cavalos clinicamente com pneumonia e pleuropneumonia, resultado discrepante entre as observações clínicas e as células encontradas. O resultado desse trabalho deve ter sido influenciado pelas grandes variações no volume de líquido recuperado no BAL e a um sistema de avaliação fundamentalmente quantitativo das células encontradas. Outro fator de erro encontrado pelo autor foi o fato do BAL, feito às cegas, recuperar células de porções específicas do pulmão, podendo não ser exatamente o foco principal da pneumonia. Uma observação evidente, mas não conclusiva, foi o aumento de neutrófilos no exame citológico. Houve diminuição

dos macrófagos e linfócitos e presença de neutrófilos degenerados. Importante observação foi a alteração no exame citológico nas secreções traqueobrônquicas de cavalos com pneumonias e sem alterações no exame citológico de BAL, indicando poder haver um resultado falso negativo.

Winder (1991) encontrou uma relação positiva entre os resultados do exame citológico de material coletado por lavado broncoalveolar e secreções respiratórias traqueais em cavalos com diagnóstico histopatológico de afecção respiratória. Concluiu que o BAL tem pequena vantagem em relação ao aspirado traqueobrônquico, contudo não o substitui. Nesse estudo também foi observada relação positiva entre o lavado broncoalveolar e os resultados do exame histopatológico, sugerindo que é possível considerar os achados de citologia como meio de diagnóstico para afecções respiratórias.

Robinson (1992) considera que BAL é melhor por introduzir o cateter até a quarta ou quinta geração de brônquios e por infundir e aspirar maior quantidade de solução fisiológica, sendo possível colher espécimes celulares de pequenos brônquios e alvéolos, sugerindo um resultado mais fidedigno.

2.4 PREDISPOSIÇÕES ANATÔMICAS E FISIOLÓGICAS DO PULMÃO EQÜINO À HEMORRAGIA PULMONAR INDUZIDA POR EXERCÍCIO

Muitos estudos provaram que a origem do sangue na hemorragia pulmonar induzida por exercício vem dos pulmões (TAKAHASHI et al., 2001; RAINS et al., 2003; BARAKZA e DIXON, 2004). Segundo Rains et al. (2003) o aspirado traqueal e o lavado broncoalveolar podem estar tingidos de vermelho ou marrom após episódios recentes de EIPH, assim como pode haver hemossiderófagos encontrados pela citologia. Entretanto com o advento da endoscopia sabe-se que 14 a 75% dos cavalos de corrida têm EIPH (TAKAHASHI et al., 2001).

Estudos realizados por vários autores sugerem que o sangramento ocorre no lobo caudal pulmonar e resulta da ruptura de capilares alveolares (O'CALLAGHAN et al., 1987; PASCOE, 1997; WEST et al., 1997). Muitos trabalhos concordam que o aumento da pressão pode levar à ruptura dos capilares e conseqüentemente hemorragia, entretanto, este mecanismo em cavalos de corrida pouco conhecido (BIRKS et al., 1997; MOORE,1996). O

pulmão de cavalos afetados por EIPH, observados após exercício máximo, revela falência dos capilares pulmonares, incluindo ruptura no endotélio capilar e alveolar, acúmulo de sangue na parede e no lume alveolar, além de edema intersticial (WEISS e SMITH, 1998).

Para Schroter et al. (1998), a região afetada é possivelmente a mais distendida no pulmão e comumente a que apresenta maior pressão. Para Newton et al. (2005) e Pascoe (1997) o impacto provocado pelos órgãos abdominais dos cavalos, que são volumosos e móveis, sobre o diafragma e pulmões durante o apoio dos membros anteriores, nos exercícios de alta intensidade contribui para o aparecimento de EIPH. Os choques contínuos levariam à lesão capilar e conseqüentemente à hemorragia. Esta teoria é chamada “teoria do pistão” (ATTENBURROW, 1983; BRAMBLE e CARRIER, 1983; TEJERO, 2001). A relação entre parede do tórax no cavalo, movimentos do abdômen e diafragma é extremamente complexa (BRAMBLE e CARRIER, 1983).

Programas computacionais têm sido desenvolvidos para demonstrar que as ondas de choque produzidas pela locomoção ocorrem com mais freqüência na região dorso-caudal do pulmão (SCHROTER et al., 1998). No entanto, outros estudos mostram que há ruptura dos capilares pulmonares, mesmo em cavalos submetidos a exercício em piscinas, sugerindo que a causa da EIPH não é especificamente o impacto com o solo ou trauma pulmonar (BIRKS et al., 2003).

III – OBJETIVOS

Com a finalidade de estabelecer a incidência e intensidade de EIPH, em cavalos atletas e a necessidade de método diagnóstico complementar para identificar os animais sangradores, são objetivos deste trabalho:

– avaliar endoscopicamente as vias aéreas inferiores dos eqüinos da raça Quarto de Milha após a prova ou treino, em três diferentes modalidades esportivas: seis balizas, três tambores e laço em dupla; buscando evidências de hemorragia;

– avaliar citologicamente, considerando a presença e a quantidade de macrófagos com hemossiderina intracitoplasmática (siderófagos), as amostras colhidas por lavado broncoalveolar às cegas, depois de realização de endoscopia;

– relacionar cavalos EIPH positivos pela contagem percentual de macrófagos com hemossiderina intracitoplasmática e o escore THS baseado na impregnação por Azul da Prússia, em citoplasma de macrófagos alveolares.

IV - MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 ANIMAIS

Utilizou-se 60 eqüinos clinicamente sadios, da raça Quarto de Milha (QM), entre 2 e 8 anos de idade, de ambos os sexos, provenientes de Curitiba e região metropolitana, Estado do Paraná. Todos eles eram participantes de provas de Seis Balizas (SB) e Três Tambores (TT) e de Laço em Dupla (LD), independentemente de antecedentes de EIPH.

Todos os animais foram avaliados quanto ao histórico de hemorragias anteriores, infecções respiratórias recentes e tratamento efetuado. O exame físico foi baseado no modelo de exame do aparelho respiratório de GONÇALVES (2004). Todos os animais foram examinados após treino, segundo a ficha que segue em anexo. Os animais foram divididos em dois grupos de acordo com o tipo de prova a que eram submetidos. Desta maneira, os animais foram arranjados em dois grupos:

Grupo 1: Animais que participavam de seis balizas onde o competidor tem que contornar as seis balizas no menor tempo possível, tempo ideal de 17 segundos. Já as provas de três tambores o competidor que contornar os três tambores disposto em posição de triângulo no menor tempo possível é o vencedor, tempo ideal de 21 segundos. Foram utilizados 40 animais participantes de ambas modalidades, sendo: 9 machos, 12 machos castrados e 19 fêmeas.

Grupo 2: Animais que participam de provas de laço em dupla, onde dois cavaleiros saem para laçar um bezerro, um a cabeça e outro os pés, também no menor tempo possível. Foram utilizados 20 animais, sendo 4 machos, 13 machos castrados e 3 fêmeas.

Todos os animais foram submetidos ao exame clínico e endoscópico das vias aéreas posteriores após 30 a 60 minutos do treino com duração de uma hora. Logo após a retirada do endoscópio foi introduzida uma sonda bivona até o brônquio principal onde se realizou o lavado broncoalveolar.

4.2 INSTALAÇÕES E CONDIÇÕES AMBIENTAIS

Os cavalos eram mantidos em piquetes durante o dia e encocheirados à noite, alimentados com feno, ração comercial e água "*ad libitum"* e*,* vermifugados a intervalos de 60 dias. O regime de exercícios era de uma hora diária, seis dias na semana, incluindo a participação em campeonatos de seis balizas, três tambores e laço em dupla. As cocheiras variavam entre modelos abertos e fechados, porém todas com cama de serragem e expostas a ventos frios, poeiras, materiais irritantes ou até mesmo calor. O tamanho delas variava entre 12,5 a 15 m^2.

4.3 EXAME ENDOSCÓPICO

4.3.1 Equipamento

O aparelho adotado para a realização das endoscopias foi um colonoscópio de fibra óptica flexível, com 1,60 m de comprimento útil e 12,80 mm de diâmetro externo[1]. Utilizou-se uma fonte de luz halógena[2] de 250 watts, com intensidade de iluminação ajustável.

4.3.2 Contenção dos Animais

O exame endoscópico foi realizado com o animal consciente, isto é, sem sedativos. O uso de “cachimbo” no lábio superior, abaixo da narina oposta à passagem do endoscópio, ou na base da orelha, foi o procedimento adotado para a contenção. Para tal manobra foram necessários dois auxiliares, sendo um para fazer a contenção e outro para guiar o aparelho.

4.3.3 Técnica da endoscopia

Pela endoscopia inspecionaram-se as vias aéreas anteriores avaliando-se os movimentos das cartilagens aritenóides, presença ou ausência de hiperplasia folicular linfóide, de secreções e ou sangue nas porções proximal, medial e distal da traquéia. Alterações anatômicas como edema e coloração de brônquios principais também foram avaliadas.

---

[1]Fujinon, modelo COL-MP2
[2]Ferrari medical – São Paulo

4.3.4 Avaliação da hemorragia pulmonar induzida por exercício pela endoscopia

A avaliação endoscópica da EIPH baseou-se na presença e quantidade de sangue encontrada na superfície mucosa da traquéia proximal, medial, distal e dos brônquios principais. Utilizou-se a escala de intensidade EIPH de Eppinger (1990):

Grau I: presença de pequenas estrias e/ou coágulos situados no terço distal da traquéia.

Grau II: filetes de sangue distribuídos aleatoriamente (não uniforme) por toda extensão da traquéia, coágulos maiores.

Grau III: sangue distribuído uniformemente por toda extensão da traquéia.

Grau IV: quantidade abundante de sangue por toda a traquéia, laringe, faringe, fossas nasais.

Grau V: exacerbação do grau de anterior e epistaxe.

4.4 EXAME CITOLÓGICO

4.4.1 Lavado broncoalveolar

Após a inspeção das vias aéreas retirou-se o endoscópio e introduziu-se um cateter de silicone[1] às cegas, até um brônquio, para exame citológico. Quando o cateter de silicone atingiu a Carina e ocorre o reflexo de tosse involuntário, infundiu-se 20 ml de cloridrato de lidocaína 2%. A sonda foi redirecionada e introduzida até se verificar que não havia mais progressão no brônquio. A seguir, fixou a sonda no brônquio enchendo-se o balão de sua ponta com ar. Para a realização do lavado inoculou-se 100 ml de solução fisiológica 0,9%, distribuídos em duas seringas descartáveis de polietileno, com capacidade de 60 ml. O líquido introduzido foi removido rapidamente por sucção, com uma das seringas de 60 ml. O conteúdo recuperado foi reinfundido e aspirado de 3 a 4 vezes, sendo devidamente identificado.

[1]Bivona, Smiths, Reino Unido

4.4.2 Transporte e conservação do lavado broncoalveolar

Após homogeneização a amostra foi dividida em duas partes, sendo uma alíquota de 3ml depositada em seringa descartável, para exame citológico quantitativo do BAL e, o restante do fluído, foi mantido na seringa da colheita. Ambas as amostras foram armazenados em caixa de isopor com gelo em temperatura de 0 a 4^{o}C e encaminhadas imediatamente ao Laboratório de Anatomia Patológica do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná (HC/UFPR).

4.4.3 Preparo das lâminas

As amostras foram pré-centrifugadas em centrífuga por 20 minutos para a obtenção de um concentrado celular. Após desprezar o sobrenadante e ressuspender as células, 200µl deste líquido foram processados em citocentrífuga[1], 250 x G durante 10 minutos. O botão celular formado na lâmina foi corado pelas técnicas de Giemsa, Papanicolau e Azul da Prússia (KEEBLER e SOMKAK, 1993).

4.4.4 Avaliações da EIPH pela citologia

Nos dois grupos foram utilizadas duas técnicas para confirmar citologicamente os cavalos EIPH positivos, mesmo aqueles que não apresentavam histórico de hemorragia pulmonar ou não apresentavam nenhum grau de sangramento visível ao endoscópio, após o treino. A primeira foi a diferenciação de células, contando-se o total de 300 células por microscopia óptica com aumento de 400 vezes identificando-se macrófagos, linfócitos, neutrófilos, eosinófilos, mastócitos e células epiteliais. Do total de macrófagos contou-se a porcentagem hemossiderófagos utilizando-se coloração especial de Azul da Prússia (EPPINGER, 1990). Foram considerados EIPH positivos os cavalos com mais de 15% de macrófagos com hemossiderina no seu citoplasma.

[1]Revan Citocentrífuga 2000 D

Outra técnica utilizada foi baseada na intensidade de coloração azul dos hemossiderófagos, corados por Azul da Prússia, baseada na classificação proposta por Doucet e Viel (2002). Estes autores consideraram quatro graus de intensidade de coloração que, ao final, eram convertidos na unidade THS (total hemosiderin score).

Grau 0: Ausência de coloração azul no citoplasma.

Grau 1: Azul claro no citoplasma.

Grau 2: Cor azul densa em menor proporção no citoplasma ou cor de média intensidade na célula.

Grau 3: Azul escuro na maior parte do citoplasma.

Grau 4: Célula totalmente preenchida com hemossiderina no citoplasma.

Para esta classificação foram contados 300 macrófagos em vários campos da lâmina e destes, contou-se o número de hemossiderófagos de cada grau, de acordo com a intensidade de cor, utilizando-se a escala acima.

Golde et al., (1975) mostraram a sensibilidade e especificidade deste método como segue (DOUCET e VIEL, 2002):

Quadro 1 - Sensibilidade e especificidade do THS em cavalos de corrida

THS	**Sensibilidade (%)**	**Especificidade (%)**
>150	60	100
>100	84	92
>75	94	88
>50	98	76
>25	100	56

Doucet e Viel (2002) afirmaram que intensidade de coloração maior que 25 THS é indicativa de hemorragia pulmonar, sendo um exame mais sensível do que o exame endoscópico. Baseado nestes autores, resolveu-se adotar este limite para se considerar um cavalo portador de EIPH.

4.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Foi utilizada na etapa inicial da análise, para tomarmos contato com os dados, de maneira a observar, identificar e descrever pontos isolados, com o objetivo de obter conclusões para a confirmação de EIPH: Teste qui-quadrado (X^2), T de Student e correlação. Para a análise dos resultados citológicos, utilizou-se a prova não-paramétrica de Kruskal – Wallis com o cálculo da estatística H (distribuição χ^2) e seus respectivos "*p value*". Nos casos em que $p<0,05$, a diferença foi considerada significativa e foram efetuados contrastes entre os postos médios dos grupos.

Os resultados foram obtidos utilizando-se o pacote Software "R" (R Development Core Team (2006), em equipamento digital, no centro de computação eletrônica da Universidade Federal do Paraná/UFPR/PR.

V – RESULTADOS

5.1 ANIMAIS EXAMINADOS

Todos os animais da raça Quarto de Milha foram avaliados quanto ao exame clínico, endoscópico e citológico do lavado broncoalveolar após treino de uma hora. Ao exame clínico nenhum animal apresentou alterações quanto aos valores de freqüência cardíaca, respiratória, tempo de preenchimento capilar e temperatura.

Ao exame endoscópico nenhum dos animais apresentou evidências de hemorragia, apenas a presença de secreções ao longo das vias aéreas (Quadro 2).

5.2 CONDIÇÕES AMBIENTAIS

As coletas do BAL foram realizadas entre o período de novembro de 2005 a julho de 2007. As endoscopias foram realizadas no haras Renascença em Tijucas do Sul e sempre das 7:00 às 11:00 da manhã. Todos os animais são atletas e participaram de provas dois dias antes a coleta.

5.3 ACHADOS ENDOSCÓPICOS DAS VIAS AÉREAS

Observou-se secreção traqueal em 20 animais do grupo 1 (50%). Destes, 07 apresentaram secreção no terço proximal, 07 no terço médio, 04 no terço distal e 02 em toda extensão da traquéia. Dos 15 animais do grupo 2 (75%), 04 apresentaram secreção no terço proximal, 05 no terço médio, 03 no terço distal e 03 em toda extensão da traquéia.

Dos achados anatômicos encontrados quatro animais mostravam-se com bifurcação traqueal hiperêmica, dois com edema de brônquios principais, dois com anormalidades no funcionamento da cartilagem aritnóide esquerda com grau 2 de intensidade, um castrado e uma fêmea, doze com hiperplasia folicular linfóide (2 com dois anos; 2 com 3 anos e 1 com 4 anos de idade) e dois com deslocamento dorsal de palato mole, sendo um macho e uma fêmea.

A secreção traqueobrônquica visualizada pela endoscopia era de aspecto mucopurulento em todos os animais positivos.

Quadro 2: Achados endoscópicos em cavalos quarto de milha após treino de uma hora.

	Grupo 1				Grupo 2			
Número	Secreção Traqueal	HL	HFL	Brônquios principais	Secreção Traqueal	HL	HFL	Brônquios principais
1	001	-	-	-	000	-	-	-
2	100	-	-	-	000	-	-	-
3	111	-	-	-	000	-	-	-
4	010	-	-	-	000	-	-	-
5	100	-	-	-	000	-	-	-
6	000	-	-	-	000	-	-	-
7	010	-	-	-	111	-	-	-
8	100	-	-	-	111	-	-	-
9	000	-	-	-	000	-	-	-
10	010	-	-	-	000	-	-	-
11	000	-	-	-	000	-	-	-
12	010	-	-	-	000	-	-	-
13	000	-	-	-	000	-	-	-
14	000	-	-	-	111	-	-	-
15	000	-	-	-	000	-	-	-
16	000	-	-	E/H	010	-	-	-
17	000	-	-	E/H	110	-	-	-
18	000	-	-	-	000	-	-	-
19	110	-	-	-	000	-	-	-
20	000	-	1	-	000	-	-	-
21	000	-	-	-				
22	000	-	-	-				
23	000	-	-	-				
24	000	-	-	-				
25	000	-	-	-				
26	000	-	-	-				
27	000	-	-	-				
28	000	-	-	-				
29	000	1	-	-				
30	111	-	-	-				
31	001	-	-	-				
32	000	1	-	-				
33	000	-	-	-				
34	000	-	-	-				
35	000	-	-	-				
36	000	-	-	-				
37	000	-	-	-				
38	000	-	-	-				
39	000	-	-	-				
40	000	-	-	-				

(-) = normal; 1= presente; (000) = ausência de secreção traqueal; Secreção Traqueal (100) = terço proximal, (010) = Terço médio; (001) = terço distal; (111) toda extensão; (110) terço proximal e distal; E=edema; H= hiperêmica; (HL)= Hemiplegia Laringeana; (HFL)= Hiperplasia Folicular Linfóide.

5.4 ACHADOS CITOLÓGICOS DO LAVADO BRONCOALVEOLAR

Na Tabela 1 e na Figura 1 está a contagem do número de hemácias e leucócitos do lavado broncoalveolar de cavalos da raça QM submetidos às provas de seis balizas e três tambores (G1) e de laço em dupla (G2). Observou-se aumento do número de hemácias do Grupo 1 (202,70 ± 138,15/µL) com relação ao G2 (132,70 ± 190,38/µL), entretanto este aumento não é significativo estatisticamente (p=0,008431). Já o número elevado de leucócitos do Grupo 1 (178,20 ± 137,37/µL) diferem estatisticamente do Grupo 2 (110,60 ± 77,49/µL) (p=0,05384).

Na Tabela 2 e Figura 2 apresenta-se o percentual das células do lavado broncoalveolar dos dois grupos. A percentagem de macrófagos do Grupo 1 (57,31%±11,24) difere do Grupo 2 (49,86%±10,11). Não se evidenciou diferença significativa entre os grupos em relação ao percentual de linfócitos, neutrófilos, eosinófilos, células epiteliais e mastócitos.

As Figuras 3 e 4 ilustram as principais células encontradas no lavado broncoalveolar de cavalos Quarto de Milha em diferentes modalidades esportivas.

A Figura 3 A mostra uma visão ampla de macrófagos alveolar, célula predominante no lavado broncoalveolar. A Figura 3 B mostra um macrófago espumoso.

A Figura 4 A e B mostram linfócitos e neutrófilos, esta célula é comum em processos inflamatórios das vias aéreas.

A Figura 5 A e B ilustram eosinófilos e células epiteliais cilíndricas presentes em menores quantidades no lavado broncoalveolar de cavalos sadios.

5.4.1 Hemorragia Pulmonar Induzida por Exercícios diagnosticada através da citologia.

A tabela 3 e figura 6 mostram a contagem percentual de macrófagos com hemossiderina intracitoplasmática e o escore THS para a classificação de cavalos EIPH positivos. Observou-se no Grupo 1, média de 11.53%±17,48 de hemossiderófagos entre os macrófagos e média de 26,06±308,57 no escore total de hemossiderina (THS). No Grupo 2, a média foi de 7,26±5,34 de

hemossiderófagos e de 12,18±9,44 THS. Pela análise estatística, ao nível de significância de 5%, é possível afirmar que a contagem percentual de hemossiderófagos obtidas no grupo 1 não difere das medidas obtidas no grupo 2 (p=0,406). Embora a contagem no escore THS do grupo 1 mostre tendência diferencial entre os grupos, não há diferença estatística significativa (p=0,256) entre eles. Desta maneira, o que se pode afirmar é que por estes métodos de avaliação de sangramento intrapulmonar, os dois exercícios apresentam intensidade semelhante, embora o grupo 1, ou seja, as provas de seis balizas e três tambores mostrem possibilidade maior de induzir EIPH.

A Tabela 4 mostra as duas classificações para identificar cavalos EIPH positivos, pela análise citológica do BAL utilizando a coloração de Azul da Prússia considerando a percentagem de macrófagos com hemossiderófagos acima de 15% e a graduação pelo escore THS. Pela percentagem de hemossiderófagos acima de 15% havia no Grupo 1 nove cavalos EIPH positivos e 2 no Grupo 2. Para a graduação THS 10 cavalos que tiveram escore superior a 25, foram considerados EIPH positivos. Já no Grupo 2 somente 3 cavalos são EIPH positivos. Esta graduação diminui a prevalência de EIHP, quando utilizamos escores superiores (50, 75, 100 e 150).

A contagem percentual de hemossiderófagos possui boa correlação (R^2=0,955) com o THS, sendo mais prática e rápida de se realizar, porém menos precisa no que se refere à quantificação da hemossiderina presente no BAL (Figura 8).

A Figura 7 A e B ilustram a presença de hemossiderina intracitoplasmática de cavalos positivos para EIPH em diferentes graus.

Os Quadros 3, 4 e 5 mostram os testes estatísticos para avaliar a sensibilidade e especificidade dos três níveis de contagem de hemossiderófagos (5, 10 e 15%), em cavalos que apresentarem THS≥25.

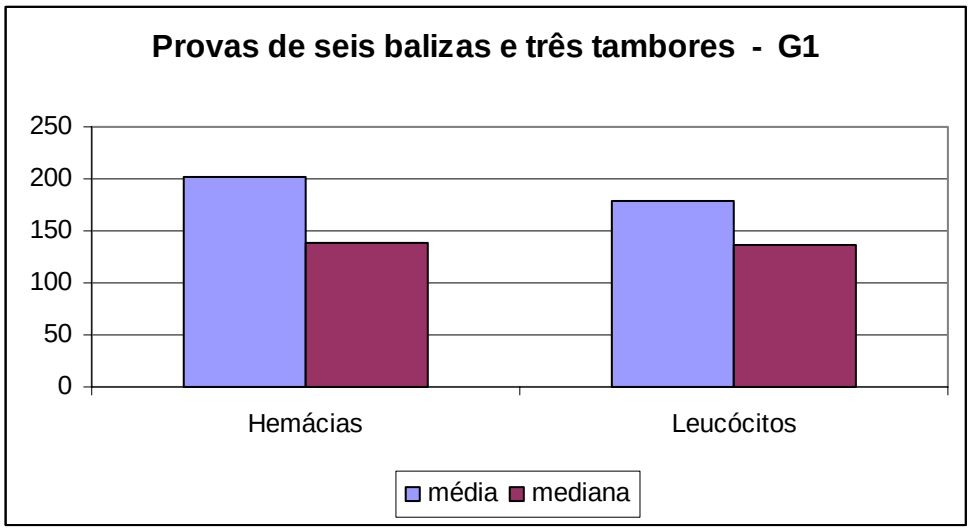
Tabela 1 - Número total de células do lavado broncoalveolar: média (m), desvio padrão (s), em cavalos da raça QM submetidos às provas de seis balizas e três tambores (G1) e de laço em dupla (G2).

Grupos de animais		*Hemácias* *nº/µL*	*Leucócitos* *nº/µL*
G1	*M*	202,70	178,20
	S	138,15	137,37
G2	*M*	132,70	110,60
	S	190,38	77,49

Análise estatística:

Variável	Estatística “H”	Comentário
HEMÁCIAS	7.985 (0.008)	G1 > G2
LEUCÓCITOS	7.403 (0.005)	G1 > G2

Figura 1 - Número total de hemácias e leucócitos do lavado broncoalveolar em cavalos da raça QM submetidos às provas de seis balizas e três tambores (G1) e de laço em dupla (G2).



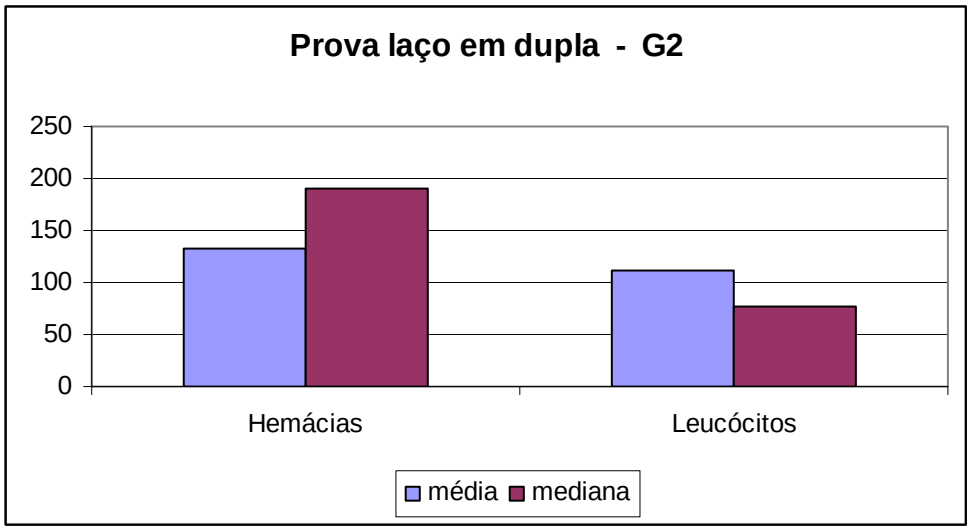


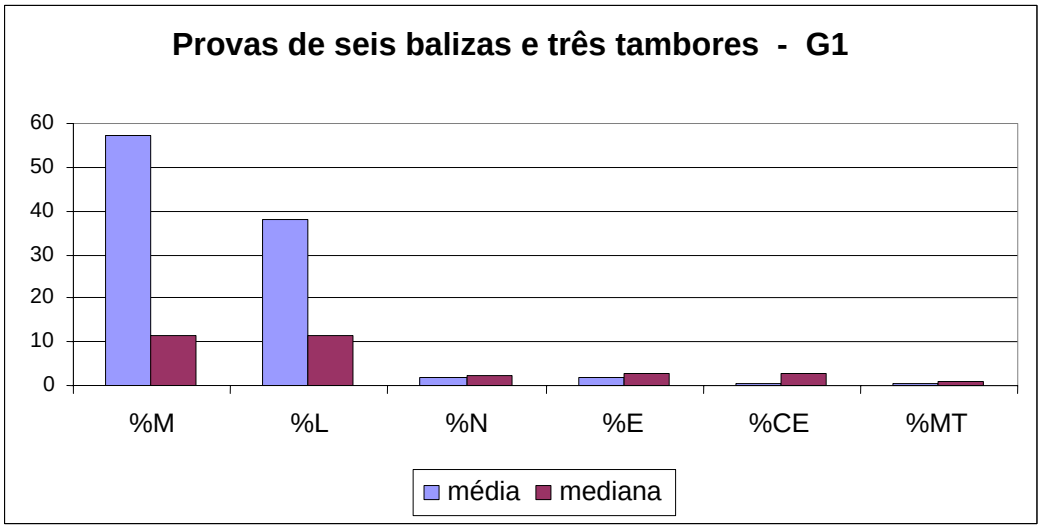
Tabela 2 - Contagem diferencial (%) de células do lavado broncoalveolar: média (m), desvio padrão (s) da porcentagem de macrófagos (M), linfócitos (L) neutrófilos (N), eosinófilos (E), células epiteliais cilíndricas (CE), mastócitos (MT) em cavalos da raça QM submetidos às provas de seis balizas e três tambores (G1) e de laço em dupla (G2).

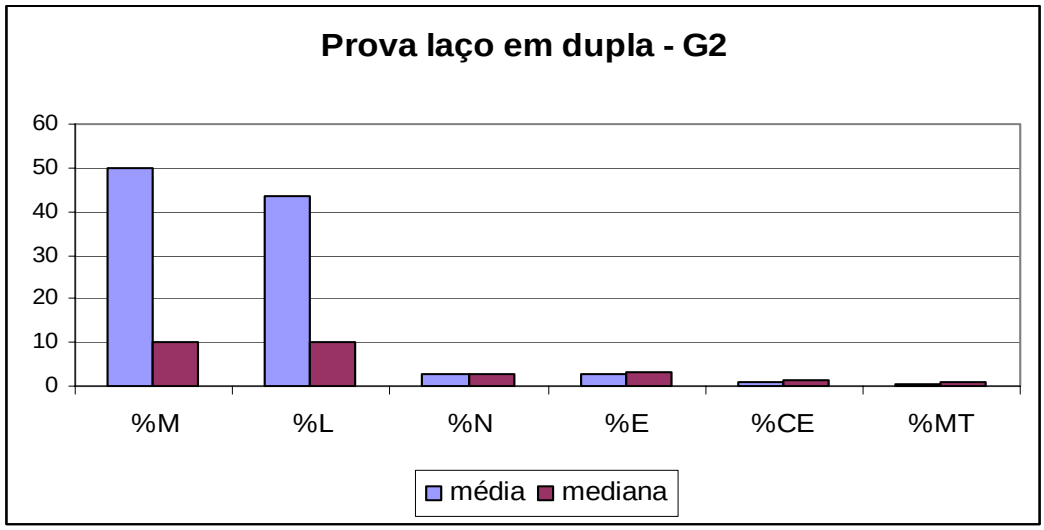
Grupos de animais		**%M**	**%L**	**%N**	**%E**	**%CE**	**MT**
G1	*m*	57,31	38,18	1,68	1,91	0,64	0,28
	s	11,24	11,29	2,37	2,54	2,70	0,79
G2	*m*	49,86	43,29	2,79	2,97	0,69	0,40
	s	10,11	10,16	2,59	3,38	1,35	0,86

Análise Estatística:

Variável	Estatística “H”	Comentário
% MACRÓFAGOS	5.533 (0.019)	G1 > G2
% LINFÓCITOS	1.477 (0.224)	G1 = G2
% NEUTRÓFILOS	2.914 (0.088)	G1 = G2
% EOSINÓFILOS	2.443 (0.118)	G1 = G2
% CÉLULAS EPITELIAIS	4.604 (0.032)	G1 < G2
% MASTÓCITOS	0.138 (0.710)	G1 = G2

Figura 2 - Contagem diferencial (%) de células do lavado broncoalveolar de cavalos da raça Quarto de milha em diferentes modalidades esportivas (G1) e (G2).





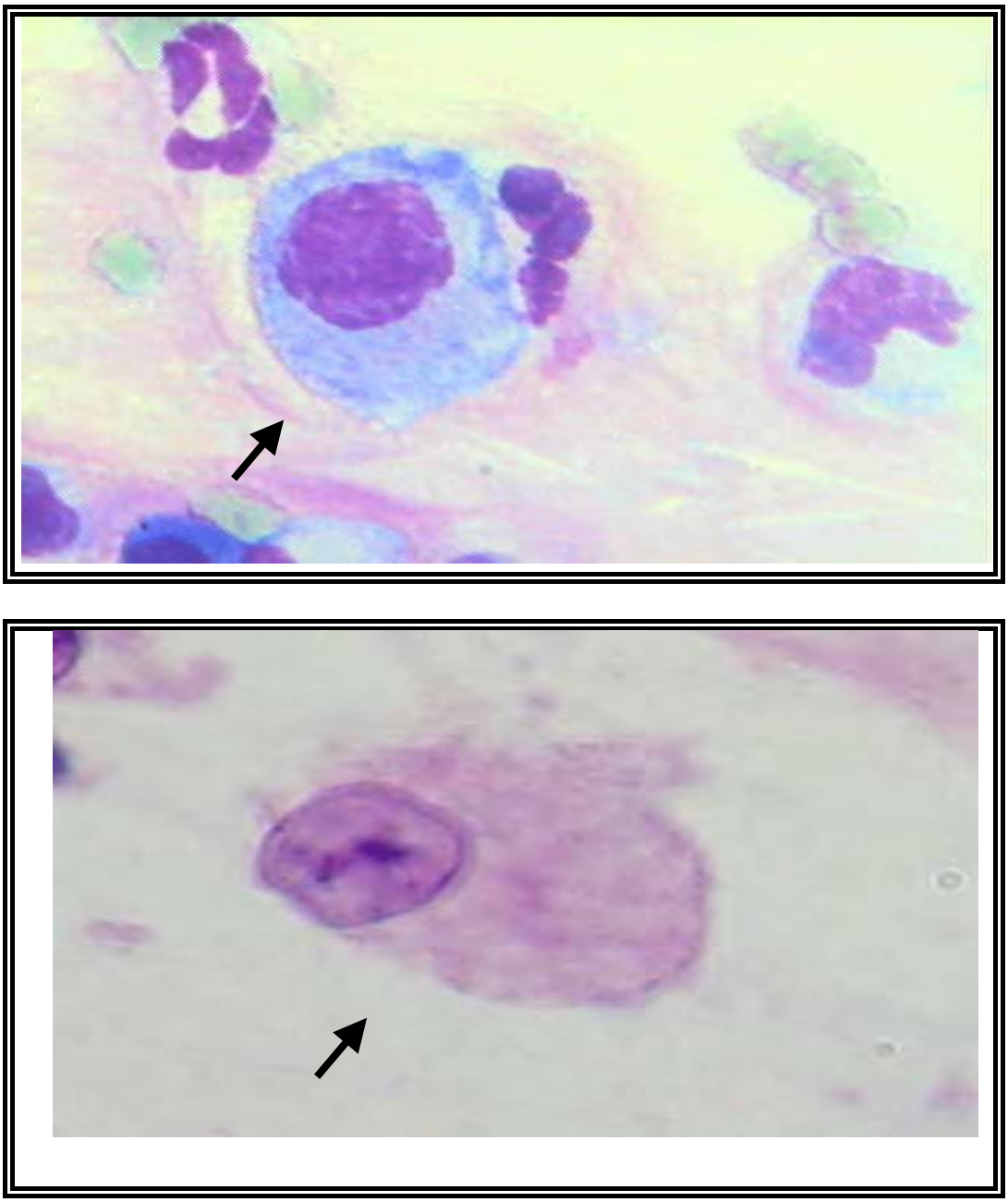
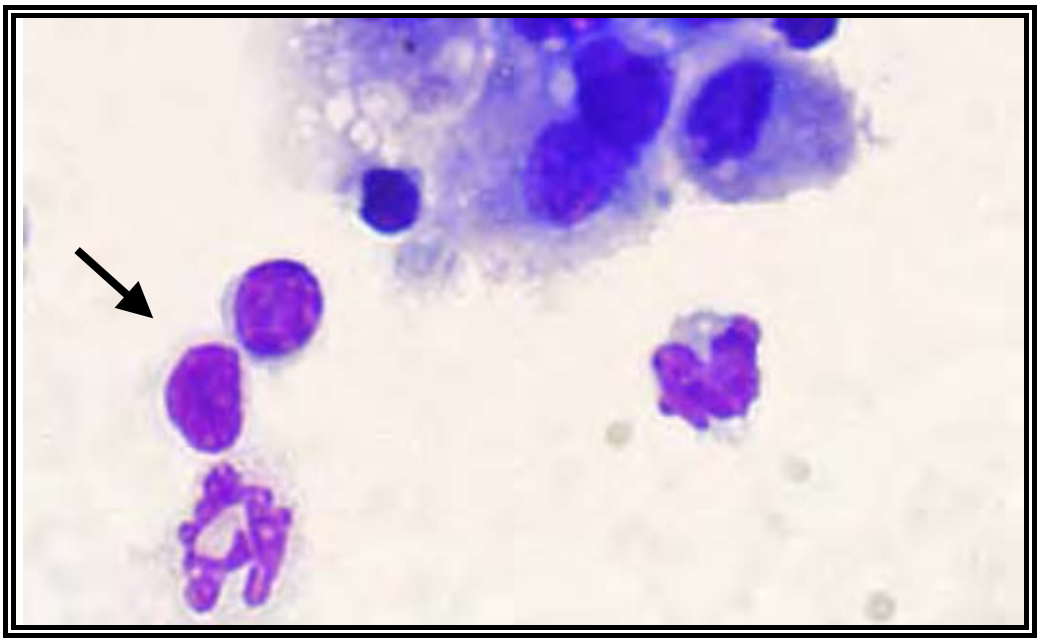
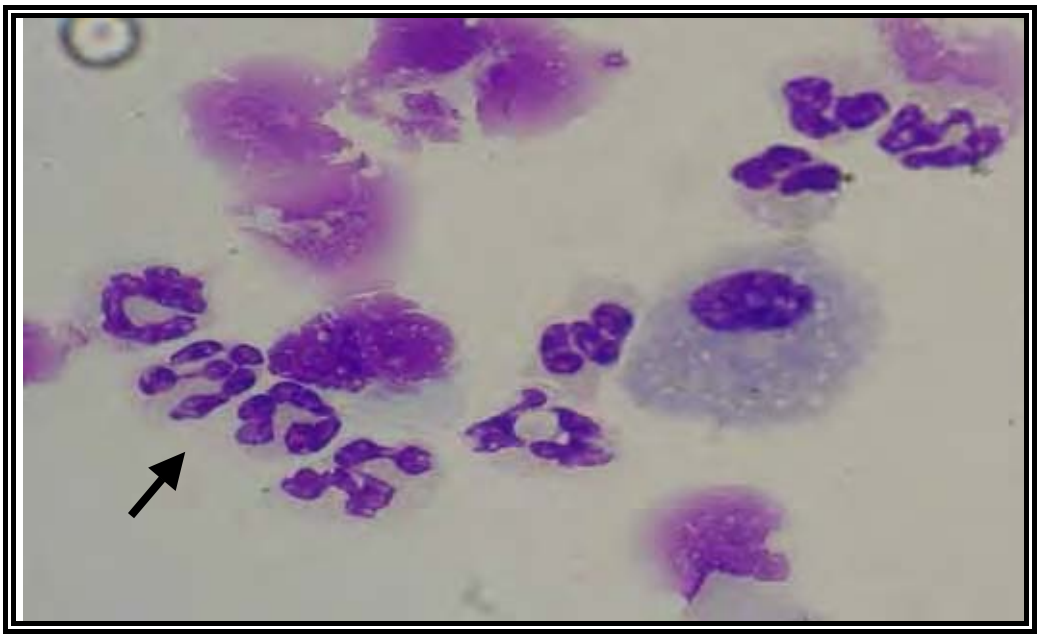


Figura 3 - Macrófago alveolar (A) e macrófago alveolar espumoso (B) de células do lavado broncoalveolar de cavalos da raça QM submetidos exercícios — Papanicolau (1000x).



A



B

Figura 4 – Linfócitos (A) e Neutrófilos (B) de células do lavado broncoalveolar de cavalos QM, submetidos ao exercício— Giemsa (1000x).

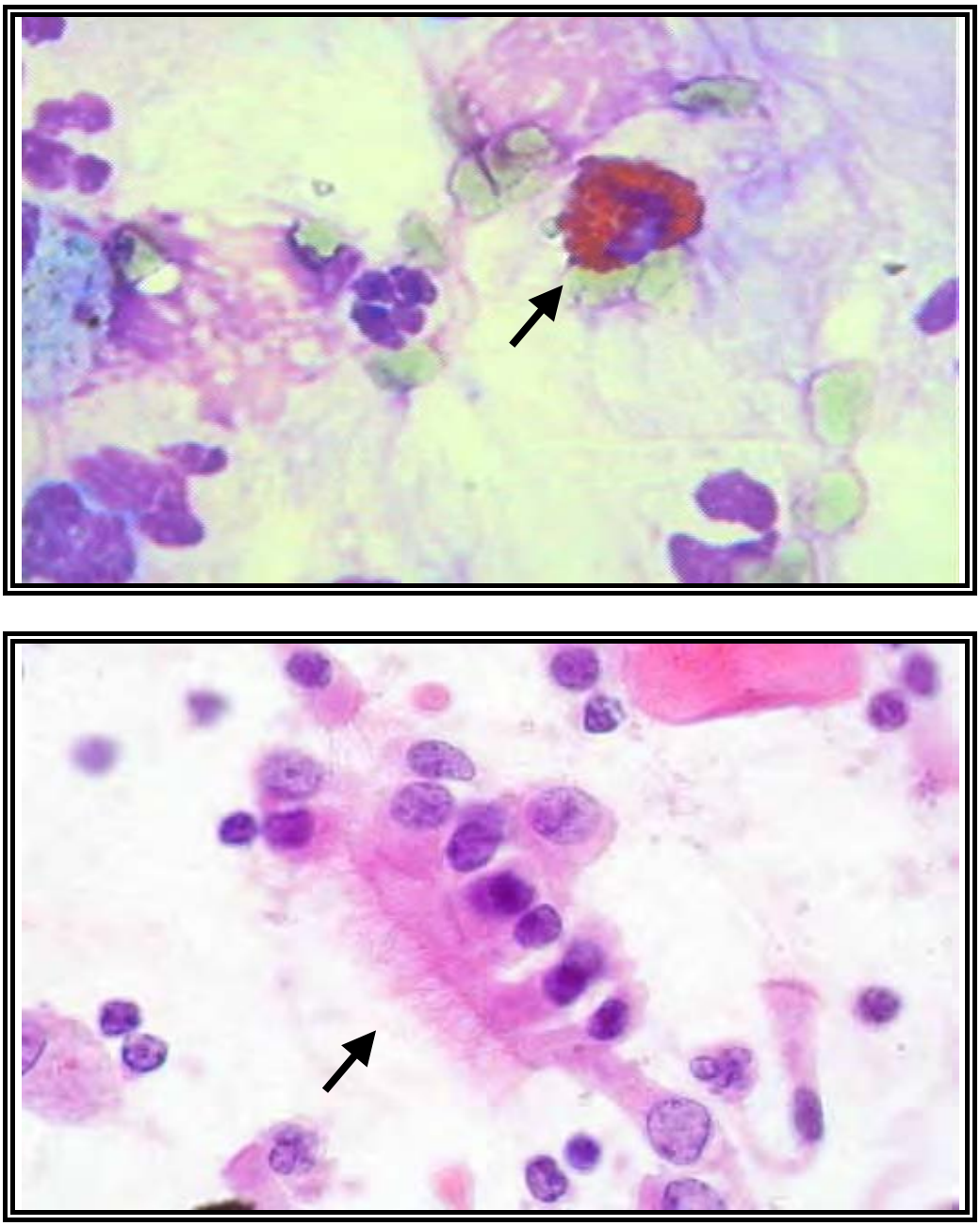


Figura 5 – Eosinófilos (A) e células epiteliais cilíndricas ciliadas (B) de células do lavado broncoalveolar de cavalos QM, submetidos ao exercício— Giemsa (1000x).

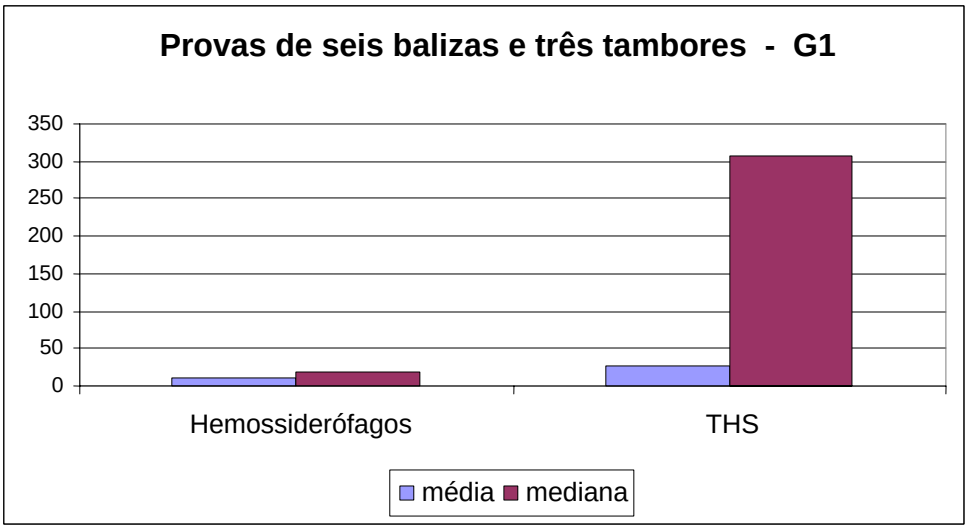
Tabela 3 - Contagem de macrófagos com hemossiderina intracitoplasmática e escore total de hemossiderófagos (THS) do lavado broncoalveolar: média (m), desvio padrão (s), em cavalos da raça QM submetidos às provas de seis balizas e três tambores (G1) e de laço em dupla (G2).

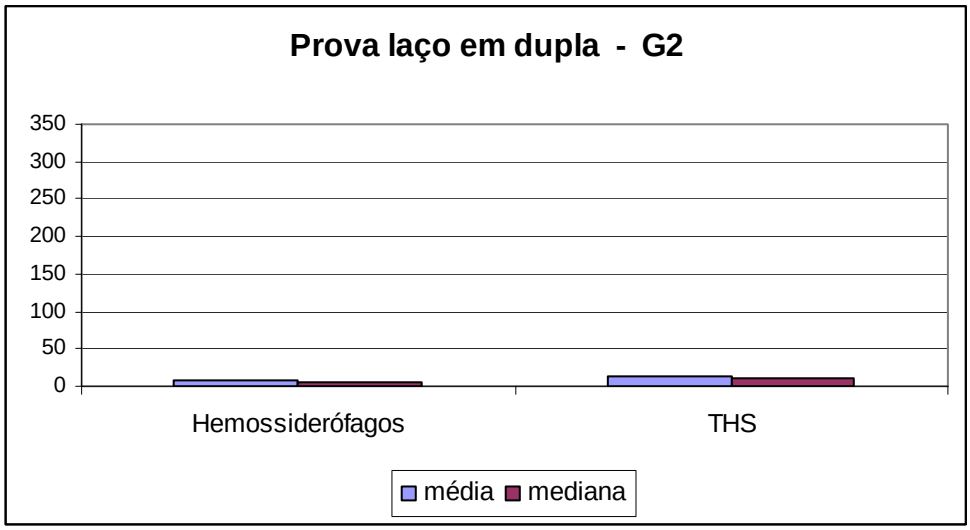
Grupos de animais		*Hemossiderófagos (%macrófago)*	*THS*
G1	*m*	11,53	26,06
	s	17,48	308,57
G2	*m*	7,26	12,18
	s	5,34	9,44

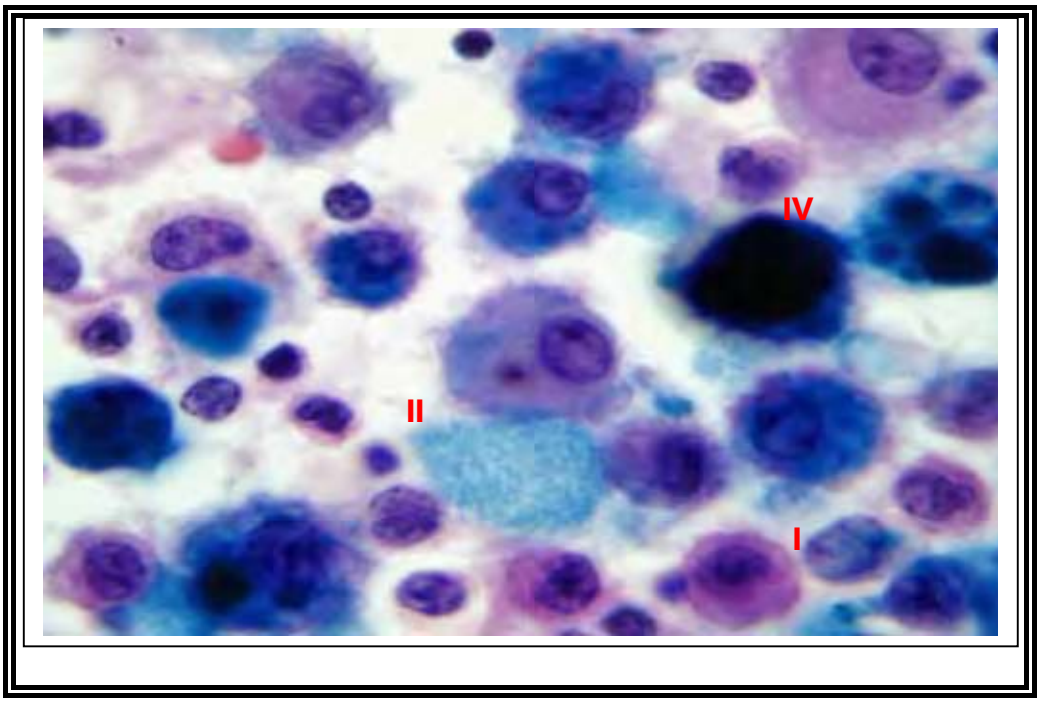
Análise estatística:

Variável	Estatística “H”	Comentário
% HEMOSSIDERÓFAGOS	0.691 (0.406)	G1 = G2
THS	1.293 (0.256)	G1 = G2

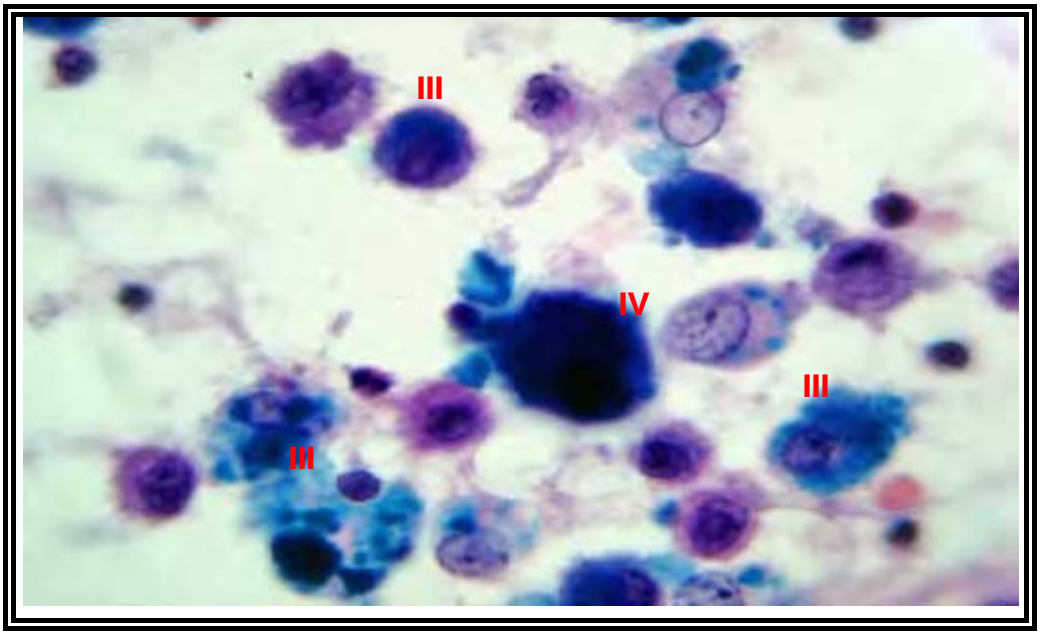
Figura 6 - Contagem de macrófagos com hemossiderina intracitoplasmática e escore total de hemossiderófagos (THS) do lavado broncoalveolar em cavalos da raça QM submetidos às provas de seis balizas e três tambores (G1) e de laço em dupla (G2).







A



B

Figura 7 – Hemossiderófago grau I; II, III e IV (A e B) de células do lavado broncoalveolar de cavalos QM, submetidos ao exercício - Giemsa (1000x).

Tabela 4 - Número de cavalos positivos para EIPH pelos métodos de contagem percentual de macrófagos e THS diagnosticados a citologia do lavado broncoalveolar.

Métodos de Contagem	**G1**	**G2**
%Hemossiferófagos >15%	9 (22,5%)	2 (10%)
THS		
>25	10 (25%)	3 (15%)
>50	7 (17,5%)	0 (0%)
>75	5 (12,5%)	0 (0%)
>100	3 (7,5%)	0 (0%)
>150	1 (2,5)	0 (0%)

Quadro 3 - Teste estatístico para avaliar a sensibilidade e especificidade de valores ≥/< 5 para a contagem percentual de hemossiderófagos

Medidas % hemossiderófagos	**Resultado EIPH**	
	Positivo	**Negativo**
PRESENTE ≥ 5	13	17
AUSENTE < 5	0	30

SENSIBILIDADE: $\frac{13}{30}$ = 0.433 ESPECIFICIDADE: $\frac{30}{30}$ = 1

Quadro 4 - Teste estatístico para avaliar a sensibilidade e especificidade de valores ≥/< 10 para a contagem percentual de hemossiderófagos

Medidas % hemossiderófagos	**Resultado EIPH**	
	Positivo	**Negativo**
PRESENTE ≥ 10	13	4
AUSENTE < 10	0	43

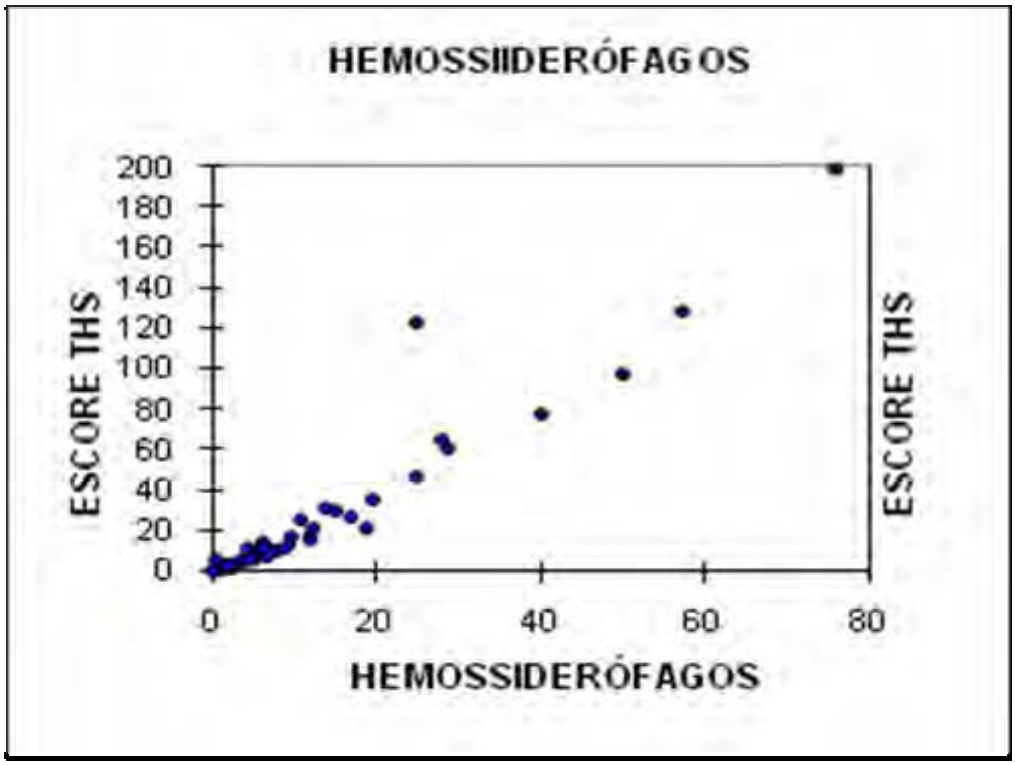
SENSIBILIDADE: $\frac{13}{17}$ = 0.765 ESPECIFICIDADE: $\frac{43}{43}$ = 1

Quadro 5 - Teste estatístico para avaliar a sensibilidade e especificidade de valores ≥/< 15 para a contagem percentual de hemossiderófagos

Medidas % hemossiderófagos	**Resultado EIPH**	
	Positivo	**Negativo**
PRESENTE ≥ 15	11	1
AUSENTE < 15	2	46

SENSIBILIDADE: $\frac{11}{12}$ = 0.917 ESPECIFICIDADE: $\frac{46}{48}$ = 0.958

Figura 8 - Diagrama de dispersão mostrando correlação (R^2=0,955) entre a percentagem de hemossiderófagos e o escore THS no lavado broncoalveolar de cavalos da raça Quarto de Milha nos dois grupos (G1) e (G2).



VI – DISCUSSÃO

Neste estudo observou-se que a avaliação clínica não mostrou alterações relevantes, uma vez que todos os animais utilizados eram saudáveis. Nossos achados são semelhantes ao de BACCARIN (2005), que demonstrou que as freqüências cardíaca e respiratória podem estar elevadas logo após o exercício e não apresentam alterações durante repouso, mesmo em cavalos com alguns graus de Hemorragia Pulmonar Induzida por Exercício.

A utilização da técnica de lavado broncoalveolar (BAL) com auxílio de endoscopia é importante instrumento na avaliação citológica das vias respiratórias posteriores, permitindo diagnóstico mais preciso das afecções respiratórias em eqüinos. A grande vantagem do uso da endoscopia para a coleta do BAL é a visualização das estruturas das vias aéreas anteriores e posteriores, definindo com isso, suas alterações anatômicas (ROY e LAVOIE, 2003). Além disso, pode-se estimar a gravidade da EIPH observando-se a quantidade de sangue presente nas vias aéreas. A epistaxe ocorre somente em 0,25 a 13% dos cavalos de corrida acometidos de EIPH (ERICKSON e POOLE, 2002). O comprimento do endoscópio adotado (1,60m) proporcionou um exame acurado da região distal da traquéia, alcançando a carina e brônquios principais de todos os cavalos da raça QM examinados. Segundo a literatura, os aparelhos de endoscopia variam de 80 cm a 1,70 m e quanto maior o comprimento do aparelho maior a precisão na detecção de EIPH (EPPINGER, 1990). Em nosso estudo, não foi observado nenhum grau de Hemorragia Pulmonar, visualmente na endoscopia, entretanto, quando se utilizou o BAL, detectou-se cavalos EIPH positivos, sendo que 22,5% dos cavalos do Grupo 1 e 10% do Grupo 2 apresentaram percentagem acima de 15% de hemossiderófagos. Já para o escore THS, estes dados podem diminuir conforme o aumento da graduação. Para graus superiores a 25, índice de positividade de hemorragia pulmonar adotado por Doucet e Viel (2002), foi observado no Grupo 1, 25% de cavalos EIPH positivos e 15% para o Grupo 2. Porém, quando se avaliou graus maiores a prevalência diminuiu em ambos os grupos (Tabela 4). Os resultados deste trabalho evidenciaram correlação de 95% entre o escore THS e a

contagem percentual de hemossiderófagos. Este fato demonstra que ambos os exames são importantes no diagnóstico de animais sangradores ou que já tiveram hemorragia pulmonar, sem substituir um ao outro. O THS é um método de diagnóstico comprovado e utilizado há bastante tempo em medicina humana (GOLDE, et al, 1975) e na medicina veterinária (McKANE et al, 1993).

Poucos são os estudos que utilizaram a avaliação de hemossiderófagos como parte da análise do BAL em cavalos. Clark et al. (1995) observaram que os hemossiderófagos podem ser utilizados no diagnóstico de hemorragias subclínicas, uma vez que o sangramento pode não ser visível pela endoscopia. De acordo com Baccarin (2005), o BAL é mais específico e sensível do que o exame endoscópico, após o exercício. Segundo este mesmo autor a endoscopia deve ser feita de 1 a 2 horas após o exercício e o BAL pode ser realizado depois de 1 a 21 dias, com a detecção de hemossiderófagos em todo este período (MAZAN e HOFFMAN, 2003; HINCHCLIFF et al., 2004). Isto faz com que aumentem as chances de diagnóstico de EIPH, entretanto em nosso estudo esta afirmação não foi possível, frente ao baixo número de hemossiderófagos presente no BAL dos cavalos da raça QM, após provas e treinos. Para Doucet e Viel, (2002) os cavalos com ou sem histórico de EIPH podem apresentar hemossiderófagos no BAL. Entretanto, a quantidade destas células assim como a intensidade da coloração azul no citoplasma pela coloração de Azul da Prússia e os achados de pelo menos três endoscopias consecutivas, podem diferenciar cavalos positivos dos negativos para a síndrome EIPH. Por este motivo, a técnica adotada por esses autores foi escolhida para o experimento.

O padrão citológico é bastante útil na interpretação e formulação de diagnóstico diferencial, ou seja, a citologia pode indicar processos inflamatórios de etiologia alérgica, fúngica, bacteriana, parasitária entre outras e até processos físicos, como no caso da hemorragia induzida por exercício (EIPH). Segundo Cowell e Tyler (1992) é difícil mensurar valores de referência para o BAL, pois a contagem pode variar conforme a técnica de coleta e processamento, porém concordamos com os autores quando afirmam que a contagem diferencial de células no BAL de cavalos clinicamente sadios mostra predomínio de macrófagos

e linfócitos (Tabela 1 e 2). Muitos desses trabalhos são realizados em cavalos de corrida e Mazan e Hoffman (2003), referem significativa diferença entre o BAL de cavalos de corrida e praticantes de outros esportes. Os cavalos da raça Quarto de Milha submetidos às provas de seis balizas, três tambores e de laço em dupla, só apresentam algum grau de sangramento, visível ao endoscópio ou a olho nu, após exercício intenso (BIAVA et al.,2006c). O sangramento pode ser detectado por endoscopia 30 a 60 minutos após o exercício, que é o tempo necessário para a drenagem do sangue, das vias aéreas mais profundas para as de grande calibre (TAKAHASHI et al., 2001). No nosso experimento, colheu-se material para análise citológica dois dias após a participação em prova de seis balizas e três tambores e, de laço em dupla, embora tenham sido submetidos a treinamento de uma hora, 30 minutos antes da endoscopia. Este artifício foi utilizado pois os proprietários dos cavalos não permitiram que se fizesse a endoscopia e o BAL logo após a prova. Como o mesmo animal participava de diferentes provas e categorias, havia o temor que houvesse diminuição no desempenho atlético do cavalo.

A citocentrífuga é um equipamento de grande valor, pois ao concentrar as células, forma um botão que favorece a visualização e identificação celular em suas diferentes colorações, conseguindo-se contar no mínimo 5 células por campo (MAZAN e HOFFMAN, 2003). Embora o alto custo limite seu uso na medicina veterinária, não se admite hoje, um laboratório terciário, que atue na pesquisa de células em líquidos, que não disponha de tal equipamento. Neste experimento, a citocentrífuga preservou a morfologia das células adequadamente, embora Lapointe et al. (1994) e Hewson e Viel (2002) citem decréscimo na porcentagem de linfócitos com o uso de citocentrífuga. Em nosso estudo, a contagem diferencial de células mostrou-se dentro dos valores esperados, nos dois grupos (SPEIRS, 1997; HEWSON e VIEL, 2002).

As colorações utilizadas permitiram a adequada visualização de todos os tipos celulares. A técnica de Papanicolau foi indispensável para a interpretação citológica, em lâminas que apresentaram grumos celulares, já que forneceu uma visualização das camadas de células especialmente macrófagos e, esta coloração mostrou também melhor caracterização celular. Houve maior eficiência da

coloração de Papanicolau em relação ao Giemsa, na demonstração de células, como os eosinófilos. A coloração especial, Azul da Prússia, foi utilizada para confirmar animais com algum grau de hemorragia pulmonar, como sugere Hewson e Viel (2002), pois identificou, com segurança, os hemossiderófagos.

A tabela 4 mostra a quantidade de hemossiderófagos nos dois grupos estudados. Com este estudo conseguiu-se estabelecer a percentagem confiável de hemossiderófagos para diagnóstico de EIPH em cavalos da raça Quarto de Milha participantes em três modalidades esportivas diferentes (seis balizas e três tambores – G1 e laço em dupla – G2). Pelo fato da intensidade de coloração de hemossiderina, medida em THS e a contagem percentual de hemossiderófagos apresentarem alto índice de correlação (R^2= 0,95) pudemos estabelecer o limite de contagem de hemossiderófagos para considerar cavalos com hemorragia pulmonar como sendo portadores de EIPH. A literatura mostra que quando um indivíduo apresenta valor de THS igual ou acima de 25 pode-se considerá-lo um portador de hemorragia aguda, seja ele humano (Gosselin e Janin, 1989) ou equino (Doucet e Viel, 2002). Portando, utilizando-se o teste estatístico para avaliar a sensibilidade e especificidade de três níveis de contagem de hemossiderófagos (5, 10 e 15%), em cavalos que apresentassem THS ≥ 25 pode-se constatar que, o melhor ponto limite seria o de 15%, já que é o que nos dá sensibilidade de 91,7 e especificidade de 95,8%. Dessa maneira, considerando-se esses limites, no Grupo 1 houve 9 casos positivos em animais com hemossiderófagos acima de 15% e, no Grupo 2 somente dois animais (Quadro 3, 4 e 5).

Por outro lado, a endoscopia não revelou nenhum animal com hemorragia nas vias aéreas e, portanto podemos inferir que tanto a contagem percentual de hemossiderófagos quanto a THS são métodos de diagnósticos mais sensíveis e específicos na detecção de cavalos com EIPH do que a endoscopia.

A utilização de cavalos da raça Quarto de Milha foi de grande importância neste estudo, pois se conseguiu estabelecer uma avaliação citológica de BAL para a raça, em provas seis balizas e três tambores (G1) e de laço em dupla (G2). O que se notou é que a contagem celular diferencial para esta raça foi semelhante

aos cavalos de outras raças e em outras modalidades esportivas (HOFFMAN e VIEL, 1997; ROY e LAVOIE, 2003).

O método de contenção física sem administração de tranqüilizantes ou sedativos foi utilizado por Cook (1974) para endoscopias das vias aéreas anteriores pois a utilização de medicações que interferem no movimento de partes das vias aéreas pode mascarar defeitos no seu funcionamento. Para a coleta do BAL destes animais optou-se pela contenção física pelo método do cachimbo, ignorando-se o uso de tranqüilizantes por diferentes motivos: o procedimento é rápido, pouco invasivo, a raça QM é dócil e permite a passagem do endoscópio somente com a lubrificação do aparelho, com lidocaína gel. Para a coleta do BAL com a sonda Bivona foram utilizados 20 ml de cloridrato de lidocaína a 2% por via intratraqueal, que reduziram a freqüência e intensidade da tosse, corroborando os achados de Westermann et al. (2005), que mostraram não ser necessária a sedação intravenosa, como referem outros autores (DOUCET e VIEL, 2002). Foi utilizada essa quantidade de cloridrato de lidocaína, pois como afirmou Sweeney (1997), dez mililitros desse anestésico não foram suficientes para cessar a tosse e, quando se passou a utilizar vinte mililitros do anestésico houve inibição total do reflexo de tosse.

VII – CONCLUSÃO

Sob as condições deste experimento e com os resultados encontrados permite-se concluir:

1) O exame endoscópico das vias aéreas posteriores realizada entre 30 a 60 minutos após treino de uma hora não foi suficiente para detectar a síndrome EIPH.
2) O exame citológico do lavado broncoalveolar, realizado após endoscopia com cateter de silicone (Bivona), foi de fundamental importância na detecção de cavalos EIPH positivos, sem histórico de sangramento.
3) A prevalência de EIPH encontrada nos exames citológicos do BAL foi baixa para a raça Quarto de Milha, participantes de provas de seis balizas e três tambores e de laço em dupla.
4) A utilização do THS foi superior à determinação da percentagem de hemossiderófagos e a endoscopia na detecção de EIPH.
5) Houve alta correlação entre o THS e a porcentagem de hemossiderófagos.
6) A coloração de Giemsa permitiu visualização, identificação e quantificação adequada dos diferentes tipos celulares.
7) A coloração Papanicolau foi melhor que a de Giemsa para a visualização de grumos celulares, bem como da avaliação nuclear.
8) A coloração Azul da Prússia permitiu visualização e contagem dos macrófagos alveolares contendo pigmentos de ferro intracitoplasmáticos (hemossiderófagos) com grande segurança.

VIII - BIBLIOGRAFIA

ART, T.; BAYLY, W.; LEKEUX, P. Pulmonary function in the exercising horse. In: LEKEUX, P. **Equine respiratory disease.** Ithaca, NY: International Veterinary Information Services, 2002. Disponível em: <www.ivis.org>. Acesso em: 07-out-2002.

ATTENBURROW, D.P. Respiration and locomotion. In: SNOW, D.H.; PERSSON, S.G.B.; ROSE, R.J. **Equine exercise phisiology.** Cambridge: Granta Editions, 1983. p.17-22.

BACCARIN, R.Y.A. Diagnóstico e tratamento das pneumopatias de esforço. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DO CAVALO ATLETA, 2., 2005, Belo Horizonte. **Anais...** Minas Gerais: Universidade Federal de Minas Gerais, 2005. p.12-28.

BARAKZAI, S.Z.; DIXON, P.M. Epistaxis in the horse. **Equine Veterinary Education**, v.16, p.207-217, 2004.

BEECH, J. Cytology of tracheobronchial aspirates in horses. **Veterinary Pathology**, v.12, p.157-164, 1975.

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

BIAVA, J.S.; GONÇALVES, R.C.; ZANOTTO, G.M.; FINGER, M.A.; FERREIRA, F.P.P.; BIONDO, A.W. Hemorragia Pulmonar Induzida por Exercício (EIPH) em cavalos da raça Quarto de Milha de provas de tambor e baliza. **Revista da Universidade Rural, Série Ciências da Vida,** v.26, supl., p.169, 2006b.

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

BIRKS, E.K.; COSTELLO, O.M.; FU, Z.; TYLER, W.S.; WEST, J.B. Very high pressures are required to cause stress failure of pulmonary capillaries in thoroughbred racehorses. **Journal of Applied Physiology,** v.82, p.1584-1592, 1997.

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

BRAMBLE, D.M.; CARRIER, D.R. Running and breathing in mammals. **Science**, v.219, p.251-256, 1983.

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

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

COOK, W.R. Some observations on diseases of ear, nose and throat in horse, and endoscopy using a flexible fibreoptic endoscope. **The Veterinary Record,** v.8, p.533-541, 1974.

COSTA, M.F.M.; THOMASSIAN, A.; BARREIRA, A.P.B.; ALVES, A.L. Avaliação preliminar do grau de hemorragia pulmonar induzida por esforço (HPIE) em animais apresentados à endoscopia por baixa performance e sua correlações com a presença de secreções traqueais. In: CONFERENCIA INTERNACIONAL DE CABALLOS DE DEPORTE – CICADE, CONFERENCE ON EQUINE SPORTS MEDICINE AND SCIENCE – CESMAS, 2003, Curitiba. **Anais...** Curitiba: Pontifícia Universidade Católica do Paraná, 2003. p.12.

COWELL, R.L.; TYLER, R.D. **Cytology and hematology of the horse.** Goleta: American Veterinary Publications, 1992. 288p.

DECONTO, I. **Zytologische und bakteriologische Untersuchungen des Tracheobronchialsekretes bei chronisch lungenkranken pferden.** 1983. Tese (Doutorado) - Hannover.

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

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

DOUCET, M.Y.; VIEL, L. Alveolar macrophage graded hemosiderin score from bronchoalveolar lavage in horses with exercise-induced pulmonary hemorrhage and controls. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v.16, p.281-286, 2002a.

DOUCET, M.Y.; VIEL, L. Clinical, radiographic, endoscopic, bronchoalveolar lavage and lung biopsy findings in horses with exercise-induced pulmonary hemorrhage. **Canadian Veterinary Journal,** v.43, p.195-202, 2002b.

EPPINGER, M. **Hemorragia pulmonar de esforço e o desempenho de eqüinos PSI {Equus caballus} em corridas de galope no jockey club do Paraná.** 1990. 167 p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba.

ERICKSON, H.H.; POOLE, D.C. Exercise-induced pulmonary hemorrhage. In: LEKEUX, P. **Equine respiratory disease.** Ithaca, NY: International Veterinary Information Services, 2002. Disponível em: <www.ivis.org>. Accesso em: 11-out-2007.

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

FORGARTY, U. Evaluation of a bronchoalveolar lavage tecnique. **Equine Veterinary Journal,** v.3, p.174-176, 1990.

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

FORTES JR., W.F. **Citologia pulmonar de eqüinos {Equus caballus} em situação de manejo estrito a campo e estabulados.** 2005. 92p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba.

GALLEY, R. H. The Team Roping Horse. In: ANNUAL CONVENTION OF THE AMERICAN ASSOCIATION OF EQUINE PRACTITIONERS – AAEP, 43., 1997, Aizona. **Anais…** Ithaca: American Association of Equine Practitioners, 1997. p. 40-45. Disponível em: <www.ivis.org>. Acesso em: 7 dez. 1997.

GOETZ, T.E.; MANOHAR, M.; GRIFFIN, R.; SULLIVAN, E. Changes in plasma electrolyte concentration of strenuously exercising thoroughbred horses untreated and treated with furosemide. In: ANNUAL CONVENTION OF THE AMERICAN ASSOCIATION OF EQUINE PRACTITIONERS – AAEP, 43., 1997, Aizona. **Anais…** Ithaca: American Association of Equine Practitioners, 1997. p.273-275. Disponível em: <www.ivis.org>. Acesso em: 7 dez. 1997.

GOLDE, D.W.; DREW, W.L.; KLEIN, H.Z.; FINLEY, T.N.; CLINE, M.J. Occult pulmonary haemorrhage in leukaemia. **British medical journal,** v.2, p.166-168, 1975.

GONÇALVES, R.C. Semiologia do sistema respiratório. In: FEITOSA, F. **Semiologia veterinária:** a arte do diagnóstico. São Paulo: Roca, 2004. p.313-331.

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

GOSSELIN, B,; JANIN, A.; SAULT, M.C.; SERVAIS, B.; AUFFRET, N. Morphologic diagnosis of pulmonary hemorrhage. **Archives anatomie et de cytology pathologiques,** v. 37, p.143-147, 1989.

HEWSON, J.; VIEL, L. Sampling, microbiology end citology of respiratory. In: LEKEUX, P. **Equine respiratory disease.** Ithaca, NY: International Veterinary Information Services, 2002. Disponível em: <www.ivis.org>. Acesso em: 24-jun-2002.

HILLIDGE, C.J. Predisposition for right lung involvement in equine exercise-induced pulmonary haemorrhage. **British Veterinary Journal,** v.3, p.287-288, 1986.

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

HINCHCLIFF, K.W. Exercise-induced pulmonary hemorrhage. In: ANNUAL CONVENTION OF THE AMERICAN ASSOCIATION OF EQUINE PRACTITIONERS – AAEP, 51., 2005. Washington. **Proceedings…** Seattle, 2005. p.342-347.

HINCHCLIFF, K.W.; KANEPS, A.J.; GEOR, R.J. **Equine sports medicine and surgery**. Philadelphia: W. B. Saunders Company, 2004. 705 p.

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

HOHNSTONE, I.B.; VIEL, L.; CRANE, S. Hemostatic studies in racing standardbred horses with exercise-induced pulmonary hemorrhage. Hemostatic parameters at rest and after moderate exercise. **Canadian Journal of Veterinary Research,** v.55, p.101-106, 1991.

KCKANE, S.A.; SLOCOMBE, R.F. Sequential changes in bronchoalveolar cytology after autologous blood inoculation. **Equine Veterinary Journal Supplement,** v.30, p.126-130, 1999.

KEEBLER, C.M.; SOMKAK, T.M. **The manual of cytotechnology**. Philadelphia: W. B. Saunders Company, 1993. 414-448 p.

LAMAR, A.M. Standard fiberoptic and video endoscopic equipment. In: TRAUB-DARGATZ.; BROWN, C.M. **Equine endoscopic.** St. Louis: Mosby, 1997. p.13-27.

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

LARSON, V.L.; BUSCH, R.H. Equine tracheobronquial lavage: comparison of lavage cytologic and pulmonary histothologic fidings. **American Journal of Veterinary Research,** v.46, p.144-146, 1985.

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

MANOHAR, M.; GOETZ, T.E.; SULLIVAN, E.; GRIFFIN, R. Pulmonary vascular pressures of EIPH-positive thoroughbred horse during exercise performed at maximal heart rate after administration of various doses of furosemide. In: ANNUAL CONVENTION OF THE AMERICAN ASSOCIATION OF EQUINE PRACTITIONERS – AAEP, 43., 1997, Arizona. **Proceedings**… Ithaca, NY: Internacional Veterinary Information Service, 1997. p.276-278. Disponível em: <www.ivis.org>. 7-dez-1997.

MAZAN, M.R.; HOFFMAN, A.M. Clinical techniques for diagnosis of inflammatory airway disease in the horse. **Clinical Techniques in Equine Pratice,** v.2, p.238-357, 2003.

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

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

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

NEWTON, JR.; ROGERS, K.; MARLIN, D.J.; WOOD, J.L.; WILLIAMS, R.B. Risk factors for epistaxis on British racecourses: evidence for locomotory impact-induced trauma contributing to the aetiology of exercise-induced pulmonary haemorrhage. **Equine Veterinary Journal,** v.37, p.402-411, 2005.

O'CALLAGHAN, M.W.; PASCOE, J.R.; TYLER, W.S.; MASON, D.K. Exercise-induced pulmonary haemorrhage in the horse: results of a detailed clinical, post-mortem and imaging study. **Equine Veterinary Journal,** v.19, p.428-438, 1987.

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

OLIVER, O.; STAMPFLI, H.; TEJERO, E.A. Enfermedades respiratoriais de interes em el caballo de deporte. Republica Argentina. In: CONFERENCIA INTERNACIONAL DE CABALLOS DE DEPORTE - CICADE, 2003, Buenos Aires. **Anais...** Buenos Aires, 2003. p.15-22.

PARENTE, E.J. Video-endoscopia. In: LEKEUX, P. **Equine respiratory disease.** Ithaca, NY: International Veterinary Information Services, 2002. Disponível em: <www.ivis.org>. Accesso em: 4-JUN-2002.

PASCOE, J.R. Exercise induced pulmonary hemorrhage: a unifying concept. In: DUBAI INTERNATION EQUINE SYMPOSIUM, 1997, Dubai. **Proceedings**… California: Rantenen Desing, 1997. p.369-377.

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

RAINS, J.R.; COLLIER, M.A.; MACALLISTER, C.G. Epistaxis/exercised induced pulmonary hemorrhage in horses. Disponível em: <www. mrhorse.com>. 2-fev-2003.

ROBINSON, N.E. **Current therapy in equine medicine.** Philadelphia: W. B. Saunders Company, 1992. p.846-847.

ROSSIER, Y.; SWEENEY, C.R.; ZIEMER, E.L. Bronchoalveolar lavage fluid cytology findings in horses with pneumonia or pleuropneumonias. **Journal of American Veterinary Medical Association,** v.198, p.1001-1004, 1991.

ROY, M.F.; LAVOIE, J.P. Tool for the diagnosis of equine respiratory disorders. **Veterinary Clinics of North America Equine Practice,** v.19, p.1-7, 2003.

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

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

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

SCOTT, M.L. Bleeding in race horses: a new way to control it. **Veterinary Medicine**, v.48, p.95-97, 1953.

SLOVIS, N.M. **Atlas of equine endoscopy.** St. Louis: Mosby, 2004. p.97-118.

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

STRICKLIN, J. B. Barrel Racing. In: ANNUAL CONVENTION OF THE AMERICAN ASSOCIATION OF EQUINE PRACTITIONERS – AAEP, 43., 1997, Aizona. **Anais…** Ithaca: American Association of Equine Practitioners, 1997. p. 37-39. Disponível em: <www.ivis.org>. Acesso em: 7 dez. 1997.

SWEENEY, C.R.; BEECH, J. Bronchoalveolar lavage. In: BEECH, J. **Equine respiratory disorders.** Philadelphia: Lea & Feliger, 1991. p.41- 53.

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

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

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

VENGUST, M.; STAEMPFLI, H.; VIEL, L.; HEIGENHAUSER, G. Transvacular fluid flux fron the pulmonary vasculature at rest and during exercise in horses. **Journal of Physiology,** v.15, p.397-405, 2006.

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

WALDRIDGE, B.M.; WELLES, E.G. How to perform a Bronchoalveolar lavage using a three gastroscope. In: ANNUAL CONVENTION OF THE AMERICAN ASSOCIATION OF EQUINE PRACTITIONERS – AAEP, 52., 2006, San Antonio. **Proceedings**… Ithaca, NY: International Veterinary Information Service, 2006. p.104-106. Disponível em: <www.ivis.org>. 6-dez-2006.

WEISS, D.J.; SMITH, C.M. Haemorrheological alterations associated with competitive racing activity in horses: implications for exercise-induced pulmonary haemorrhage (EIPH). **Equine Veterinary Journal**, v.30, p.7-12, 1998.

WEST, J.B.; TYLER, W.S.; BIRKS, E.K.; MATHIEU-COSTELLO, O. Exercise induced pulmonary hemorrhage. In: DUBAI INTERNATION EQUINE SYMPOSIUM, 1997, Dubai. **Proceedings**… Caliphornia: Rantenen Desing, 1997. p.353-368.

WESTERMANN, C.M.; LAAN, T.T.; VAN NIEWSTADT, R.A.; BULL, S.; FINK-GREMMELS, J. Effects of antitussive agents administered before bronchoalveolar lavage in horses **American Journal of Veterinary Research,** v.66, p.1420-1424, 2005.

WINDER, N.C.; GRUNIG, G.; HERMANN, M.; FELLENBERG, R. Comparison of bronchoalveolar lavage and respiratory secretion cytology in horses with histologically diagnosed pulmonary disease. **Schweizer Archiv fuer Tierheilkunde,** n.133, p.123-130, 1991.

ZINKL, J.G. The lower respiratory tract. In: COWELL, R.L.; TYLER, R.D. **Cytology end hematology of horse.** Goleta: American Veterinary Publications, 1992. p.77-87.

IX – TRABALHO CIENTÍFICO NA REVISTA – ARCHIVES OF VETERINARY SCIENCE

AVALIAÇÃO CLÍNICA E CITOLÓGICA DO TRATO RESPIRATÓRIO DE CAVALOS QUARTO DE MILHA APÓS O EXERCÍCIO

(Clinical and Cytologic Evaluation of Respiratory Tract from Quarter Horses following exercise)

BIAVA, J. S.[1]; GONÇALVES, R. C[2]; DORNBUSCH, P. T. [3]; MICHELOTTO JÚNIOR, P. V. [3]; BIONDO, A. W.[4]; CASSOU, F. [5]; ZANOTTO, G .M [6] ; TELLES, J. E. Q. [7]

[1]Pós-graduanda da Clínica Veterinária da FMVZ – Unesp / Botucatu – SP.
[2]Docente da Clínica Veterinária da FMVZ – Unesp / Botucatu – SP.
[3]Docente de Clínica e Cirurgia de Eqüinos – PUC – PR.
[4]Docente Departamento de Medicina Veterinária da UFPR – PR.
[5] Pós-graduanda de Medicina Veterinária da UFPR – PR.
[6]Acadêmico de Medicina Veterinária da UFPR – PR.
[7]Médico do Departamento de Patologia do Hospital de Clínicas / UFPR – PR.

Correspondência para: GONÇALVES, R. C. – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, UNESP – Botucatu. Rubião Júnior s/n, Botucatu CEP 18.618-000 Tel (14) 3811-6044 calderon@fmvz.unesp.br.

Resumo

O objetivo do presente estudo foi avaliar a citologia do lavado broncoalveolar (BAL) após o exercício de doze cavalos da raça Quarto de Milha, provenientes de Curitiba e Região Metropolitana. Após a infusão de 100 ml de solução fisiológica com auxílio de endoscopia e cateter de silicone, foram recuperados, acondicionados em torno de 30 mL de BAL por cavalo, analisados e submetidos à centrifugação. Lâminas de citocentrífuga foram obtidas e coradas pelas técnicas de Giemsa, Papanicolaou e Azul da Prússia. Nenhum dos cavalos apresentou epistaxe ou outra anormalidade ao exame clínico, nem sangramento pulmonar à endoscopia. A contagem de hemácias e leucócitos no BAL esteve dentro dos valores normais de literatura, assim como os diferenciais leucocitários, com a proporção média de 62,3±13,7% e 34,1±14,8% para macrófagos e linfócitos, respectivamente. No entanto, a presença de hemossiderófagos em diferentes percentuais, sugere que parte destes animais estejam sob hemorragia pulmonar subclínica, isto é, não detectada clinicamente. Concluiu-se, baseado no presente trabalho, que a avaliação das populações celulares com o uso da citocentrífuga em associação a colorações especiais pode fornecer ao clínico importantes informações adicionais acerca do *status* funcional do trato respiratório, em particular hemorragias subclínicas.

Palavras-chave: Citologia, Lavado Broncoalveolar, citocentrífuga, cavalo, Quarto de Milha

Abstract

The aim of this study was to evaluate the bronchoalveolar lavage (BAL) cytology following exercise from twelve Quarter Horse breed animals from Curitiba City and surroundings. After infusion of 100 ml of physiologic solution with endoscopy and silicon catheter, an average of 30 mL of BAL was recovery per horse, analized and submited to cytocentrifugation. Cytocentrifuge slides were obtained and stained by Giemsa, Papanicolaou and Perl's Prussian Blue. None of the horses presented epistaxis or any other abnormality on the clinical

examination, nor pulmonary bleeding by endoscopy. The eritrocyte and leukocyte in BAL a counts were in the normal range of literature, as well as the leukocyte diferencials, with a mean proportion of 62.3±13.7% and 34.1±14.8% for macrophages and lymphocytes, respectivelly. However, the presence of hemosiderophages in different percentages, suggested that part of the animals were under subclinical pulmonar hemorrhage, not clinically detected. Based on the present study, we concluded that the evaluation of cellular populations with the use of cytocentrifuge and special stains can provide to the clinician important additional information on functional status of respiratory tract, particularly hemorrhage.

Keywords: Cytology, BAL, cytocentrifuge, equine, Quarter Horse

Introdução

O exame citológico das vias aéreas inferiores pode ser realizado através de aspirado transtraqueal e de lavados traqueal, traqueobrônquico e broncoalveolar (BAL) que auxiliam na avaliação das doenças do trato respiratório (FOGARTY, 1990; ERICKSON e POOLE, 2003). O BAL envolve a lavagem das vias aéreas inferiores, através de endoscópio ou cateter introduzidos em um brônquio (SWEENEY e BEECH, 1991; COWELL e TYLER 1992; HEWSON e VIEL, 2002). O BAL é a técnica mais sensível para avaliar o meio celular dentro de um segmento de brônquio, bronquíolo e alvéolos, sendo o método de seleção mais adequado para avaliar as vias aéreas distais (FORGARTY e BUCKLEY, 1991; CLARK et al., 1995; ERICKSON e POOLE, 2003). MAZAN e HOFFMAN (2003), referem em seu estudo uma significativa diferença entre o BAL de cavalos de corrida e cavalos de outros esportes, sendo que estes últimos apresentaram uma quantidade significativamente maior de neutrófilos, indicando uma maior cronicidade do processo inflamatório nestes animais.

A interpretação citológica varia com o método de colheita da amostra e a técnica de processamento utilizada (HEWSON e VIEL, 2002), assim como tipo de líquido infundido, pH, volume, diâmetro do material de coleta e o tempo de estocagem da amostra antes do processamento (MCGORUM et al., 1993;

HEWSON e VIEL, 2002). A avaliação citológica é feita pela contagem diferencial de macrófagos, neutrófilos, linfócitos, eosinófilos, mastócitos e células cilíndricas do epitélio das vias aéreas (SWEENEY et al., 1992; CLARK et al., 1995; HEWSON e VIEL, 2002). A citologia pode atestar a hemorragia pulmonar, quando houver presença de macrófagos alveolares fagocitando eritrócitos ou com hemossiderina no seu citoplasma (COWELL e TYLER, 1992; OLIVER et al., 2003). Segundo MCKANE e SLOCOMBE (1999), são observados poucos hemossiderófagos nos primeiros três dias após a hemorragia pulmonar. Os autores relatam grande quantidade de hemossiderófagos e mesmo de eritrócitos totalmente preservados ainda 14 dias após a hemorragia, o que por sua vez, caracteriza a dificuldade do sistema mucociliar e fagocitário em remover a hemorragia presente. Os autores referem ainda foi observado um pequeno número de células no lavado broncoalveolar realizado 21 dias após a hemorragia pulmonar. Além disso pode-se detectar processos inflamatórios quando há aumento no número de neutrófilos e suspeitar de processos alérgicos, fungicos ou reações a metazoários quando houver aumento de eosinófilos.

Para a interpretação citológica da amostra dois procedimentos devem ser realizados: uma lâmina direta, no momento da coleta, para a contagem total de células, e outra utilizando a citocentrífuga para a contagem diferencial das células. A lâmina preparada pela citocentrífuga é preferida pelos clínicos, pois muitas células são concentradas em uma área da lâmina facilitando assim a contagem diferencial em suas diferentes colorações (HEWSON e VIEL, 2002). Para maior acurácia na interpretação dos resultados, muitos citologistas preferem realizar a contagem diferencial de, no mínimo, 5 células por campo de visão no maior aumento ou 300 a 500 células por lâmina (MAZAN e HOFFMAN, 2003).

Apesar de vários estudos realizados em cavalos de corrida, pouco se sabe sobre a importância do EIPH em animais de trabalho ou esporte. Portanto, o objetivo do presente estudo foi de avaliar clinicamente e citologicamente o BAL de cavalos da raça Quarto de Milha após o exercício, com o uso da citocentrífuga e colorações especiais.

Material e método

Foram utilizados 12 eqüinos da raça Quarto de Milha, 6 machos e 6 fêmeas, com média de 5,3 ± 3,0 anos de idade e variando entre 3 a 14 anos, pesando 477 ± 26 kg, clinicamente saudáveis, provenientes de Curitiba e região metropolitana, Estado do Paraná. Os cavalos eram mantidos em piquetes durante o dia e encocheirados durante a noite, alimentados com feno, ração comercial e água *ad libidum,* além de vermifugados a intervalos de 60 dias. O regime de exercícios era de uma hora diária, seis dias na semana, incluindo a participação em campeonatos de tambor e baliza.

O exame clínico foi realizado em todos os animais 30 minutos após o exercício e previamente à endoscopia. Foram avaliados: a frequência respiratória, frequência cardíaca, estado de hidratação, coloração de mucosas, tempo de preenchimento capilar (TPC), linfonodos e atitude ao exame.

Os animais foram examinados visualmente através do endoscópio flexível (Colonoscópio CF 140L, Olympus Company, EUA), introduzido na narina em direção à traquéia e brônquios, com prévia sedação caso necessário. Foi utilizado um colonoscópio, marca Olympus, com 1,80 metros de comprimento e 12,80 mm de diâmetro externo com fonte de luz fria 150 Watts. No trato respiratório superior e inferior, verificou-se a presença de secreção nasal e epistaxe, a presença de secreção traqueal, alterações da bifurcação traqueal (carina), alterações nos brônquios principais e outros achados relevantes. A presença de hemorragia pulmonar induzida por exercício (EIPH) foi observada e, quando necessário, graduada de Grau 0 a Grau IV segundo escala de Eppinger (EPPINGER, 1990). Após a visualização das vias aéreas o endoscópio foi retirado e um cateter de silicone (Bivona, Smiths, Reino Unido) introduzido até um brônquio, sendo utilizado somente infusão de anestésico local (Lidocaína 1%) para diminuir o reflexo de tosse.

Para a realização do lavado foram inoculados 100 ml de solução fisiológica comercial, o líquido introduzido foi removido rapidamente por sucção, com seringa descartável de 60 ml e devidamente identificado. Concluída a aspiração da

amostra, a seringa foi desacoplada da sonda, o conteúdo homogeneizado e uma alíquota de 3ml foi separada para exame físico-químico e citológico quantitativo do BAL. O restante do fluído foi colocado em uma caixa de isopor com gelo em temperatura de 0 a 4^{o}C e encaminhada imediatamente ao Laboratório de Patologia do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná (HC/UFPR), onde as amostras conservadas sob refrigeração foram centrifugadas em citocentrifuga (Revan Citocentrífuga 2000 D), durante 5 minutos. O botão celular formado na lâmina foi corado pelas técnicas de Giemsa, Papanicolau e Azul da Prússia, segundo metodologia padrão de confecção (KEEBLER e SOMKAK, 1993). Para a análise diferencial de células, foram contadas quando possível um total de 400 células, diferenciando-se as proporções de células epiteliais cilíndricas, neutrófilos, linfócitos, eosinófilos, mastócitos e macrófagos.

À análise descritiva das lâminas avaliou-se celularidade, presença de muco, hemácias, leucócitos e células, íntegras ou degeneradas. As lâminas foram processadas com o uso de citocentrífuga e todas analisadas para diferencial de células.

Os exames físico-químicos e citológicos quantitativos foram realizados no Laboratório de Patologia Clínica do Hospital Veterinário da UFPR, por observação da amostra e com o uso de tiras reagentes de urina (Uri-test, Inlab, São Paulo). O líquido foi avaliado quanto ao volume recuperado, aspecto, coloração, densidade específica, pH, proteínas, glicose, sangue oculto e bilirrubina. Para o exame citológico quantitativo o líquido do BAL foi homogeneizado, diluído quando necessário, sendo as hemácias e células nucleadas totais contadas com o auxílio de câmara de Newbauer em microscópio óptico.

Resultados

Nenhum dos animais necessitou de prévia sedação para o exame clínico ou sondagem. Segundo o exame clínico, atitude ao exame, os linfonodos palpáveis, o estado de hidratação e a coloração de mucosas estavam normais. Observou-se 21,1 ± 6,7 movimentos respiratórios por minuto, 41,5 ± 9,5 batimentos cardíacos por minuto e 2,1 ± 0,3 seg. de tempo de preenchimento capilar. Nenhum dos

animais apresentou epistaxe ao exame externo; apenas o cavalo 1 apresentou secreção mucosa nasal.

Não foi observado sangramento à endoscopia nos animais deste experimento. Havia presença de pequena quantidade de secreção se assemelhando à saliva no terço médio da traquéia dos cavalos 4, 7, 10 e 12; no terço proximal, dos cavalos 2, 5 e 8; no terço distal, do cavalo 1 e em todas as porções da traquéia, do cavalo 3. Não foi observada a presença de secreção na traquéia dos animais 6, 9 e 11. Não foram observadas alterações da bifurcação traqueal (carina), alterações nos brônquios principais ou quaisquer outros achados relevantes como mostra a QUADRO 1.

Os lavados observados foram todos classificados como transparente e ligeiramente turvos. A fita reagente foi utilizada no BAL de 7 animais, sendo todos negativos para glicose e bilirrubina, além disso, apresentaram traços de proteínas, densidade específica média de 1,003 ± 0,002 e pH de 5,0 ± 0,0. A tira reagente mostrou sangue oculto em 5 das 7 amostras avaliadas, com média de duas cruzes (101,4 ± 137,3 hemácias/µL).

Os valores de volume de infusão recuperados, contagem de hemácias, contagem de leucócitos e outras células, diferencial leucocitário e percentual de hemossiderófagos (contatos como parte do total de macrófagos) encontram-se resumidos na TABELA 1. A avaliação da composição dos grumos celulares foi realizada com o auxílio de lâminas coradas com Papanicolau, e estavam presentes nas lâminas dos cavalos 1, 5, 6, 8, 9, 10, 11, e 12. A avaliação e contagem de hemossiderófagos foi realizada com a lâmina corada pelo método de Azul da Prússia, sendo observada nos animais de números 1, 4, 5, 9, 10, 11 e 12, a proporção de 25%, 76%, 15%, 19%, 50%, 40% e 11% do total de macrófagos, respectivamente.

Discussão

Neste estudo observou-se que a avaliação clínica não mostrou alterações relevantes, uma vez que todos os animais utilizados eram saudáveis. Nossos achados são semelhantes ao de BACCARIN (2005), que demonstrou que as freqüências cardíaca e respiratória podem estar elevadas logo após o exercício e

não apresentar alterações durante repouso, mesmo em cavalos com algum grau de Hemorragia Pulmonar.

Segundo os resultados obtidos, apenas três cavalos foram positivos na fita reagente para sangue oculto. Os dados obtidos pela fita de urinálise não foram sensíveis para detectar Hemorragia Pulmonar.

A utilização da técnica de lavado broncoalveolar (BAL) com auxílio de endoscopia é importante instrumento na avaliação citológica das vias respiratórias inferiores, permitindo diagnóstico mais preciso das afecções respiratórias em eqüinos. A grande vantagem do uso da endoscopia para a coleta do BAL é a visualização das estruturas das vias aéreas superiores e inferiores, definindo com isso, suas alterações anatômicas (ROY e LAVOIE, 2003). Além disso, pode-se estimar a severidade da EIPH avaliando a quantidade de sangue presente nas vias aéreas, pois a presença de epistaxe, ocorre somente em 0,25 a 13% dos cavalos de corrida acometidos de EIPH (ERICKSON e POOLE, 2002). Em nosso estudo, não foi observado nenhum grau de Hemorragia Pulmonar segundo a escala de EPPINGER (1990). Entretanto, quando utilizou-se o BAL, 58,3% dos cavalos que estavam em exercício intenso durante o treinamento ou que participaram de prova nos últimos 21 dias apresentaram citologicamente, algum grau de EIPH. Poucos são os estudos que utilizaram a avaliação de hemossiderófagos como parte da análise do BAL em cavalos. CLARK et al. (1995) observou que os hemossiderófagos podem ser utilizados no diagnóstico de hemorragias subclínicas, uma vez que o sangramento não foi visível pela endoscopia. De acordo com BACCARIN (2005), o BAL é mais específico e sensível do que o exame endoscópico após exercício (Endoscópio = 1 a 2 horas após exercício; BAL= 1 a 21dias presença de hemossiderófagos).

Portanto, o padrão citológico é bastante útil na interpretação e formulação de diagnóstico diferencial, ou seja, a citologia pode indicar processos inflamatórios de etiologia alérgica, fúngica, bacteriana, parasitários entre outras e até processos físicos, como no caso da hemorragia induzida por exercício (EIPH). Segundo COWELL e TYLER (1992) é difícil mensurar valores de referência para o BAL, pois a contagem pode variar conforme a técnica de coleta e processamento,

porém concordamos com os autores quando estes afirmam que a contagem diferencial de células no BAL de cavalos clinicamente normais mostra um predomínio de macrófagos e linfócitos (TABELA 1). Muitos desses trabalhos são realizados em cavalos de corrida e MAZAN e HOFFMAN (2003), referem em seu estudo, uma significativa diferença entre o BAL de cavalos de corrida e cavalo s de outros esportes, tais como tambor e baliza. Neste trabalho os resultados são similares, ou seja, os cavalos da raça Quarto de Milha só apresentam algum grau de sangramento, visível ao endoscópio ou a olho nu após exercício intenso. O sangramento pode ser detectado por endoscopia 30 a 60 min. após exercício, que é o tempo necessário para a drenagem do sangue, das vias aéreas mais profundas para as de grande calibre. No BAL desses cavalos podemos encontrar hemossiderófagos até 21 dias após exercício intenso ou prova (MAZAN e HOFFMAN, 2003).

A citocentrífuga é um equipamento de grande valor, pois ao concentrar as células, formou um botão que favoreceu a visualização e identificação celular em suas diferentes colorações, conseguindo-se contar no mínimo 5 células por campo (MAZAN e HOFFMAN, 2003). Embora, o alto custo limite seu uso na medicina veterinária, não se admite hoje, um laboratório terciário que atue na pesquisa de células em líquidos, que não disponha de tal equipamento. Neste experimento, a citocentrífuga preservou a morfologia das células adequadamente, principalmente dos linfócitos, contrastando com o resultado obtido por LAPOINTE et al. (1994); HEWSON e VIEL (2002) que cita um decréscimo da percentagem de linfócitos com o uso de citocentrífuga. As colorações utilizadas permitiram a adequada visualização de todos os tipos celulares. A coloração de Papanicolau foi indispensável para a interpretação citológica em lâminas que apresentaram grumos celulares, já que fornece uma visualização das camadas de células (macrófagos). A coloração especial – Azul da Prússia – foi utilizada para confirmar animais com algum grau de Hemorragia Pulmonar, como sugere HEWSON e VIEL (2002), pois identificou, com segurança, os hemossiderógafos.

A utilização de cavalos da raça Quarto de Milha foi de grande importância neste estudo, apesar da limitada amostragem, conseguindo-se estabelecer uma

avaliação citológica de BAL para a raça, em provas de três tambores e seis balizas. O número de animais parece ser limitante nos estudos de BAL em eqüinos, provavelmente, devido à dificuldade em se coletar, acondicionar e processar as amostras adequadamente e com a mesma metodologia, bem como os custos operacionais do processo. Alguns estudos foram realizados utilizando-se menos de 10 animais (MARLIN et al., 2002).

Para a coleta do BAL destes animais foi utilizado somente lidocaína intratraqueal, que reduziu a freqüência e intensidade da tosse, corroborando os achados de WESTERMANN et al. (2005), não sendo necessária a sedação intravenosa, como sugere DOUCET e VIEL (2002).

Conclui-se que a prevalência da EIPH varia conforme o método utilizado para detectá-la. Ela é menor quando o diagnóstico é realizado por meios visuais e aumenta quando se utiliza a citologia. .

TABELA 1. LEITURA DIFERENCIAL E TOTAL DE LEUCÓCITOS DO LAVADO BRONCOALVEOLAR DE CAVALOS, APÓS A INFUSÃO DE 100ML DE SOLUÇÃO SALINA 0,9%.

Número	Volume recuperado (mL)	Hemácias (no./µL)	Leucócitos (no./µL)	Macrófagos (%)	Linfócitos (%)	Neutrófilos (%)	Eosinófilos (%)	Mastócitos (%)	Células Epiteliais (%)	Hemossi-derófagos (% macrófagos)
1	12	NR	300	79,7	14,5	0,5	0,0	4,1	1,2	25,0
2	8	NR	350	82,4	6,4	0,0	0,0	0,0	11,2	0,5
3	10	NR	200	67,0	32,8	0,2	0,0	0,0	0,0	0,5
4	50	NR	450	71,3	28,7	0,0	0,0	0,0	0,0	76,0
5	60	NR	385	67,7	29,1	0,9	0,0	2,3	0,0	15,0
6	20	535	162	62,9	37,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0
7	25	315	460	69,9	28,7	1,5	0,0	0,0	0,0	1,0
8	40	435	445	54,4	31,3	2,7	11,6	0,0	0,0	0,5
9	38	312	442	57,7	42,1	0,2	0,0	0,0	0,0	19,0
10	20	358	555	34,5	59,5	0,4	4,1	1,6	0,0	50,0
11	42	228	162	48,4	49,7	0,2	0,4	1,3	0,0	40,0
12	42	310	240	51,1	48,9	0,0	0,0	0,0	0,0	11,0
Média	30,6	356,1	379,5	62,3	34,1	0,6	1,3	0,8	1,0	
Desvio	17,0	100,3	131,8	13,7	14,8	0,8	3,4	1,3	3,2	

NR=nãorealizado

QUADRO 1. ACHADOS ENDOSCÓPICOS EM CAVALOS DA RAÇA QUARTO DE MILHA, APÓS TREINO PARA AS PROVAS DE SEIS BALIZAS E TRÊS TAMBORES.

Cavalos	Secreção da Traquéia				Alteração na Bifurcação da Traquéia	Alteração nos Brônquios principais
	Terço Proximal	Terço Médio	Terço Distal	Toda Extensão		
1			X		NDN	NDN
2	X				NDN	NDN
3				X	NDN	NDN
4		X			NDN	NDN
5	X				NDN	NDN
6					NDN	NDN
7		X			NDN	NDN
8	X				NDN	NDN
9					NDN	NDN
10		X			NDN	NDN
11					NDN	NDN
12		X			NDN	NDN

NDN= Nada digno de nota

Referências

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

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

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

DOUCET, M. Y.; VIEL, L. Clinical, radiographic, endoscopic, bronchoalveolar lavage and lung biopsy findings in horses with exercise-induced pulmonary hemorrhage **Canadian Veterinary Journal,** v. 43, p 195-202, 2002.

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

ERICKSON, H. H.; POOLE, D. C. Exercise-induced pulmonary hemorrhage. In: **Equine Respiratory Disease.** Ithaca, NY: International Veterinary Information Services. Disponível em: www.ivis.org. Accesso em 2003.

FORGARTY, U. Evaluation of a bronchoalveolar lavage tecnique. **Equine Veterinary. Journal,** v. 3, p 174–176, 1990.

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

HEWSON, J.; VIEL, L Sampling, microbiology end citology of respiratory. In: **Equine Respiratory Disease.** Ithaca, NY: International Veterinary Information Services. Disponível em: www.ivis.org. Accesso em 2002.

KCKANE, S. A.; SLOCOMBE, R. F. Sequential changes in bronchoalveolar cytology after autologous blood inoculation. **Equine Veterinary. Journal Supplement,** v. 30, p 126-130, 1999.

KEEBLER, C. M.; SOMKAK, T. M. **The Manual of Cytotechnology**. Philadelphia: W. B. Saunders company, 1993.

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

MARLIN, D. J.; SCHROTER, R. C.; CASHMAN, P. M. M.; DEATON, C. M.; POOLE, D. C.; KINDIG, C. A.; MCDONOUGH, P.; ERICKSON, H. H. Movements of thoracic and abdominal compartments during ventilation at rest and during exercise. In: VI International Conference on Equine Exercise Physiology. 2002, Kentucky, **Equine Veterinary Journal Supplement,** v. 34. p 384-390, 2002.

MAZAN, M. R.; HOFFMAN, A. M. Clinical techniques for diagnosis of inflammatory airway disease in the horse. **Clinical Tecniques in Equine Pratice.,** v. 2, p: 238 – 357, 2003.

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

OLIVER, O.; STAMPFLI, H.; AQUILERA, E. Enfermedades respiratórias de interés em el caballo de deporte. In: Conferencia Internacional de Caballos de deporte – CICADE. 2003, Curitiba. **Anais Conferencia Internacional de Caballos de deporte**. Curitiba: Pontifícias Universidades Católicas do Paraná, 2003, p. 15-22.

ROY, M. F.; LAVOIE, J. P. Tool for the diagnosis of equine respiratory disorders. **Veterinary Clinics of North America: equine practice,** v 19, p 1–7, 2003.

SWEENEY, C. R.; BEECH, J. Bronchoalveolar Lavage. In: BEECH, J. **Equine Respiratory Disorderas.** Philadelphia: Lea & feliger, 1991. p. 41- 53.

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

WESTERMANN, C. M.; LAAN, T.T.; VAN NIEWSTADT, R. A.; BULL, S.; FINK-GREMMELS, J. Effects of antitussive agents administered before bronchoalveolar lavage in horses **American Journal of Veterinary Research,** v.66, p 1420-1424, 2005.

ANEXOS 1: Ficha de avaliação respiratória de cavalos atletas

RG: Data:

CRIADOR: PROPRIETÁRIO:

TREINADOR:

Animal: Idade: Sexo: □M □ F □Cast. Peso: ____Kg

Raça: □ QM □ Paint Horse □ Apallosa Outros_____

Alimentação: □ Feno □Concentrado □ Ração ou _____

Textura da ração: □ peletizada □ farinácea

Mineralização: □ sim □ não Qual?_____

Baia: □ aberta □ fechada □ Pasto ►

Localização_____ Tamanho_____

Exposição à : □ poeira □ irritantes □ ventos frios □ calor excessivo

Limpeza das baias: □ diária □ semanal □ mensal □ outros

Uso de cama: □ sim □ não Qual? _____

Animal sob exercício: □ sim □ não Descanso: _____ dias.

Prova: □ Baliza; □ Laço; □ Tambor

Freqüência de treinamento: □ 1x/sem; □ 2x/sem; □ 3x/sem ou _____

Animal realizou endoscopia na última semana: □ sim □ não

Quantos dias atrás: _____

Doença Pré-existente:_____

Animal sob tratamento: □ sim □ não

Qual:_____

EXAME FÍSICO

Freqüência respiratória(FR):_____/mpm. Freqüência cardíaca(FC): _____/bpm

Temperatura Retal: _____°C Estado de hidratação:_____%

Tempo de Preenchimento Capilar (TPC): ____ Coloração das mucosas: _____

Atitude: _____ Linfonodos:_____

EXAME ENDOSCÓPICO

Sedado: □ sim □ não

Qual princípio ativo: _____

Secreção Nasal: □ sim □ não □ Unilateral □ Bilateral

Prevalência da lesão: □ lado direito, □ lado esquerdo

Epistaxe: □ sim □ não □ Unilateral □ Bilateral

Prevalência da lesão: □ lado direito □ lado esquerdo

EIPH: Gravidade:

Grau I □; presença de pequenas estrias e/ou coágulos situados no terço distal da traquéia.

Grau II □; filetes de sangue distribuídos aleatoriamente (não uniforme) por toda extensão da traquéia, coágulos maiores.

Grau III □; sangue distribuídos uniformemente por toda extensão da traquéia.

Grau IV □; quantidade abundante de sangue por toda a traquéia, laringe, faringe, fossas nasais.

Grau V □ exacerbação do grau de anterior e epistaxe.

Secreção na traquéia: □ sim □ não

□Exudato mucopurulento; □Fluído serosanguinolento;

□Outro:_____Local:

□ Traquéia proximal; □ Terço médio da traquéia; □ Traquéia distal

Bifurcação Traqueal: _____

Brônquios Principais: _____

Outros achados:

EXAME FÍSICO DO BAL

Volume infundido: _____ml Volume recuperado: _____ ml

Local de coleta: □ Brônquio □ Bifurcação da traquéia □ Traquéia

ACHADOS MICROSCÓPICOS

Contagem total de células:

Hemácias: _____hem/ µl Leucócitos:_____leu/ µl

Contagem diferencial de células:

_____% células epiteliais cilíndricas

_____ % neutrófilos

_____ % linfócitos

_____ % eosinófilos

_____ % macrófagos

_____ % mastócitos

_____% hemossiderófagos

Outros achados:

_____

Colorações: □ Papanicolau □ Giemsa □ Azul da Prússia

ANEXO 2 Resumos apresentados no 13° Evento de Iniciação Científica da UFPR, 2005.

Nº 000 **USO DA CITOCENTRÍFUGA E COLORAÇÕES ESPECIAIS NO EXAME CITOLÓGICO DO LAVADO BRONCOALVEOLAR EM CAVALOS.**

Aluno de Iniciação Científica: Gustavo Miranda Zanotto

Nº de Registro do Projeto de Pesquisa no BANPESQ/THALES: 2004014015

Orientador: Alexander W. Biondo **Co-orientador:** Peterson Triches Dornbusch

Colaboradores: Janaina Biava, Roberto Calderon Gonçalves, Marina Loureiro Caldas, José Ederaldo Queiroz Telles.

Departamento: Medicina Veterinária **Setor:** Ciências Agrárias

Palavras-chave: BAL, lavado broncoalveolar, eqüínos

Área de Conhecimento: Medicina Veterinária: 5.05.00.00-7

A utilização da técnica do lavado broncoalveolar (BAL) com auxilio de endoscopia é importante instrumento na avaliação citológica das vias respiratórias inferiores, auxiliando num diagnóstico mais preciso das afecções respiratórias em eqüinos. A verificação das populações celulares do BAL permite também avaliar a viabilidade do animal para competições e o estado funcional do aparelho respiratório. O objetivo do presente estudo foi o de avaliar o uso da citocentrífuga no exame citológico do BAL, bem como de colorações especiais na sua avaliação. Foram utilizados 6 cavalos, de diferentes raças e condições respiratórias, provenientes do Regimento da Polícia Militar do Paraná, localizado em Curitiba, PR. Após contenção física dos animais e passagem do endoscópio, foram inoculados 300 ml de solução apirogênica comercial, fracionada em três alíquotas de 100 ml, por sonda apropriada, passada pelo canal de trabalho do endoscópio até alcançar o brônquio caudodorsal direito ou nos locais com secreções ou sangramentos. O líquido infundido foi fracionado, e após sua retirada por sucção com seringas de 60 ml o mesmo foi identificado, acondicionado em gelo e encaminhado ao Laboratório de Patologia do Hospital de Clínicas da UFPR. A amostra foi então submetida à citocentrifugação (Citocentrifuga Revan, 2000D), e foram realizadas colorações de cada amostra de BAL, incluindo as colorações de Giemsa, Papanicolau e Azul da Prússia. A coloração de Giemsa permitiu a visualização e identificação adequada dos tipos celulares, incluindo, macrófagos, neutrófilos, linfócitos, células ciliadas e caliciformes. O uso do Papanicolau permitiu a visualização através dos grumos celulares, bem como

detalhada avaliação nuclear. Finalmente, a coloração do Azul da Prússia permitiu a visualização de raros macrófagos com pigmentos de hemossiderina (hemossiderófagos) sugerindo hemorragia crônica discreta em alguns animais. Em conclusão, a citocentrífuga preservou a morfologia das células adequadamente, em particular os linfócitos, facilitando a visualização e o reconhecimento celular; as colorações utilizadas permitiram a adequada visualização de todos os tipos celulares; a colheita, acondicionamento e processamento no Laboratório de Patologia do Hospital de Clínicas da UFPR mostrou-se alternativa ao diagnóstico, visto o alto custo da citocentrífuga para aquisição na medicina veterinária.

ANEXO 3: Resumos apresentados no 14° Evento de Iniciação Científica da UFPR, 2006.

COMPARATIVO DOS PARÂMETROS FISIOLÓGICOS DE CAVALOS DA RAÇA QUARTO DE MILHA EM PROVAS SEIS BALIZAS E TRÊS TAMBORES

Aluno de Iniciação Científica: Mariane Angélica Pommerening Finger(IC-voluntária)

Nº de Registro do Projeto de Pesquisa no BANPESQ/THALES: 2006019199

Orientador: Alexander Welker Biondo

Co-Orientador: Roberto Calderon Gonçalves

Colaborador: Janaína Biava,Gustavo Miranda Zanotto

Departamento: Medicina Veterinária **Setor:** Ciências Agrárias

Palavras-chave: cavalos, parâmetros fisiológicos,exercício

Área de Conhecimento: 5.05.00.00-7

Os parâmetros fisiológicos de freqüência cardíaca e respiratória de cavalos da raça Quarto de Milha em duas diferentes modalidades esportivas, seis balizas e três tambores, podem ser variáveis devido à intensidade do exercício e o tempo de prova.Uma vez que o VO_{2max} aumenta de acordo com a duração e com o grau de intensidade do exercício, é provável que haja uma variação nas freqüências cardíaca e respiratória de animais que participaram da categoria três tambores, que exige um pouco mais de velocidade e agilidade, e os que participam da categoria seis balizas.Para avaliar os parâmetros de freqüência cardíaca e respiratória foram utilizados 30 eqüinos selecionados ao acaso,com idade entre 4 e 21 anos; provenientes de diferentes estados brasileiros e reunidos para uma competição na cidade de Avaré,SP. Desses animais, 10 participaram da categoria seis balizas e 20 da categoria três tambores.Todos os animais passaram por exame clínico um dia antes da prova estando dentro dos parâmetros da normalidade.As freqüências cardíaca e respiratória foram mensuradas momentos antes da prova;imediatamente após a prova e 10 minutos após o término da prova utilizando-se estetoscópio e cronômetro.O tempo que cada animal levou para completar a prova também foi observado.

Os cavalos que competiram à categoria três tambores obtiveram médias das freqüências cardíaca e respiratória , após o término da prova, superiores às dos cavalos que participaram da categoria seis balizas provavelmente pelo percurso,intensidade e duração da prova maiores.

ANEXO 4: Resumos apresentados no 14° Evento de Iniciação Científica da UFPR, 2006.

Nº 000 COMPARAÇÃO CITOLÓGICA DO LAVADO BRONCOALVEOLAR (BAL) DE EQÜINOS COM E SEM HISTÓRICO DE HEMORRAGIA PULMONAR INDUZIDA POR EXERCÍCIO (EIPH)

Aluno de Iniciação Científica: **Mariane Angélica Pommerening Finger (IC-voluntária)**

Nº de Registro do Projeto de Pesquisa no BANPESQ/THALES**: 2006019199**

Orientador: **Alexander Welker Biondo** Co-Orientador: **Roberto Calderon Gonçalves**

Colaboradores: **Janaína Biava, Gustavo M. Zanotto, José Eraldo Q. Tellez, Ivan Deconto.**

Departamento**: Medicina Veterinária Setor: Ciências Agrárias**

Palavras-chave: ***BAL, EIPH, cavalos QM.***

Área de Conhecimento: **Medicina Veterinária – 5.05.00.00-7**

A hemorragia pulmonar induzida por exercício (EIPH) acomete cavalos atletas de diversas modalidades esportivas, e o lavado broncoalveolar (BAL) tem sido utilizado em conjunto com a endoscopia no diagnóstico desta e outras afecções do trato respiratório. O presente estudo teve por objetivo analisar o BAL de cavalos da raça quarto de milha (QM), em provas de laço em dupla, com e sem histórico de EIPH. Foram utilizados 20 eqüinos QM em atividade atlética, com idades entre 3 e 14 anos, com broncoscopia feita com endoscópio flexível 30 minutos após o treino. A técnica de BAL foi realizada com endoscopia e com auxílio de sonda bivona; as amostras obtidas foram divididas e acondicionadas em duas alíquotas. A primeira alíquota foi citocentrifugada, submetida à colorações especiais (Giemsa, Papanicolau e Azul da Prússia), e utilizada para a contagem diferencial de células e a porcentagem de hemossiderófagos em lâmina. A segunda amostra foi utilizada para a contagem total de células na câmara de Neubauer. Considerou-se EIPH positivo o BAL com mais de 10% de hemossiderófagos. Avaliados ao acaso,

nenhum dos cavalos apresentou histórico de sangramento ou foi sedado durante exame. A contagem total de células foi de 132,6 ± 185,6 hemácias/uL e 110,5 ± 123,4 leucócitos/uL. Na contagem diferencial observou-se: 49,9%±9,8 macrófagos; 43,3 %±9,9 linfócitos; 2,8 % ± 2,5 neutrófilos; 3,0 %± 2,3 eosinófilos; 0,4 %± 0,8 mastócitos; 0,7 % ± 1,3 de células epiteliais e 7,3 % ± 5,2 de hemossiderófagos (do total de macrófagos). Nenhum dos animais apresentou hemorragia visível à endoscopia. Foi observada menor quantidade de macrófagos e maior de linfócitos quando comparado com os valores de referência de literatura. Pela análise do BAL, 3 animais foram considerados positivos, confirmando a importância do BAL na detecção de sangue nos alvéolos e vias aéreas inferiores. No presente estudo, os cavalos QM de provas de laço em dupla apresentaram EIPH apesar desta prova não exigir tanta aceleração como observado em corridas. Em conclusão, embora a endoscopia não seja totalmente confiável, torna-se uma técnica diagnóstica bastante precisa quando aliada ao BAL. A técnica do BAL mostrou-se adequada para a detecção de EIPH em cavalos QM de provas de laço em dupla, sendo que no presente estudo os animais apresentam uma incidência de 15 % desta síndrome.

ANEXO 5: Resumos apresentados no VII Conferência Anual da ABRAVEQ e II Congresso da FEI.

HEMORRAGIA PULMONAR INDUZIDA POR EXERCÍCIO (EIPH) EM CAVALOS DE PROVAS DE SALTO.

Janaína S. Biava[1], Roberto C. Gonçalves, Alexander W. Biondo, Valdir R. Tonin, Gustavo Gomes, Mariane A. Finger, Gustavo M. Zanotto, Marina L. Caldas

INTRODUÇÃO E OBJETIVOS

A hemorragia pulmonar induzida por exercício (EIPH) é caracterizada pela presença de sangue de origem pulmonar nas vias aéreas, principalmente após exercício intenso. Embora a EIPH tenha sido muito relatada em cavalos de corrida, são raros os estudos em cavalos de outros esportes como hipismo e provas rurais. No presente estudo foi avaliada a presença de hemorragia pulmonar induzida por exercício, em cavalos de salto, em diferentes categorias, bem como parâmetros fisiológicos que pudessem estar relacionados com a EIPH.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados 10 cavalos de provas de salto, da Sociedade Hípica Paranaense, independentemente das categorias a que pertenciam. Avaliou-se a freqüência cardíaca e respiratória na véspera das provas, antes e logo após as provas, e ainda, 10 minutos após. Depois de 60 a 90 minutos do término da prova, os animais foram submetidos ao exame endoscópico. Foi avaliada a presença de sangue na traquéia e brônquios, classificada em graus de I a V, de acordo com a intensidade.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A incidência de hemorragia observada à endoscopia foi de 6/10 (60%) e o grau variou de I a IV. A média das freqüências cardíaca/respiratória (bpm/mpm) na véspera, antes, após e 10 minutos após a prova foi respectivamente de 34,2/17,2; 73,8/56,9; 113,2/68,6; e 63,8/44,2. Em conclusão, a ocorrência de EIPH em cavalos de hipismo clássico em diferentes níveis de esforço sugere

que outros fatores além do esforço anaeróbico com alta carga em baixo tempo possam contribuir para a ocorrência desta síndrome.

Pós -graduanda da Clínica Veterinária da FMVZ–Unesp/Botucatu–SP. Rubião Junior s/n, Botucatu/SP. CEP 18.618-000 Tel (14) 3811-6044. jsbiava@yahoo.com.br

ANEXO 6: Resumos apresentados no VII Conferência Anual da ABRAVEQ e II Congresso da FEI.

ASPIRADO TRAQUEAL DE CAVALOS SADIOS DA RAÇA QUARTO DE MILHA APÓS O EXERCÍCIO

Michelotto Júnior, P. V; Cassou, F; Machado, C. D; Bonfá, A. F. Janaína S. Biava[1], Gonçalves, R. C.

INTRODUÇÃO

A avaliação citológica do aspirado traqueal é importante ferramenta no diagnóstico das afecções respiratórias, e a presença de hemácias ou hemossiderófagos pode sugerir a ocorrência de hemorragia pulmonar. Este trabalho objetivou avaliar a citologia e hemorragia pulmonar de eqüinos da raça Quarto de Milha após exercício físico intenso.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados 27 eqüinos adultos clinicamente saudáveis da raça Quarto de Milha, sendo 13 machos e 14 fêmeas, em provas de três tambores na região de Curitiba. Após a prova, foi realizado exame clínico geral e endoscopia do trato respiratório, com colheita das amostras através de aspirado traqueal com sonda de polietileno via canal de trabalho do endoscópio. As amostras foram obtidas o mais próximo possível da carina. Imediatamente após a colheita da secreção foram realizados esfregaços em lâminas hematológicas, com coloração do material através de coloração rápida panótico e contagem total de 500 células para diferencial citológico em microscópio óptico em aumento de 1000 X.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os animais não apresentaram alterações ao exame clínico geral, com ausência de epistaxe e secreções. Observou-se hemorragia em seis animais (33,3%), e no aspirado traqueal um diferencial citológico de 44,1±35,7% células epiteliais,

[1] Pós-graduanda da Clínica Veterinária da FMVZ – Unesp / Botucatu – SP. Rubião Junior s/n, Botucatu CEP 18.618-000 Tel (14) 3811-6044. jsbiava@yahoo.com.br

1,1±2,2% células caliciformes, 23,1±35,9% neutrófilos, 0,1±0,4% linfócitos, 0,9±2,8% eosinófilos, 30,6±23,6% macrófagos totais e 0,1±0,9% hemosiderófagos. O número elevado de neutrófilos foi um achado importante, definindo inflamação das vias aéreas inferiores. Em conclusão, o Aspirado Traqueal é uma boa técnica para diagnóstico das vias aéreas refletindo sua situação geral, propondo que fatores como manejo alimentar e baias constituem uma mescla variável de agentes que podem influenciar a celularidade.

ANEXO 7: Resumo apresentado na 6º Conferência Sul-americana de Medicina Veterinária, 2006.

AVALIAÇÃO CLÍNICA E CITOLÓGICA DO TRATO RESPIRATÓRIO DE CAVALOS QUARTO DE MILHA APÓS O EXERCÍCIO

JANAÍNA SOCOLOVSKI BIAVA[2]; ROBERTO CALDERON GONÇALVES[3]; PETERSON TRICHES DONRBUSCH[4]; GUSTAVO MIRANDA ZANOTTO[5]; ALEXANDER WELKER BIONDO[6]

ABSTRACT: BIAVA, J. S.[1]; GONÇALVES, R. C[2]; DORNBUSCH, P. T.[3]; BIONDO, A. W.[4]; ZANOTTO, G .M.[6] Clinical and Cytologic Evaluation of Respiratory Tract from Quarter Horses following exercise. The aim of this study was to evaluate the bronchoalveolar lavage (BAL) cytology following exercise from twelve Quarter Horses from Curitiba City, Brazil. After infusion of 100 ml of saline with endoscopy through a silicon catheter, an average of 30 mL of BAL was recovery per horse, analized and submited to cytocentrifugation. Cytocentrifuge slides were obtained and stained with Giemsa, Papanicolaou and Perl's Prussian Blue. BAL eritrocyte and leukocyte counts were within normal range, as well as leukocyte diferencial (62.3±13.7% macrophages and 34.1±14.8% lymphocytes). Although not clinically detected, the presence of hemosiderophages suggests that some animals were under chronic pulmonar hemorrhage. In conclusion, evaluation of cellular populations with the use of cytocentrifuge and special stains can provide to the clinician important additional information on functional status of respiratory tract, particularly hemorrhage.

Keywords*:* BAL, cytocentrifuge, Quarter Horse

[2]Pós-graduanda da Clínica Veterinária da FMVZ – Unesp / Botucatu – SP.
[3]Docente da Clínica Veterinária da FMVZ – Unesp / Botucatu – SP Rubião Junior s/n, Botucatu CEP 18.618-000 Tel (14) 3811-6044. calderon@fmvz.unesp.br.
[4]Docente de Clínica e Cirurgia de Eqüinos – PUC – PR
[5]Acadêmico de Medicina Veterinária da UFPR – PR
[6]Docente Departamento de Medicina Veterinária da UFPR – PR

INTRODUÇÃO

O exame do líquido do lavado bronco alveolar é método mais adequado para avaliar doenças do trato respiratório inferior[1]. Alguma variação na interpretação citológica pode ocorrer devido a diferentes técnicas de colheitas e processamento das amostras, sendo que para melhor avaliação citológica o uso da citocentrifuga é recomendado pois pode concentrar um grande número de células por campo[2]. A avaliação da população celular deste líquido pode indicar processos inflamatórios quando houver aumento do número de neutrófilos; processos alérgicos, parasitários, fúngicos e reações à metazoários quando houver aumento de eosinófilos; além de atestar hemorragia pulmonar induzida por esforço quando houver presença de hemácias ou hemossiderófagos[3]. Pode-se recuperar hemácias íntegras por até três dias após o quadro de hemorragia pulmonar induzida por exercício (EIPH), sendo que o número de hemossiderófagos aumenta até quatorze dias após a hemorragia e ainda é capaz de se detectar macrófagos com depósito de ferro (hemossiderófagos) vinte e um dias após o episódio de hemorragia pulmonar[4]. Apesar de muitos estudos terem sido realizados com cavalos de corrida, pouco se sabe sobre a avaliação do líquido bronco alveolar de cavalos quarto de milha de trabalho.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados 12 eqüinos da raça Quarto de Milha, 6 machos e 6 fêmeas, com média de 5,3 ± 3,0 anos de idade e variando entre 3 a 14 anos, pesando 477 ± 26 kg, clinicamente saudáveis, provenientes de Curitiba e região metropolitana. Após serem submetidos a exercício realizou-se exame clínico geral e endoscopia para detectar-se presença de sangue na traquéia e brônquios principais classificando o grau de hemorragia segundo a escala de Eppinger[5]. Após a endoscopia foi introduzido um cateter de silicone por onde foi infundidos 100 ml de solução fisiológica e recuperado através de sucção com seringas de 60 ml. O líquido recuperado foi fracionado em duas alíquotas sendo que uma seguiu para o Hospital de Clínicas (HC) da UFPR, onde com auxilio de citocentrífuga foram confeccionadas lâminas em colorações de Giemsa, Papanicolau e Azul da Prússia e a outra foi analisada quanto ao aspecto físico, químico e citológico quantitativo no laboratório de patologia

clínica do Hospital Veterinário da UFPR, onde também foi realizada a contagem diferencial de células nas lâminas provenientes do HC da UFPR.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

No exame clínico observou-se normalidade em todos os parâmetros avaliados, sugerindo que a hemorragia pulmonar induzida por esforço não influi fortemente nos parâmetros clínicos[6]. Não houve a necessidade de sedação intravenosa, utilizando-se apenas lidocaína 2% intratraqueal para reduzir o reflexo de tosse[7], indicando que este é um exame bem tolerado pelos cavalos da raça que participou do experimento. Os lavados foram todos classificados como transparentes, e ligeiramente turvo. A fita reagente é de uso limitado não sendo indicativa de EIPH nos parâmetros avaliados. Apesar dos animais terem todos sidos negativos no exame endoscópico, pode-se observar no exame citológico algum grau de EIPH, indicando este ser mais sensível que a endoscopia[6]. Na contagem diferencial das células notou-se um predomínio de macrófagos e linfócitos em uma relação aproximada de 60%:30% respectivamente. As colorações utilizadas no presente trabalho foram todas adequadas para visualização de todos os tipos celulares, assim como a citocentrífuga, que permitiu uma boa avaliação das lâminas e preservou a morfologia das células.

TABELA 1: LEITURA DIFERENCIAL E TOTAL DE LEUCÓCITOS DO LAVADO BRONCOALVEOLAR DE CAVALOS APÓS A INFUSÃO DE 100ML DE SOLUÇÃO SALINA 0,9%.

Nº	Vol recup. (mL)	Hemac. (/µL)	Leuc. (/µL)	Macr. (%)	Linf. (%)	Neut. (%)	Eos. (%)	Mast. (%)	Céls Epit. (%)	Hemoss. (%.)
1	12	NR	300	79,7	14,5	0,5	0,0	4,1	1,2	25,0
2	8	NR	350	82,4	6,4	0,0	0,0	0,0	11,2	1,0
3	10	NR	200	67,0	32,8	0,2	0,0	0,0	0,0	0,0
4	50	NR	450	71,3	28,7	0,0	0,0	0,0	0,0	76,0
5	60	NR	385	67,7	29,1	0,9	0,0	2,3	0,0	15,0
6	20	535	162	62,9	37,1	0,0	0,0	0,0	0,0	2,0
7	25	315	460	69,9	28,7	1,5	0,0	0,0	0,0	0,5
8	40	435	445	54,4	31,3	2,7	11,6	0,0	0,0	1,0
9	38	312	442	57,7	42,1	0,2	0,0	0,0	0,0	19,0
10	20	358	555	34,5	59,5	0,4	4,1	1,6	0,0	50,0
11	42	228	162	48,4	49,7	0,2	0,4	1,3	0,0	40,0
12	42	310	240	51,1	48,9	0,0	0,0	0,0	0,0	11,0
Média	30,6	356,1	379,5	62,3	34,1	0,6	1,3	0,8	1,0	20,0
Desvio	17,0	100,3	131,8	13,7	14,8	0,8	3,4	1,3	3,2	24,2

NR= não realizado.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. FORGARTY, U.; BUCKLEY, T. Equine Vet. J., **6**, 434–437, 1991.
2. HEWSON, J.; VIEL, L *Sampling, microbiology end citology of respiratory*; htto:www.ivis.org, accesso em 24/06/2002.
3. COWELL, R.L.; TYLER, R.D. *Cytology and hematology of the horse***.** Goleta: American Veterinary Publications, 1992, 260
4. MCKANE , S. A.; SLOCOMBE, R. F. Equine Vet. J Suppl**.,** **30** (6), 126-130, 1999.
5. EPPINGER, M. *Hemorragia pulmonar de esforço e o desempenho de eqüinos PSI {Equus caballus} em corridas de galope no jockey club do Paraná***.** Universidade Federal do Paraná, 167p Dissertação (Mestrado)1990..
6. BACCARIN, R. Y.A. Diagnóstico e tratamento das pneumopatias de esforço. ***In***: II Simpósio Internacional do Cavalo Atleta e IV Semana do Cavalo – SIMCAV. 2005, Belo Horizonte, Anais**:,** 12-28, 2005.
7. WESTERMANN, C.M.; LANN, T.T.; VANNIEUWSTADT R.A.; BULL, S.; FINK-GREMMELS, J. Am J Vet R., **66** (8): 1420-1424,2005.
8. MAZAN, M. R.; HOFFMAN, A. M. Clinical Tecniques in Equine Pratice**., 2** (3), : 238 – 257, 2003.

ANEXO 8: Resumo apresentado na 6º Conferência Sul-americana de Medicina Veterinária, 2006.

HEMORRAGIA PULMONAR INDUZIDA POR EXERCÍCIO (EIPH) EM CAVALOS QUARTO DE MILHA DE PROVAS DE TAMBOR E BALIZA.

JANAÍNA SOCOLOVSKI BIAVA[7]; ROBERTO CALDERON GONÇALVES[8]; GUSTAVO MIRANDA ZANOTTO[9]; MARIANE ANGÉLICA FINGER[3]; FRANCISCO PUPO PIRES FERREIRA[10] ; ALEXANDER WELKER BIONDO[11].

ABSTRACT: BIAVA, J.S.; GONÇALVES, R.C.; ZANOTTO, G.M.; FINGER, M.A.; FERREIRA, F.P.P.; BIONDO, A.W. **Exercise-induced pulmonary hemorrhage (EIPH) in Quarter Horses of barrel and pole bending**. The aim of this study was to evaluate the exercise-induced pulmonary hemorrhage (EIPH) in horses following exercise on barrel and pole bending. Ten adult, 16 males and 14 females, Quarter Horse breed horses of barrel racing and twenty horses of pole bending were used in this experiment. All horses were submitted to clinical examination prior and after competition exercise. Endoscopy was performed 60 to 90 minutes after performance, and detection of blood into the respiratory tract was the criteria for diagnosis. The occurrence of bleeding visualized by endoscopy in horses from six pole bending was 4/10 (40%) and for three barrels 15/20 (75%). In conclusion, Quarter Horse animals used for barrel and pole bending also suffer from EIPH, and occurrence of EIPH in this breed is also high, as observed in racing Quarter Horses.

Keywords*:* EIPH, endoscopy, Quarter Horse

[7] Pós -graduanda da Clínica Veterinária da FMVZ – Unesp / Botucatu – SP.
[8] Docente da Clínica Veterinária da FMVZ – Unesp / Botucatu – SP Rubião Junior s/n, Botucatu CEP 18.618-000 Tel (14) 3811-6044. calderon@fmvz.unesp.br.
[9] Acadêmico de Medicina Veterinária da UFPR – PR
[10] Pós –graduando da Cirurgia de Grandes Animais da FMVZ – Unesp / Botucatu – SP.
[11] Docente Departamento de Medicina Veterinária da UFPR – PR

INTRODUÇÃO

A Hemorragia Pulmonar Induzida por Exercício (EIPH) caracteriza-se pela presença de sangue de origem pulmonar nas vias aéreas dos cavalos, em particular após exercício físico intenso[1]. A presença de sangue na árvore traqueobrônquica é o principal sinal clínico desta síndrome, e afeta comumente cavalos atletas que participam de exercícios de curto percurso e alta intensidade. Muitos autores apontam como fator determinante desta afecção o aumento na pressão transmural dos vasos pulmonares, com isso a freqüência cardíaca esta intimamente ligada à EIPH[2]. A síndrome está bem documentada em cavalos de corrida, onde a principal queixa é a incapacidade de manter desempenho atlético satisfatório durante a competição esportiva[1]. Embora o grau de sangramento nestes animais seja variável, até 90% dos cavalos pode apresentar EIPH[3]. Apesar de sua importância em cavalos de corrida o problema é ainda pouco investigado em outros cavalos de esporte como pólo, provas de tambor, salto, laço e rédeas, entre outros[2]. O objetivo do presente trabalho é de melhor conhecer os sinais clínicos e a ocorrência de EIPH em cavalos de tambor e baliza, bem como os potenciais fatores que predispõem o seu aparecimento.

MATERIAIS E MÉTODOS

No presente trabalho foram utilizados 30 eqüinos clinicamente saudáveis, 16 machos e 14 fêmeas, sendo 10 animais em provas de Seis Balizas e 20 em Três Tambores, todos da raça Quarto de Milha, participantes do XVI Congresso Brasileiro da Raça Quarto de Milha - Avaré/SP. A idade média dos animais foi de 9,05 ± 5.22 anos e o peso variou entre 4 a 25 anos, pesando em média 496,67 ± 12,69 kg. Esses animais encontravam-se em atividade física freqüente, trabalhados uma hora diária, seis dias na semana, incluindo a participação em campeonatos de baliza e tambor, sendo alimentados com pastagem *ad libidum,* feno e ração comercial. Estes animais foram examinados um dia antes das provas para avaliar as condições clínicas gerais e em especial do aparelho respiratório**.** Após 60 a 90 minutos da participação na competição, os animais foram submetidos ao exame endoscópico, no qual todos os animais estavam conscientes, isto é, sem sedativos. A detecção de sangue nas vias aérea inferiores foi critério de diagnóstico para os animais

portadores de EIPH. A sua distribuição ao longo das vias aéreas indicou a gravidade da EIPH, classificada em graus de I a V segundo Eppinger[1].

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A ocorrência de sangramento visualizado à endoscopia foi de 4/10 (40%) em cavalos nas provas de seis balizas e 15/20 (75%) na prova de três tambores. Dentre os cavalos de baliza, apenas um animal apresentou hemorragia grau I, e os outros três apresentaram grau II. Nos animais da prova de três tambores foi observado grau I em apenas um animal, cinco animais em grau II e cinco cavalos em grau III; o grau IV foi observado em três animais e apenas um apresentou epistaxe, ou seja, grau V. A incidência de EIPH diagnosticada pelo endoscópio em cavalos de três tambores foi próximo aos valores já descritos em cavalos Puro Sangue Inglês de corrida (77%) e maior que os descritos em cavalos quarto de milha de corrida (62%)[2]. O grau de Hemorragia segundo a escala de EPPINGER[1] foi semelhante nas duas provas, uma média de grau II para baliza e para cavalos das provas de três tambores. Neste trabalho a avaliação clínica não foi suficiente de detectar a presença de hemorragia pulmonar induzida por exercício, corroborando com o referido por outros autores[5]. Para o exame nenhum destes animais utilizou anestésico intravenoso ou até mesmo lidocaína intratraqueal, para reduzir a freqüência e intensidade da tosse[5]. Com este trabalho observou-se que não somente os cavalos de corrida da raça Puro Sangue Inglês sofrem com EIPH, mas tambem os cavalos Quarto de Milha em provas de Seis Balizas e Três tambores, sendo 40% e 75% respectivamente. Desta forma, o presente estudo alerta os veterinários e treinadores destes animais para essa importante afecção e suas possiveis complicações, além de demostrar a real necessidade de maiores estudos quanto a ocorrência e fisiopatologia da EIPH na população estudada. Mesmo tendo sido observada diferença na ocorrência da EIPH entre os grupos, não houve variação no grau de sangramento no presente estudo, apesar de que este grau possa variar com intensidade e duração da prova[3]. Concluiu-se no presente estudo que cavalos Quarto de Milha de tambor e baliza também sofrem EIPH, e que sua ocorrência nesta raça é também relativamente alta, como observado em cavalos Quarto de Milha de corrida.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BIRKS, E. K.; DURANDO, M. M.; STEVE, M. Exercise-induced pulmonary hemorrhage. **Vet. Clin. North Am. Equine Pract.,** v 19, p 87-100, 2003.

2. ERICKSON, H. H.; POOLE, D. C. Exercise-induced pulmonary hemorrhage. In: **Equine Respiratory Disease.** Ithaca, NY: International Veterinary Information Services. Disponível em: www.ivis.org. Accesso em 2003.

3. MOORE, B. R. Lower respiratory tract disease. **Vet. Clin. North Am. Equine Pract.,** v 12, p 457–473, 1996.

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

5. BACCARIN, R. Y.A. Diagnóstico e tratamento das pneumopatias de esforço. ***In***: II Simpósio Internacional do Cavalo Atleta e IV Semana do Cavalo – SIMCAV. 2005, Belo Horizonte, Anais**:,** 12-28, 2005.

6. MAZAN, M. R.; HOFFMAN, A. M. Clinical Tecniques in Equine Pratice**., 2** (3), : 238 – 257, 2003

7. WESTERMANN, C.M.; LANN, T.T.; VANNIEUWSTADT R.A.; BULL, S.; FINK-GREMMELS, J. Am J Vet R., **66** (8) : 1420-1424,2005.

8. OIKAWA, M. Exercise- induced haemorrhagic lesions in the dorsocaudal extremities of the caudal lobes of the lungs of young thoroughbred horses. **J. Comp. Pathol.,** v 121, p 339–347, 1999.

9. RAINS, J. R.; COLLIER, M. A.; MACALLISTER, C. G. Epistaxis/exercised induced pulmonary hemorrhage in horses. In**: Equestrian Library Studies and Research.** Disponível em: www. mrhorse.com > Accesso em: 2003

ANEXO 9: Resumo apresentado no III Simpósio Internacional do Cavalo Atleta e V Semana do Cavalo, 2007.

HEMORRAGIA PULMONAR INDUZIDA POR EXERCÍCIO (EIPH) EM CAVALOS DE DIFERENTES MODALIDADES ESPORTIVAS

(Exercise-Induced Pulmonary Hemorrhage in horses of different sport modalities)

BIAVA, J. S.[12]; GONÇALVES, R.C.[13]; FINGER, M. A.[14]; ZANOTTO, G. M.[3]; BIONDO, A. W.[15]

A hemorragia pulmonar induzida por exercício (EIPH) é uma das principais ocorrências em cavalos que competem em percursos curtos e de alta intensidade. O presente trabalho teve por objetivo avaliar a ocorrência de EIPH e parâmetros fisiológicos em animais submetidos em três diferentes provas: Três Tambores (TT), Seis Balizas (SB) e Hipismo Clássico (HC). Utilizou-se no presente estudo 20 cavalos Quarto de Milha no grupo TT, 10 cavalos Quarto de Milha no grupo SB e 10 cavalos Brasileiro de Hipismo no grupo HC. A freqüência cardíaca e respiratória de todos os animais foi aferida um dia antes, imediatamente antes, logo após e 10 minutos após a prova. A avaliação endoscópica foi realizada sessenta minutos após o término da participação dos animais nas referidas provas. Observou-se sangramento à endoscopia em 14 cavalos (75%) de Três Tambores, 6 cavalos (60%) de Hipismo Clássico e 4 (40%) cavalos de Seis Balizas. Apenas um animal do grupo TT apresentou epistaxe após a prova, o grau mais severo de hemorragia. Foi observado um pico significativo logo após as provas na freqüência cardíaca (TT=119,2±11,9; SB=110,4±15,0 e HC=113,20±25,7) e respiratória (TT=63,4±1,4; SB=55,6±11,5 e HC=68,6±19,0), embora não tenha sido observada diferença significativa entre os grupos nos momentos avaliados. Em conclusão, como já observado

[12] Pós-graduanda da Clínica Veterinária da FMVZ – Unesp/Botucatu – SP. Rubião Júnior s/n, Botucatu CEP: 18.618-000 Tel (14) 3811-6044 jsbiava@yahoo.com.br
[13] Docente do curso de Medicina Veterinária FMVZ- Unesp/Botucatu-SP
[14] Graduando do curso de Medicina Veterinária UFPR
[15] Docente do curso de Medicina Veterinária UFPR

em cavalos de corrida, também cavalos de outras modalidades esportivas podem apresentar alta incidência de EIPH. Deste modo, veterinários, treinadores e proprietários devem sempre atentar para a ocorrência desta síndrome nas diferentes modalidades esportivas, mesmo as que não envolvam necessariamente percursos curtos e alta intensidade.

ANEXO 10: Resumo apresentado no III Simpósio Internacional do Cavalo Atleta e V Semana do Cavalo, 2007.

HEMOSSIDERÓFAGOS NO LAVADO BRONCOALVEOLAR DE CAVALOS QUARTO DE MILHA APÓS O EXERCÍCIO

Hemosiderophages in bronchoalveolar lavage of Quarter Horses after exercise

BIAVA, J. S.[16]; GONÇALVES, R.C.[17]; FINGER, M. A.[18]; ZANOTTO, G. M.[3]; BIONDO, A. W.[19]

Os hemossiderófagos são macrófagos responsáveis pela fagocitose de hemácias no espaço alveolar e sua presença no lavado broncoalveolar (BAL) tem sido relacionado diretamente com a síndrome de hemorragia pulmonar induzida por exercício (EIPH) em cavalos. Recentes estudos têm demonstrado que a contagem qualitativa destas células oferece uma melhor correlação com a presença e grau de EIPH. O presente estudo teve por objetivo avaliar a Contagem Total de Hemossiderina (THS) em amostras de BAL de 18 cavalos Quarto de Milha colhidas três dias após a participação em competições de Três Tambores e Seis Balizas. As amostras foram colhidas com auxílio de endoscópio, submetidas à citocentrifugação e em seguida fixadas e coradas pelo método do Azul da Prússia. Os hemossiderófagos foram classificados segundo a presença de hemossiderina em graus 0 a 4, contados separadamente e ao final convertidos na unidade THS. Observou-se a média de 14,3%±21,25 de hemossiderófagos no total de macrófagos e a média de 36,1±56,4 no escore total de hemossiderina. Apenas seis animais obtiveram escore superior a 25 no THS sendo considerados EIPH positivos. Notou-se uma correlação clara entre as duas contagens, sendo que escore maior que 25 no THS tende a ser maior que 10% de presença de hemossiderófagos no total de macrófagos. Conclui-se que a contagem percentual de hemossiderófagos

[16] Pós-graduanda da Clínica Veterinária da FMVZ – Unesp/Botucatu – SP. Rubião Júnior s/n, Botucatu CEP: 18.618-000 Tel (14) 3811-6044 jsbiava@yahoo.com.br.
[17] Docente do curso de Medicina Veterinária FMVZ- Unesp/Botucatu-SP
[18] Graduando do curso de Medicina Veterinária UFPR
[19] Docente do curso de Medicina Veterinária UFPR

possui boa correlação com o THS, sendo mais prática e rápida de se realizar, porém menos precisa no que se refere a quantificação da hemossiderina presente no BAL.

ANEXO 11: Resumo apresentado no III Simpósio Internacional do Cavalo Atleta e V Semana do Cavalo, 2007.

LAVADO BRONCOALVEOLAR: EM CAVALOS QUARTO DE MILHA APÓS TREINO DE SEIS BALIZAS E TRÊS TAMBORES

Brochoalveolar Lavage in Quarter Horses after Six Poles and Three Barrels racing

BIAVA, J. S.[20]; GONÇALVES, R.C.[21]; FINGER, M[3]. A; ZANOTTO, G. M[3]; CASSOU, F[4].; BIONDO, A. W[5].

O Lavado Broncoalveolar (BAL) com auxilio da endoscopia é indicado para a realização da citologia das vias aéreas inferiores, permitindo avaliar o estado funcional do aparelho respiratório e conseqüente desempenho do cavalo. O presente trabalho objetivou avaliar o BAL de cavalos Quarto de Milha (QM) após prova de Seis Balizas e Três Tambores. Foram utilizados 18 cavalos em treinamento, clinicamente sadios, provenientes de Curitiba, Paraná. Após a prova, foram realizadas broncoscopias com endoscópio flexível, sem sedação. Realizou-se a colheita da amostra por sonda bivona® após a retirada do endoscópio. O exame citológico qualitativo foi realizado através do uso de citocentrífuga e colorações especiais de Giemsa, Papanicolaou e Azul da Prússia. A contagem total do BAL foi: 285,8 ±173,9 µl leucócitos, 195,9 ± 134,3 µl hemácias. Diferencial do BAL foi em média e desvio padrão: 0,7 ± 2,6% células epiteliais; 2,4 ± 4,0% neutrófilos; 36,5 ± 13,7% linfócitos; 1,2 ± 2,8% eosinófilos; 58,7 ± 12,9% macrófagos e 0,6 ±1,0% mastócitos. Nenhum animal apresentou sangramento visível á endoscopia, diferente do observado em endoscopias logo após competições, o que indica que o treino não foi tão

[20] Pós-graduanda da Clínica Veterinária da FMVZ – Unesp/Botucatu – SP. Rubião Júnior s/n, Botucatu CEP: 18.618-000 Tel. (14) 3811-6044 jsbiava@yahoo.com.br.
[2] Docente do curso de Medicina Veterinária FMVZ-Unesp /Botucatu-SP
[3] Graduando do curso de Medicina Veterinária UFPR
[4] Mestranda em Ciências Veterinárias- UFPR
5 Docente do curso de Medicina Veterinária UFPR

intenso quanto uma prova. Do total de 18 animais seis foram considerados EIPH positivo na contagem total de hemossiderófagos (THS). Concluiu-se que o treino não foi suficiente para causar EIPH visível à endoscopia e que a contagem de hemossiderófagos no BAL permitiu a classificação dos animais como sangradores pela contagem total de hemossiderófagos três dias após o evento.

ANEXO 12: Resumo apresentado na VIII Conferência Anual da ABRAVEQ, 2007.

HEMORRAGIA PULMONAR INDUZIDA POR EXERCÍCIO (EIPH) EM CAVALOS QUARTO DE MILHA (QM) EM PROVAS DE LAÇO EM DUPLA.

Janaína S. Biava, Roberto C. Gonçalves, Mariane A. Finger[22], Alexander W. Biondo

INTRODUÇÃO E OBJETIVOS

A EIPH é uma síndrome de etiologia ainda não esclarecida que atinge cavalos atletas nas mais diferentes modalidades esportivas. A endoscopia pode detectar a presença de sangue nas vias aéreas brônquios inferiores confirmando a EIPH, ou o Lavado Broncoalveolar (BAL) com presença de hemossiderófagos em macrófagos alveolares. No presente estudo, objetivou-se avaliar a incidência de EIPH de cavalos QM em provas de laço em dupla através da citologia.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados 20 cavalos QM que passaram por endoscopia seguida de coleta de BAL por sonda bivona® com infusão de 100 ml de solução fisiológica 0,9%. O exame citológico qualitativo foi realizado com o uso de citocentrífuga e coloração especial, Azul da Prússia, esta permitiu a visualização e graduação de hemossiderófagos.

RESULTADOS

Dos 20 animais examinados pela endoscopia nenhum apresentou sangramento visível. Cinco animais apresentaram secreção na traquéia, sendo 1 no terço proximal e medial; 1 no terço médio e 3 em toda a traquéia. Pela análise do BAL 15% dos cavalos (3 castrados) examinados apresentaram hemossiderina em macrófagos alveolares, confirmando a síndrome EIPH.

DISCUSSÃO E CONCLUSÃO

O BAL tem sido descrito como “biopsia líquida”, sendo mais representativa que o lavado traqueal ou aspirado trans-traqueal ou até mesmo a endoscopia.

Conclui-se que a presença de hemossiderófagos no BAL é definitiva para se detectar a EIPH, mostrando uma relação significativa entre a hemorragia pulmonar e a presença de hemossiderófagos no exame citológico por até 21 dias após episódio de EIPH.

[22] Graduanda de Medicina Veterinária da UFPR/PR. Rua dos Funcionários N° 1540, Bairro Juvevê – CEP: 80.035-050- Curitiba/Paraná - mari_finger@hotmail.com

ANEXO 13: Resumo apresentado na VIII Conferência Anual da ABRAVEQ, 2007.

DIFERENTES TÉCNICAS PARA AVALIAÇAO DE HEMOSSIDERÓFAGOS NO LAVADO BRONCOALVEOLAR DE CAVALOS QUARTO DE MILHA APÓS O EXERCÍCIO

Janaína S. Biava, Roberto C. Gonçalves, Mariane A. Finger[23], Alexander W. Biondo

INTRODUÇÃO E OBJETIVOS

Os hemossiderófagos são macrófagos responsáveis pela fagocitose de hemácias no espaço alveolar e sua presença no lavado broncoalveolar (BAL) tem sido relacionado diretamente com a síndrome de hemorragia pulmonar induzida por exercício (EIPH) em cavalos. Recentes estudos têm demonstrado que a contagem qualitativa destas células oferece uma melhor correlação com a presença e grau de EIPH. O presente estudo teve por objetivo comparar duas técnicas de avaliação de hemossiderófagos.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados 60 cavalos QM que passaram por endoscopia seguida de coleta de BAL por sonda bivona®. As amostras foram submetidas à citocentrifugação e em seguida fixadas e coradas pelo método do Azul da Prússia. Os hemossiderófagos foram classificados segundo a presença de hemossiderina em macrófagos alveolares (%) assim como a em graus 0 a 4, contados separadamente e ao final convertidos no escore THS (Total hemossiderin score).

RESULTADOS

Observou-se a média de 10,11%±14,55 de hemossiderófagos no total de macrófagos e a média de 21,36±34,25 no escore total de hemossiderina.

Apenas 13 animais obtiveram escore superior a 25 no THS sendo considerados EIPH positivos. Notou-se uma correlação 0,955 entre as duas

[23] Graduanda de Medicina Veterinária da UFPR/PR. Rua dos Funcionários N° 1540, Bairro Juvevê – CEP: 80.035-050- Curitiba/Paraná - mari_finger@hotmail.com

contagens, sendo que escore THS 26 corresponde a 11% hemossiderófagos no total de macrófagos.

DISCUSSÃO E CONCLUSÃO

Hemossiderófagos têm sido descritos no BAL de cavalos EIPH positivos, bem como em animais sem histórico clínico de EIPH, pois uma quantidade baixa de hemossiderófagos é considerada normal em cavalos com ou sem histórico de EIPH. Conclui-se que embora o THS seja mais trabalhoso e demorado, seus resultados são mais precisos que a simples porcentagem de depósito de ferro no citoplasma de macrófagos alveolares.

APÊNDICE

APÊNDICE

Tabela 1 - Número total de células do lavado broncoalveolar de cavalos da raça Quarto de Milha, sob exercícios de seis balizas e três tambores (G1) – (n=40), após a infusão de 100 ml de solução salina 0,9%

N° Animal	Hemácias	Leucócitos
01	NR*	300
02	NR*	350
03	NR*	200
04	NR*	450
05	NR*	385
06	535	162
07	315	460
08	435	445
09	312	442
10	358	555
11	228	162
12	310	240
13	259	160
14	107	84
15	57	49
16	314	97
17	175	94
18	124	106
19	398	248
20	154	113
21	206	113
22	120	108
23	282	101
24	245	171
25	98	131
26	165	138
27	195	179
28	86	108
29	142	158
30	114	112
31	50	66
32	69	95
33	150	94
34	108	74
35	584	140
36	105	55
37	49	16
38	41	47
39	106	56
40	99	65
m	202,70	178,20
s	138,15	137,37

* NR=Não realizado

Tabela 2 - Número total de células do lavado broncoalveolar de cavalos da raça Quarto de Milha, sob exercícios de laço em dupla (G2) – (n=20) após a infusão de 100 ml de solução salina 0,9%.

N° Animal	Hemácias	Leucócitos
01	915	63
02	146	178
03	101	79
04	78	92
05	112	63
06	29	39
07	72	71
08	205	76
09	99	53
10	62	311
11	14	283
12	136	135
13	20	11
14	110	140
15	98	125
16	67	137
17	58	165
18	168	43
19	55	70
20	108	77
m	132,70	110,60
s	190,38	77,49

Tabela 3 - Contagem diferencial (%) de macrófagos (M), linfócitos (L), neutrófilos (N), eosinófilos (E), células epiteliais cilíndricas (CE), e mastócitos do lavado broncoalveolar de cavalos da raça Quarto de Milha em provas de seis balizas e três tambores (G1), após infusão de 100 ml de solução salina 0,9%.

N° Animal	%M	%L	%N	%E	%CE	%MT
01	79,72	14,52	0,46	0,00	1,15	4,15
02	82,40	6,40	0,00	0,00	11,20	0,00
03	67,99	32,76	0,24	0,00	0,00	0,00
04	71,33	28,69	0,00	0,00	0,00	0,00
05	67,67	29,14	0,94	0,00	0,00	2,26
06	62,86	37,14	0,00	0,00	0,00	0,00
07	69,87	28,68	1,45	0,00	0,00	0,00
08	54,35	31,30	2,75	11,60	0,00	0,00
09	57,74	42,05	0,21	0,00	0,00	0,00
10	34,50	59,45	0,39	4,09	0,00	1,56
11	48,43	49,69	0,21	0,42	0,00	1,25
12	51,14	48,86	0,00	0,00	0,00	0,00
13	42,85	57,15	0,00	0,00	0,00	0,00
14	59,63	40,37	0,00	0,00	0,00	0,00
15	66,15	33,85	0,00	0,00	0,00	0,00
16	43,47	49,08	5,50	1,95	0,00	0,00
17	48,00	42,00	4,00	6,00	0,00	0,00
18	50,00	43,00	5,00	2,00	0,00	0,00
19	57,47	42,03	0,50	0,00	0,00	0,00
20	67,40	32,60	0,00	0,00	0,00	0,00
21	51,00	47,20	0,00	1,80	0,00	0,00
22	54,16	43,82	0,77	1,25	0,00	0,00
23	41,85	48,00	7,50	2,65	0,00	0,00
24	46,50	49,00	2,00	2,50	0,00	0,00
25	48,82	41,79	5,10	4,29	0,00	0,00
26	55,75	39,00	0,00	5,25	0,00	0,00
27	53,93	43,17	0,00	2,90	0,00	0,00
28	63,90	36,10	0,00	0,00	0,00	0,00
29	64,30	25,76	4,44	5,50	0,00	0,00
30	61,50	38,50	0,00	0,00	0,00	0,00
31	71,19	22,72	1,66	4,43	0,00	0,00
32	61,74	35,46	2,80	0,00	0,00	0,00
33	60,00	37,00	3,00	0,00	0,00	0,00
34	60,50	39,5	0,00	0,00	0,00	0,00
35	67,92	15,09	0,00	3,79	13,20	0,00
36	33,95	58,03	2,33	4,92	0,00	0,77
37	54,37	38,20	2,50	4,40	0,00	0,53
38	66,00	34,00	0,00	0,00	0,00	0,00
39	50,66	42,83	3,33	2,62	0,00	0,56
40	42,49	43,37	10,04	4,10	0,00	0,00
m	57,31	38,18	1,68	1,91	0,64	0,28
s	11,24	11,29	2,37	2,54	2,70	0,79

Tabela 4 - Contagem diferencial (%) de macrófagos (M), linfócitos (L), neutrófilos (N), eosinófilos (E), células epiteliais cilíndricas (CE), e mastócitos do lavado broncoalveolar de cavalos da raça Quarto de Milha em prova de laço em dupla (G2), após infusão de 100 ml de solução salina 0,9%.

N° Animal	%M	%L	%N	%E	%CE	%MT
01	56,80	39,80	0,00	3,40	0,00	0,00
02	62,54	34,10	2,85	0,51	0,00	0,00
03	40,00	60,00	0,00	0,00	0,00	0,00
04	54,50	39,00	6,00	0,5	0,00	0,00
05	40,00	60,00	0,00	0,00	0,00	0,00
06	44,60	47,80	7,60	0,00	0,0	0,00
07	66,50	33,50	0,00	0,00	0,0	0,00
08	53,00	44,00	2,30	0,70	0,0	0,00
09	42,50	55,50	2,00	0,00	0,0	0,00
10	37,21	52,46	0,00	7,64	0,0	2,69
11	33,61	56,52	2,89	4,63	0,0	2,35
12	59,36	28,20	7,32	3,29	0,0	1,83
13	59,30	32,58	1,30	5,67	0,00	1,15
14	48,54	38,55	3,74	7,48	1,69	0,00
15	47,76	35,61	4,18	12,45	0,00	0,00
16	31,44	54,40	7,86	2,22	4,08	0,00
17	56,12	35,88	2,15	4,79	1,06	0,00
18	48,50	46,06	1,72	1,10	2,62	0,00
19	62,22	31,11	1,85	0,74	4,08	0,00
20	52,63	40,79	2,03	4,2	0,28	0,00
m	49,86	43,29	2,79	2,97	0,69	0,40
s	10,11	10,16	2,59	3,38	1,35	0,86

Tabela 5 - Percentagem de hemossiderófagos (Hem) e escore THS no lavado broncoalveolar de cavalos da raça Quarto de Milha em provas de seis balizas e três tambores (G1).

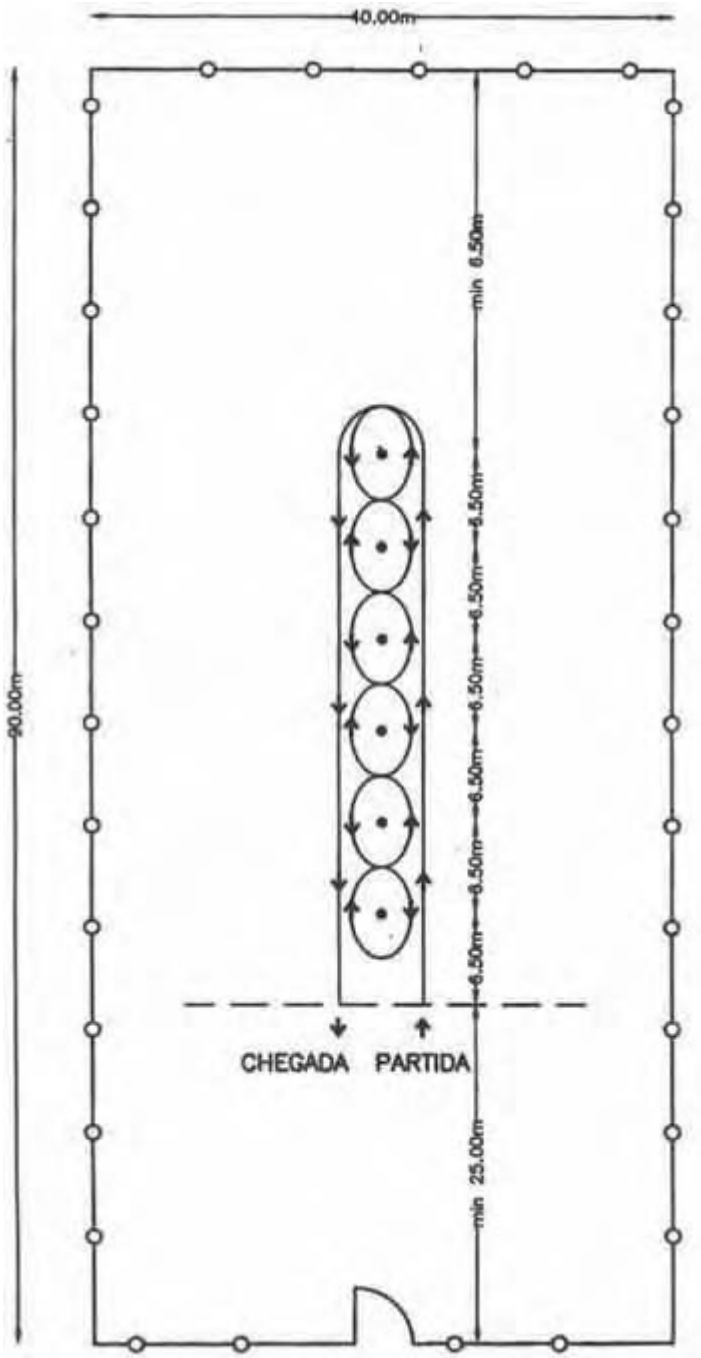
N° Animal	% Hem	THS
01	25,00	123,33
02	1,00	NR*
03	0,00	1,00
04	76,00	199,66
05	15,00	30,00
06	2,00	3,00
07	0,50	2,66
08	1,00	2,00
09	19,00	22,00
10	50,00	97,33
11	40,00	78,00
12	11,00	26,00
13	0,90	0,98
14	0,90	1,85
15	4,50	11,16
16	5,50	9,83
17	2,50	2,60
18	1,80	1,89
19	1,36	2,48
20	0,16	0,16
21	1,30	2,68
22	0,90	1,53
23	57,22	129,01
24	0,67	0,79
25	6,59	8,18
26	5,51	8,93
27	1,25	1,96
28	12,50	21,94
29	0,89	1,45
30	2,16	3,52
31	7,71	10,00
32	2,35	2,77
33	2,46	2,68
34	4,92	6,78
35	27,86	65,36
36	9,69	17,19
37	25,00	46,43
38	0,06	1,00
39	5,31	7,50
40	28,75	60,83
m	11,53	26,06
s	17,48	308,57

- * NR=Não realizado

Tabela 6 - Percentagem de hemossiderófagos (Hem) e escore THS no lavado broncoalveolar de cavalos da raça Quarto de Milha em prova de laço em dupla (G2).

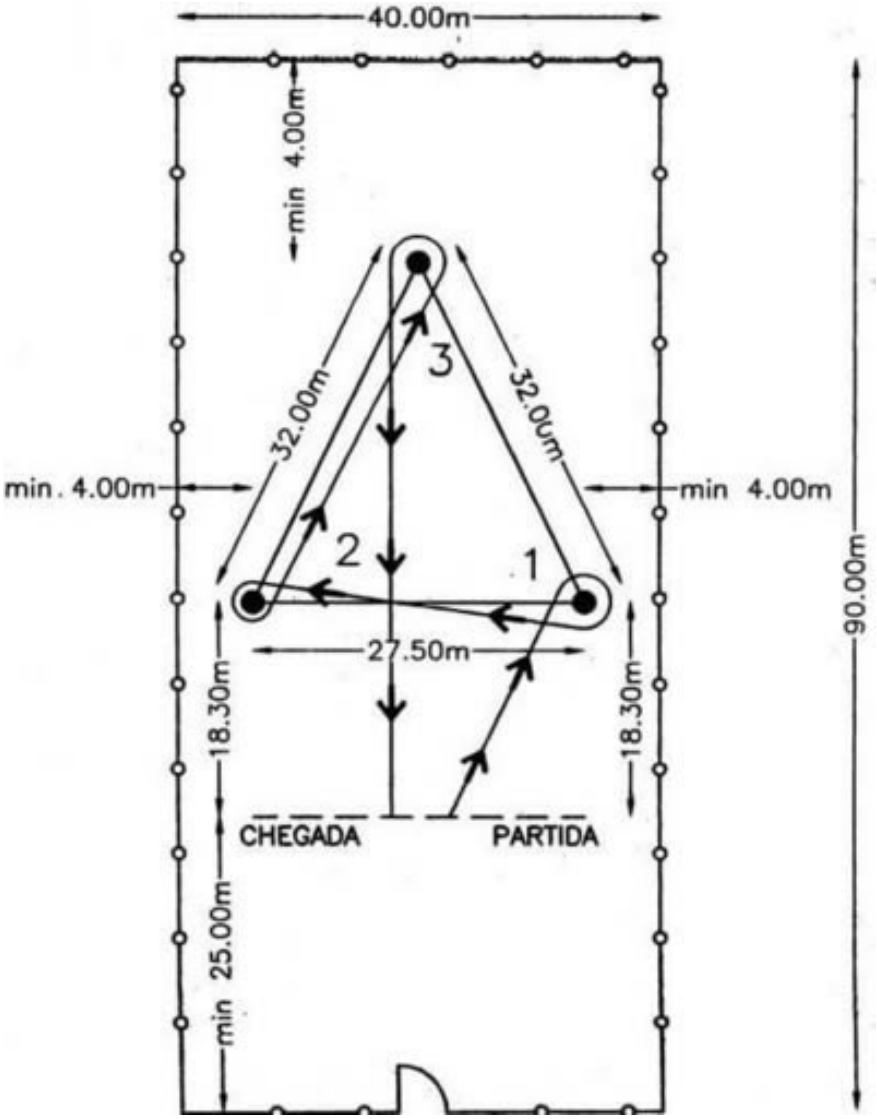
N° Animal	% Hem	THS
01	1,76	3,91
02	6,27	15,27
03	7,67	10,33
04	9,42	13,04
05	11,92	17,31
06	8,91	11,63
07	7,29	11,11
08	12,00	16,00
09	3,85	4,62
10	13,91	30,94
11	6,45	11,82
12	16,91	26,84
13	0,60	6,60
14	1,72	2,30
15	1,82	3,64
16	19,59	35,92
17	3,50	5,87
18	5,00	6,25
19	4,62	6,77
20	2,08	3,47
m	7,26	12,18
s	5,34	9,44

Figura 1: Planta ilustrativa da pista da prova de seis baliza



Fonte: ABQM (Associação Brasileira do Quarto de Milha).

Figura 2: Planta ilustrativa da pista da prova de três tambores



Fonte: ABQM (Associação Brasileira do Quarto de Milha).

A

Figura 3 – Sonda de Lavado Broncoalveolar, Bivona Co., com 300 cm de extensão e 10 mm de diâmetro, numa extremidade o cuff do cateter de lavagem.

B

Figura 4 – Grau V: quantidade abundante de sangue por toda traquéia, laringe, faringe e fossas nasais – epistaxe.