UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
CÂMPUS DE JABOTICABAL

EFEITOS DA ESTABULAÇÃO SOBRE O TRATO RESPIRATÓRIO DE EQUINOS EM DOIS TIPOS DIFERENTES DE CAMAS E A PASTO

Karina Calciolari
Médica Veterinária

2016

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

CÂMPUS DE JABOTICABAL

EFEITOS DA ESTABULAÇÃO SOBRE O TRATO RESPIRATÓRIO DE EQUINOS EM DOIS TIPOS DIFERENTES DE CAMAS E A PASTO

Karina Calciolari

Orientador: Prof. Dr. José Corrêa de Lacerda Neto

Co-orientadora: Dra. Kamila Gravena

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Cirurgia Veterinária.

2016

Calciolari, Karina
C144e Efeitos da estabulação sobre o trato respiratório de equinos em dois tipos diferentes de camas e à pasto / Karina Calciolari. – – Jaboticabal, 2016
xxii, 85 p.: il.; 29 cm

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2016
Orientador: José Correa de Lacerda Neto
Banca examinadora: Pedro Vicente Michelotto Junior, Annelise Carla Camplesi dos Santos.
Bibliografia

1. Lavado broncoalveolar. 2. Maravalha. 3. Serragem. 4. Processo alérgico. 5. Cavalos. I. Título. II. Jaboticabal - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.

CDU 619:612.2:636.1

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

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Jaboticabal

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO: EFEITOS DA ESTABULAÇÃO SOBRE O TRATO RESPIRATÓRIO DE EQUINOS EM DOIS TIPOS DIFERENTES DE CAMAS E A PASTO

AUTORA: KARINA CALCIOLARI

ORIENTADOR: JOSÉ CORREA DE LACERDA NETO

COORIENTADORA: KAMILA GRAVENA

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestra em CIRURGIA VETERINÁRIA, pela Comissão Examinadora:

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

Prof. Dr. PEDRO VICENTE MICHELOTTO JUNIOR
Pontifícia Universidade Católica / PUC - São José dos Pinhais/PR
Participação por Videoconferência

Profa. Dra. ANNIELISE CARLA CAMPI ESI DOS SANTOS
Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária / FCAV/UNESP-Jaboticabal

Jaboticabal, 22 de fevereiro de 2016.

DADOS CURRICULARES DA AUTORA

KARINA CALCIOLARI – nascida em São Carlos/SP, em 16 de outubro de 1987, filha de Leonelo Antônio Calciolari e Aparecida Donizetti Rabello Calciolari.

Graduada em Medicina Veterinária pela Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - Universidade Estadual Paulista (Unesp) em dezembro de 2011 com trabalho de conclusão de curso intitulado “Hipersensibilidade à picada de moscas em equinos: Caso de interesse”, sob orientação do Prof. Dr. Bruno Watanabe Minto e coorientação do Prof. Dr. José Corrêa de Lacerda Neto.

Concluiu curso de pós-graduação Latu Sensu (Aprimoramento) em Clínica e Cirurgia de Grandes Animais na Universidade de Franca – UNIFRAN – Franca, SP, em fevereiro de 2012, obtendo título de especialista em fevereiro de 2014. Apresentando as monografias intituladas por “Lesão por arame farpado na região do antebraço em equino: Relato de caso” (Janeiro de 2013) e “Urolitíase uretral obstrutiva em equino: Relato de Caso” (Janeiro de 2014), ambas sob orientação do Prof. Dr. José Abdo de Andrade Hellú.

Ingressou no curso de pós-graduação Stricto Sensu (Mestrado) em Cirurgia Veterinária na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinária – Universidade Estadual Paulista – Campus de Jaboticabal em março de 2014 sob orientação do prof. Dr. José Corrêa de Lacerda Neto e coorientação da Dra. Kamila Gravena sendo concluído em fevereiro de 2016.

“Lâmpada para os meus pés é a tua palavra e, luz para os meus caminhos.”

(Salmo 119.105)

DEDICATÓRIA

Assim como no meu trabalho de conclusão de curso que dediquei ao Goldy e monografia de residência que dediquei a Tinker Bell, dedicarei esta dissertação a mais um cavalo que se tornou parte da minha vida durante o período que realizei o mestrado: Karamelo.

Conheci o Karamelo ainda durante minha graduação em 2009... Apaixonei-me logo de cara, mas por destino talvez, os anos se passaram e nunca consegui comprá-lo... Acabei a graduação, depois a residência... sempre segui cada passo seu, mesmo que de longe. Em 2012 ele foi levado para uma fazenda a qual não conhecia e fiquei quase dois anos sem vê-lo, mas nunca o esqueci. Em 2014, após uma saga "CSI" descobri onde estava e fui vê-lo... A emoção foi grande, o mesmo olhar de sempre, a mesma doçura e consegui comprá-lo finalmente.

Á este sonho realizado, por fazer meus dias mais completos, por ser um dos motivos de eu continuar lutando, a quem me espelho por tirar forças de onde não sabia que existia e de superar a cada obstáculo. A ele em que confio e me faz sentir capaz de fazer coisas que ninguém colocava fé: Meu guerreiro Karamelo....

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente à Deus que me deu a oportunidade de voltar a minha "casa" FCAV e Jaboticabal, cidade a qual aprendi a gostar e sinto saudades quando vou embora.

Agradeço minha família:

Ao meu pai Leonelo, que sempre esteve ao meu lado em cada passo acadêmico que segui, me deu forças e não me deixou desistir quanto as dificuldades apareceram. Quem apesar do "trauma" com cavalos aprendeu a admirá-los devido minha grande paixão por tal criatura e me ajudou a realizar o sonho "CSI Karamelo". Meu porto seguro, a quem me espelho e que fez possível tudo que realizei até hoje.

À minha irmã Luciana, a quem admiro pela coragem, dedicação e garra. Quem me inspirou a seguir essa profissão e apesar de seguirmos ramos diferentes é uma grande companheira de profissão.

À minha mãe, que mesmo com muitas brigas sempre se fez estar presente, acreditando no meu sonho, quem num momento "ingênuo" me levou até os cavalos tentando trazer um conforto e um escape do estresse que representava o vestibular, início da faculdade. Momento que marcou minha vida e reacendeu uma paixão de infância: Os Cavalos! Quem sofreu comigo cada fase da saga CSI Karamelo... e que deu um "empurrãozinho" para que desse certo.

Ao meu orientador:

Prof. Lacerda (Juca), que me aceitou como orientada mesmo não me conhecendo tão bem como outros ex-graduandos. Obrigada pelo apoio, pela paciência, pelos conselhos e por tornar possível mais esta etapa na minha vida.

Aos professores:

Aos Prof. Michelotto, a quem tive o prazer de conhecer durante uma disciplina da pós graduação, que me fez apreciar e olhar de maneira diferente o Sistema Respiratório de Equinos, o qual nunca imaginei trabalhar e por ordem do "destino" (e/ou do meu orientador) me fez aprofundar no assunto e gostar. Obrigada por estimular com todo seu ânimo e paixão pelo que faz, a semana que passamos juntos foi de extrema importância para este trabalho se completasse e novas idéias

surgissem.

À profa. Annelise, que sempre me atendeu prontamente a cada convite de participação de banca, trazendo importantes considerações na qualificação e defesa. Obrigada pela paciência de ler e atentar a cada correção, página por página. Espero ter atendido às suas expectativas!

Ao professor João Ademir que com toda paciência do mundo me ajudou a realizar as análises estatísticas desse trabalho, sempre me recebendo em sua sala fizesse sol, chuva ou falta de energia no campus! Graças ao Sr. Foi possível concluir esse trabalho e transformar um monte de números em resultados.

À profa Rita, que me recebeu em seu departamento e tornou possível a análise que considero mais importante deste trabalho: crescimento fungico nas camas e no feno. Agradeço também a Rô, com sua experiência excepcional, sem a qual nunca conseguiria identificar todos aqueles fungos tão parecidos!

Aos meus amigos:

Primeiramente a Kamila, minha co-orientadora, quem acabou se tornando uma grande amiga. Obrigada pela cumplicidade, pela paciência, por corrigir meus trabalhos mesmo que te entregasse em cima da hora e até nas férias de Natal, para que essa dissertação ficasse pronta a tempo.

Nara, que acompanhou cada episódio da Saga CSI-Karamelo e me deu muito apoio.

Ao Vinícius, sem o qual esse projeto não teria começado e me ajudou a fazer praticamente todas às análises e procurou os professores certos para nos aconselhar para tal.

À Daniela com seu jeito próprio, desenrolado, por estar sempre disposta a ajudar.

Á Luciane, Luiz e Carolzinha, que sempre me receberam em sua casa como se fosse da família.

Á Lisiane que se mostrou mais que amiga, me apoiando ou dando bronca quando necessário.

Ao Marcio que me deu a oportunidade de curtir meu cavalo de maneira diferente e me fazer acreditar que eu era capaz de realizar mais coisas do que imaginava. Ao seu Pico, pelos inúmeros almoços maravilhosos.

Ao Darcio e a Raquel, que apesar das idas e vindas, sempre me receberam em seu haras.

Ao Deco que ajudou e fez com que esse trabalho fosse possível, principalmete com a Latifa.

Aos cavalos:

Primeiramente aos que colaboraram para que esse trabalho fosse possível: Latifa, Zannan, Liphard, Khadija, Osama, Nazeer, Said, El Ali, Cigana, Pintado, Arabinho, Castanha, MP e Nobre os quais me deram o prazer de ver o setor de cocheiras da equinocultura da FCAV cheia de cavalos (algo que sempre sonhei durrante a graduação). Além de todos os outros cavalos que passaram por mim durante estes anos, me ensinando muito e me dando a certeza que quando escolhermos seguir o que amamos, nunca teremos que "trabalhar". Não há nada mais que me faça sentir útil, bem e realizada do que trabalhar ao lados deles!

Aos funcionários da Pós-Graduação que sempre me ajudaram em cada dúvida.

À CAPES a qual me forneceu auxílio durante esse período.

A todos que não citei aqui, mas que de um modo ou outro estiveram presente, torceram e me ajudaram nessa jornada.

Muito Obrigada

SUMÁRIO

PÁGINA

RESUMO iv
LISTA DE ABREVIATURAS vi
LISTA DE TABELAS viii
1. INTRODUÇÃO 1
2. REVISÃO DA LITERATURA 2
2.1. Anatomo-fisiologia do sistema respiratório 2
2.2. Fatores predisponentes de irritações do sistema respiratório 8
2.3. Métodos de diagnóstico de afecções respiratórias 10
2.3.1. Exame físico do sistema respiratório 10
2.3.2. Hemograma 12
2.3.3. Hemogasometria 12
2.3.4. Lavado broncoalveolar (LBA) 14
3. OBJETIVOS 18
3.1. Objetivos gerais 18
3.2. Objetivos específicos 18
4. MATERIAIS E MÉTODOS 19
4.1. Aspéctos éticos 19
4.2. Animais e instalações 19
4.3. Exames realizados 21
4.3.1. Exame clínico 21
4.3.2. Temperatura ambiente e umidade relativa do ar 22
4.3.3. Análises hematológicas 22
4.3.4. Lavado broncoalveolar 23
4.3.5. Análise das camas e feno 24
4.4. Delineamento experimental e análises estatísticas 27
5. RESULTADOS 28
5.1. Exame clínico 28
5.2. Temperatura ambiente e umidade relativa do ar 29
5.3. Análises hematológicas 31

5.4. Lavado broncoalveolar 38
5.5. Análise micológica e grau de dispensão de partículas das camas e feno..... 44
6. DISCUSSÃO 51
7. CONCLUSÃO..... 62
8. REFERÊNCIAS..... 63
9. APÊNDICE..... 76

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

CEUA – COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

C E R T I F I C A D O

Certificamos que o Projeto intitulado "**Avaliação do sistema respiratório de equinos higidos submetidos a dois tipos diferentes de cama e à pasto**", protocolo nº 21034/15, sob a responsabilidade do Prof. Dr. José Correa de Lacerda Neto, que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao Filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da lei nº 11.794, de 08 de outubro de 2008, no decreto 6.899, de 15 de junho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA), da FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS, UNESP - CÂMPUS DE JABOTICABAL-SP, em reunião ordinária de 04 de dezembro de 2015.

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

Jaboticabal, 04 de dezembro de 2015.

Profª Drª Lizandra Amoroso
Coordenadora – CEUA

Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias
Via de Acesso Prof. Paulo Donato Castellane, s/n CEP 14884-900 - Jaboticabal - SP - Brasil
Tel. 16 3209 2600 - fax 16 3202 4275 www.fcav.unesp.br

EFEITOS DA ESTABULAÇÃO SOBRE O TRATO RESPIRATÓRIO EM DOIS TIPOS DIFERENTES DE CAMAS E À PASTO

RESUMO – As afecções do sistema respiratório são a segunda causa de queda de desempenho e afastamento dos equinos do esporte ou trabalho, as quais estão atrás somente das desordens musculoesqueléticas. A estabulação e alimentação a base de fenos predispõe os equinos a inalação de grande número de agentes irritantes as vias aéreas. No intuito de mensurar a influência dos tipos de cama utilizado em baias de equinos nas respostas alérgicas das vias aéreas estudou-se 3 grupos com 5 equinos cada sendo dois mantidos em cocheiras com diferentes tipos de forração à base de madeira (maravalha de pinus autoclavada-MA e serragem-SE) e por último um grupo controle à pasto por 45 dias com avaliações quinzenais (D0, D15, D30 e D45). Foi realizado nestes momentos o exame físico, coleta de amostras de sangue venoso e arterial para realização de hemograma e hemogasometria respectivamente, lavado broncoalveolar com análise citológica e mensuração de fosfatase alcalina, além de amostras das camas (limpa e suja) e feno pré-secado para análise micológica. No exame físico foi notado tosse e espirros em maior intensidade e número nos equinos do grupo SE. A análise hematológica permaneceu dentro dos padrões de normalidade. Já nos achados hemogasométricos os maiores valores de pH foram observados nos equinos à pasto (7,47 ± 0,02). Nos grupos embaiados foi observado valores de pressão parcial de dióxido, de D15 à D45, inferiores (valores entre 38,3 a 43,7 mmHg) ao grupo a pasto (valores entre 43,7 a 46,5 mmHg), sendo os valores de pressão parcial de oxigênio inversamente proporcionais (MA e SE: valores entre 103,6 a 127,78 mmHg e à pasto: 88,2 a 103,6 mmHg). Os principais achados no lavado broncoalveolar basearam-se na contagem de células nucleadas totais no que apresentou maiores valores em todos os momentos nos animais à pasto (251,0 a 336,8 x 10^3/ µL), seguido do grupo SE (197,0 a 248,6 x 10^3/ µL) e por último o MA (140,6 à 270,2 x 10^3/ µL). Dentre as células nucleadas os macrófagos representaram maior porcentagem seguidos dos linfócitos (51,2 a 80,8% e 6,6 a 33,2% respectivamente). Um padrão inesperado foi observado na população de neutrófilos, os quais com os passar dos momentos houve decréscimo, com excessão do grupo MA que apresentou um pico no D30 (35%), relacionado ao pico de fosfatase alcalina (27,6 ± 14,98 UI/L) neste mesmo momento. Foram identificados cerca de 12 gêneros fúngicos em ambas camas e 17 no alimento volumoso, sendo neste último encontrado gêneros patogênicos como *Aspergillus* (0,85 ± 2,2%), *Fusarium* (5,35 ± 9,23%) e *Penicílium* (4,81 ± 9,53%), porém em baixas porcentagens. A principal diferença entre as camas baseou-se na capacidade da produção e dispersão de partículas finas passíveis de inalação, a qual foi maior para a serragem (MA: 15,29 % e SE: 18,28%). Concluiu-se que a cama de maravalha além de ter manejo mais fácil, apresentou menor capacidade irritativa das vias aéreas superiores do que a serragem. As condições de manejo e estabulações utilizadas foram ideais, servindo de modelo quanto a ventilação e higienização das baias.

Palavras Chave: Lavado broncoalveolar, maravalha, serragem, processo alérgico, fungos, cavalos.

STABLING EFFECTS ABOUT HORSE'S RESPIRATORY TRACT IN TWO DIFFERENT TYPES BEDS AND PASTURE

ABSTRACT – Horse respiratory diseases is second most commom cause of poor performance and premature retirement, which the one are musculoskeletal disorders. The stabling and poor quality feedings may the favor predispose of diseases in airways. In order we measure the influence of the types of bedding used in the horse stalls about responses allergic airway. Three groups of five horses each are formated, two groups kept in stables but each group with a different type of bedding (autoclaved wood- MA shaving and sawdust-SE) . The third group is the control and stays at pasture. The groups remained in this condition for 45 days with biweekly reviews (D0, D15, D30 and D45). It was realize the physical examination, venous and arterial blood samples collection to realize hemogram and hemogasometry analysis, the bronchoalveolar lavage samples was colected to realize the cytological analysis and to measure alkaline phosphatase. In addition, samples of the beds (clean and dirty) and haylage was collected to realize mycological analysis. In the physical examination was noticed higher intensity of coughing and sneezing at SE group. Hematological analysis remained within the normal standards. Findings of hemogasometric analysis were observed the biggest pH values at horses to pasture (7.47 ± 0.02). At stables horses was observed smaller values of partial pressure dioxide (D15 to D45), (values between 38.3 to 43.7 mmHg) to horses to pasture (values between 43.7 to 46.5 mmHg). The values oxygen partial pressure it was inversely proportional to partial pressure dioxide (MA and SE: values between 103.6 to 127.78 mmHg and pasture: 88.2 to 103.6 mmHg). It was observate higher values of nucleated cells of bronchoalveolar lavage, at all times, in animals to pasture (251.0 to 336.8 x 10^3 / mL), followed by the SE group (197.0 to 248.6 x 10^3 / mL) and finally MA group (140.6 to 270.2 x 10^3 / mL). The macrophages cells represented the biggest percentage of nucleates cells on bronchoalveolar lavage followed by lymphocytes (51.2 to 80.8% and 6.6 to 33.2% respectively). An unexpected pattern was observed in percentange of neutrophils cells, that it was a decrease over the time. One exception it was with MA group that had the biggest percentage values in D30 (35%), it was related to alkaline phosphatase peak at same time (27.6 ± 14.98 IU / L). Were identified about 12 fungi genres in both beds and 17 fungi genres at haylage. We indentified pathogenic genres in haylage as *Aspergillus* (0.85 ± 2.2%), *Fusarium* (5.35 ± 9.23%) and *Penicillium* (4 , 81 ± 9.53%), however in lower percentages. It was observate a difference production capacity and fine particle dispersion between the bed, that the biggest it was notice at sawdust (MA: 15.29% and SE: 18.28%). It was concluded that wood shavings bed is easier to use and showed less irritative capacity upper airway to que sawdust. As management and stabling conditions used were ideals and it was a ideal model of stables.

Keywords: Bronchoalveolar lavage, wood shavings, sawdust, allergic process, fungi, horses.

LISTA DE ABREVIATURAS

bpm	Batimentos por minuto
C1-C15	Cavalos utilizados no experimento
CEUA	Comissão de Ética no Uso de Animais
HCO_3a	Bicarbonato arterial
CNT	Células nucleadas totais
CO_2	Dióxido de Carbono
CONCEA	Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal
D0	Momento basal, análises antes de iniciar o experimento
D15, D30, D45	Análises quinzenais realizadas após 15,30 e 45 dias do início do experimento
DIVA	Doença Inflamatória das Vias Aéreas
E0	Escore: ausência de sinais clínicos
E1	Escore: tosse e espirros esporádicos
E2	Escore: tosse e espirros persistentes
EDTA	Ácido etilenodiamino tetra-acético
Eo	Eosinófilo
He	Eritrócitos
FA	Fosfatase alcalina
Fb	Fibrinogênio
FC	Frequência Cardíaca
FR	Frequência Respiratória
GLM	General Linear Models
Hb	Hemoglobina
Ht	Hematócrito
IgE	Imunoglobulina do tipo E
IgG	Imunoglobulina do tipo G
Lat	Latitude
LBA	Lavado Broncoalveolar
Lf	Linfócitos

LIMPA	Cama das baias antes de serem utilizadas
Long	Longitude
MA	Maravalha autoclavada
MC/ Mc	Macrófagos
mL	Mililitros
mmHg	Milímetros de mercúrio (unidade de pressão)
Mo	Monócitos
mpm	Movimentos por minuto
NaCl 0,9%	Solução fisiológica de cloreto de sódio à 0,9 por cento
nm	Nanômetro (unidade métrica)
NS	Neutrófilo segmentado
ºC	Graus Celsius (unidade térmica)
ORVA	Obstrução Recorrente das Vias Aéreas
P	Peso medido em quilogramas
Param.	Parâmetros
P0, P15, P30 e P45	Período: Médias dos valores de 15 dias antes do momentos experimentais nos quais foram realizados coletas.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Médias ± desvio padrão da média dos parâmetros avaliados no LBA de equinos sadios com seus respectivos autores. 15

Tabela 2. Médias ± desvio padrão da média dos pesos (kg) de equinos divididos em grupos em quatro momentos distintos.....28

Tabela 3. Médias ± desvio padrão da média dos linfócitos (x 10^3/ µL) mensurados no sangue venoso de equinos divididos em grupos em quatro momentos distintos. 31

Tabela 4. Médias ± desvio padrão da média dos eosinófilos (x 10^3/ µL) mensurados no sangue venoso de equinos divididos em grupos em quatro momentos distintos. 32

Tabela 5. Médias ± desvio padrão da média dos eritrócitos (x 10^3/ µl) mensurados no sangue venoso de equinos divididos em gruposem quatro momentos distintos. 32

Tabela 6. Médias ± desvio padrão da média de hemoglobina (g/dL) mensurada no sangue venoso de equinos divididos em grupos em quatro momentos distintos. 33

Tabela 7. Médias ± desvio padrão da média do hematócrito (%) mensurado no sangue venoso de equinos divididos em grupos em quatro momentos distintos. 33

Tabela 8. Médias ± desvio padrão da média do pH mensurado no sangue arterial de equinos divididos em grupos em quatro momentos distintos. 34

Tabela 9. Médias ± desvio padrão da média de bicarbonato (HCO_3^-) determinado no sangue arterial de equinos divididos em grupos em quatro momentos distintos. 35

Tabela 10. Médias ± desvio padrão da média da pressão parcial de dióxido de carbono (PCO_2) em mmHg mensurada no sangue arterial de equinos divididos em grupos em quatro momentos distintos.....36

Tabela 11. Médias ± desvio padrão da média da pressão parcial de oxigênio (PO_2) mensurada em mmhg no sangue arterial de equinos divididos em grupos em quatro momentos distintos.....37

Tabela 12. Médias ± desvio padrão da média de neutrófilos (%) mensurados no lavado broncoalveolar de equinos divididos em grupos em quatro momentos distintos.....39

Tabela 13. Médias ± desvio padrão da média de linfócitos (%) mensurados no lavado broncoalveolar de equinos divididos em grupos em quatro momentos distintos.....40

Tabela 14. Médias ± desvio padrão da média da frequência dos gêneros de fungos das camas. 45

Tabela 15. Avaliação qualiquantitativa da porcentagem de partículas inferiores a 1000 µm presentes nas camas.....50

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Planta baixa do pavilhão de baias do setor de equinocultura da fcav/unesp, demonstrando à disposição dos grupos, sendo os equinos do grupo ca (cama autoclavada) numerados de 1 a 5 (C1-C5) e os equinos do grupo se (serragem comum) numerados de 6 a 10 (C6-C10). As baias em cinza permaneceram vazias. 20

Figura 2. Foto comparativa dos dois tipos de cama utilizados nas baias. **A)** Serragem (SE) **b)** Maravalha autoclavada (MA).....21

Figura 3. Placa de petri com 3 camadas de papel filtro embebido em água destilada com 10 unidades de cama de uma mesma amostra distribuídas uniformemente.....25

Figura 4. Sinais clínicos referentes à irritação das vias aéreas observados nos três grupos de equinos (MA: cama de maravalha autoclavada, SE: cama de serragem comum e PASTO: equinos mantidos em piquete) de acordo com escores de 0 a 2 (E0: ausência de sinais clínicos, E1: tosse e espirros esporádicos e E2: tosse e espirros persistentes). Animais divididos em 3 grupos para comparação.....29

Figura 5. Comparação da temperatura ambiente (T) máxima, mínima e média são descritas pelo gráfico em linhas em cores em graus celsius. A umidade relativa do ar (UR) máxima, mínima e média descritas pelo gráfico em barras em tons de cinza. Os momentos (P0, P15, P30 e P45) referem-se às médias dos valores de 15 dias antes do momentos experimentais nos quais foram realizados coletas. 30

Figura 7. Médias ± desvio erro padrão da média de pH mensurado em sangue arterial de equinos divididos em três grupos (MA: cama de maravalha autoclavada, SE: cama de serrgem comum e PASTO: animais em piquete) nos momentos basal (D0) e posteriores avaliações quinzenais (D15, D30 e D45). *médias assinaladas com asteriscos ou por letras distintas diferem dos demais grupos no momento ($p \leq 0,05$). 34

Figura 8. Médias ± erro padrão da média de bicarbonato (HCO_3) mensurado em mmhg no sangue arterial de equinos divididos em três grupos (ma: cama de maravalha autoclavada, se: cama de serrgem comum e pasto: animais em piquete) no momento basal (D0) e posteriores avaliações quinzenais (D15, D30 e D45). *média assinalada com asterisco difere dos demais grupos no momento ($p \leq 0,05$). 35

Figura 9. Médias ± erro padrão da média da pressão parcial de dióxido de carbono (PCO_2) mensurado em mmhg no sangue arterial de equinos divididos em três grupos (MA: cama de maravalha autoclavada, SE: cama de serrgem comum e PASTO: animais em piquete) nos momentos basal (D0) e posteriores avaliações quinzenais (D15, D30 e D45). Médias seguidas por letras distintas diferem dos demais grupos no momento (p≤ 0,05). 36

Figura 10. Médias ± erro padrão da média da pressão parcial de oxigênio (PO_2) mensurado em sangue arterial de equinos divididos em três grupos (MA: cama de maravalha autoclavada, SE: cama de serrgem comum e pasto: animais em piquete) nos momentos basal (D0) e posteriores avaliações quinzenais (D15, D30 e D45). Médias seguidas por letras distintas diferem dos demais grupos no momento (p≤0,05). 37

Figura 11. Média ± erro padrão da média da porcentagem de fluido recuperado no lavado broncoalveolar (LBA) de 15 equinos separados em 3 grupos: MA (baias com cama de maravalha autoclavada), SE (baias com cama de serragem) e PASTO (animais em piquete) nos momentos basal (D0) e posteriores avaliações quinzenais (D15, D30 e D45).....38

Figura 12. Médias ± erro padrão da média das células nucleadas totais (CNT) mensuradas no lavado broncoalveolar de equinos divididos em três grupos (MA: cama de maravalha autoclavada, SE: cama de serragem comum e PASTO: animais em piquete) no momento basal (D0) e posteriores avaliações quinzenais (D15, D30 e D45).....39

Figura 13. Médias ± erro padrão da média dos neutrófilos segmentados (NS) mensuradas no lavado broncoalveolar de equinos divididos em três grupos (MA: cama de maravalha autoclavada, SE: cama de serragem comum e PASTO: animais em piquete) no momento basal (D0) e posteriores avaliações quinzenais (D15, D30 e D45). *média com asterisco diferente dos demais grupos no momento (p≤0,05).....40

Figura 14. Médias ± erro padrão da média dos linfócitos (Lf) mensuradas no lavado broncoalveolar de equinos divididos em três grupos (MA: cama de maravalha autoclavada, SE: cama de serragem comum e PASTO: animais em piquete) no momento basal (D0) e posteriores avaliações quinzenais (D15, D30 e D45). 41

Figura 15. Médias ± erro padrão da média de macrófagos (Mc) mensurados no lavado broncoalveolar de equinos divididos em três grupos (MA: cama de maravalha autoclavada, SE: cama de serragem comum e PASTO: animais em piquete) no momento basal (D0) e posteriores avaliações quinzenais (D15, D30 e D45). 42

Figura 16. Médias ± erro padrão da média de eosinófilos (Eo) mensurados no lavado broncoalveolar de equinos divididos em três grupos (MA: cama de maravalha autoclavada, SE: cama de serragem e PASTO: animais em piquete) no momento basal (D0) e posteriores avaliações quinzenais (D15, D30 e D45). 42

Figura 17. Fotomicrografias de análise citológica de LBA de equino. **A)** eosinófilo (seta vermelha), linfócito (seta preta). **B)** macrófago (seta preta), neutrófilo (seta azul), panótico romanowski, 1000x. 43

Figura 18. Fosfatase alcalina mensurada no sobrenadante do lavado broncoalveolar de 15 equinos divididos em três grupos: cama de maravalha autoclavada (MA), serragem comum (SE) e piquete (PASTO), nos momentos D0 (basal), D15 (primeira avaliação quinzenal), D30 (segunda avaliação quinzenal) e D45 (terceira avaliação quinzenal).....44

Figura 19. Frequência dos gêneros de fungos das camas antes do uso (LIMPA) e após quinze dias de uso (SUJA) no grupo de equinos em baias com cama de maravalha autoclavada (MA). *gêneros seguidos por asterisco diferirem entre cama limpa e suja (p≤ 0,05). 46

Figura 20. Média ± erro padrão da média da porcentagem de gêneros fúngicos observados em 26 amostras, escolhidas ao acaso, de feno de tifton pré secado utilizado na alimentação dos equinos durante todo o período experimental. 48

Figura 21. Fotomicrografias das espécies dos gêneros fúngicos encontrados em 26 amostras de feno de capim tifton pré secado escolhidas ao acaso utilizado na alimentação dos equinos durante todo o período experimental, identificação e aumento microscópico utilizado estão descritos nas imagens. 49

Figura 22. Fotomicrografias das partículas finas das camas de maravalha autoclavada (A) e serragem (B).....50

1. INTRODUÇÃO

Os equinos, durante sua vida, podem desenvolver distúrbios do aparelho respiratório de caráter agudo ou crônico, as quais estão associadas ao déficit de desempenho esportivo e pausas no treinamento. Estas afeções eventualmente são responsáveis até mesmo por aposentadorias precoces, levando a grandes perdas econômicas. A morbidade das afecções do trato respiratório é uma das causa mais importantes de queda de desempenho em equinos que praticam atividade esportiva, só ficando atrás das afecções musculoesqueléticas.

Muitas vezes os animais vêm de manejo à pasto e para melhor controle e manipulação, estes são estabulados e começam a apresentar sintomas respiratórios, incriminando-se a estabulação como o determinante para surgimento das enfermidades. Vários fatores, relacionados às baias, são implicados e responsáveis pelo aparecimento de afecções respiratórias, à saber, ambiente mal ventilado, má localização, grau de lotação, tipo de cama e manejo alimentar. Sobre este último item, o feno é especialmente incriminando. A doma ou o treinamento também influenciam na queda da resistência imunológica dos equinos devido ao estresse e podem contribuir para o desenvolvimento de doenças. Essas condições resultam em uma série de questionamentos sobre os fatores intrínsecos e extrínsecos responsáveis pelos processos mórbidos do sistema respiratório. O diagnóstico precoce, ainda que subclínica, facilita a adoção de medidas preventivas e pode orientar o tratamento, oferecendo assim melhor prognóstico.

A avaliação do lavado broncoalveolar (LBA) é descrita como o melhor método de coleta de material para análise das vias aéreas inferiores de equinos. A análise qualiquantitativa traz informações importantes quanto à sanidade desse sistema e diagnóstico precoce no caso de afecções subclínicas. Esses parâmetros associados a exames hemogasométricos garantem informações do nível de aproveitamento do oxigênio pelas células e a eficácia das trocas gasosas. O LBA condizente com inflamação, associado ao aumento na concentração de gás carbônico arterial, indicam importantes alterações do sistema respiratório e justificam possíveis quedas de desempenho, uma vez que a produção de energia não está sendo eficiente.

Levando em consideração a importância do sistema respiratório para o desenvolvimento da atividade atlética do equino torna-se imprescindível estudar os fatores predisponentes a doenças. Sendo assim, objetivou-se a avaliação de três grupos de equinos estabulados em diferentes tipos de cama ou à pasto, por meio de avaliações clínicas, exames laboratoriais e lavado broncoalveolar. Também foi avaliado a composição micológica das camas e do feno no intuito de mensurar o efeito destes fatores sobre os parâmetros clínicos e laboratoriais.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1. ANATOMO-FISIOLOGIA DO SISTEMA RESPIRATÓRIO

O sistema respiratório tem a função de fornecer oxigênio (O_2) aos tecidos, transportando-o pelas hemácias e de remover o dióxido de carbono (CO_2), um dos produtos do metabolismo celular (JONES, 2000, ROBINSON; FURLOW, 2007, THOMASSIAN, 2012,). A respiração é dividida em cinco eventos: I) ventilação pulmonar, II) difusão de gases entre os alvéolos e o sangue, III) transporte destes no sangue e líquidos corporais para as células, IV) difusão dos gases para os tecidos e periferia vascular e, por último, V) regulação da ventilação e demais aspectos da respiração (GUYTON, 1996). Este sistema desempenha ainda funções como proteção, pois neutraliza alguns gases nocivos e apresenta diversas barreiras ao ar inalado como a poeira. Atua também na termorregulação, olfação e fonação característica de cada espécie (JONES, 2000, MARLIN; VICENT, 2007, THOMASSIAN, 2012).

Nos equinos, o sistema respiratório é dividido didaticamente em superior e inferior. A porção superior é composta pelas narinas, seios paranasais, parte da faringe, laringe e traquéia extratorácica. Estas porções são estruturadas por ossos, cartilagens ou músculos, que em conjunto, tem função de conduzir o ar aos pulmões. As narinas são grandes e móveis se alargando durante a inspiração e tornando-se relaxadas e flácidas na expiração. Essa característica pode levar ao aparecimento de ruído respiratório em alguns equinos especialmente em casos de hiperventilação. A faringe é dividida em nasofaringe e orofaringe e possui uma

cadeia de folículos linfóides em sua mucosa. É uma estrutura sem sustentação óssea ou cartilaginosa, sendo mantida por musculatura intrínseca, o que torna susceptível a colapso durante a inspiração. A traquéia tem estrutura cartilaginosa podendo também sofrer colapso durante a inspiração forçada (ART; LEKEUX, 2005). É constituída por 40 a 60 anéis fibrocartilagíneos incompletos recobertos por quatro camadas: adventícia, musculocartilaginosa, submucosa e mucosa (VOSS; SEAHORN, 2004). A porção das narinas externas é revestida por epitélio pavimentoso estratificado que ao progredir em direção a faringe transforma-se em epitélio respiratório pseudoestratificado típico. O epitélio olfatório é encontrado particularmente na região etmoidal (JONES, 2000, GONÇALVES, 2004 THOMASSIAN, 2012). A respiração dos cavalos é exclusivamente nasal havendo respiração oral apenas em casos extremos (JONES, 2000, THOMASSIAN, 2012).

A porção inferior compreende traquéia intratorácica que se bifurca ao nível da Carina em brônquios primários a partir dos quais são formados os lobos cranial direito, lobo acessório, lobo caudal direito e lobos cranial e caudal esquerdos, respectivamente (VOSS; SEAHORN, 2004, THOMASSIAN, 2012). O epitélio traqueobrônquico (tipo de epitélio respiratório pseudoestratificado típico) é composto por nove tipos de células epiteliais: ciliadas, caliciforme, serosa epitelial, em escova, basal, intermediária, tipo K, tipo especial e da Clara, sendo algumas destas importantes na produção do muco (JONES, 2000).

O muco é produzido principalmente pelas células caliciformes, serosas epiteliais e glândulas mucosas presentes na lâmina própria. Apresenta funções essenciais a proteção que juntamente com o sistema mucociliar desobstruem as vias aéreas e eliminam de partículas inspiradas. É constituído por água (~95%), lipídios (~1%), proteínas (~2-3%), dentre as quais incluem enzimas antimicrobianas como lisozima e lactoferrina (GERBER, 2001, DAVIS, 2007, TIZARD, 2009). O muco possui ainda na sua composição complexos lipoprotéicos (proteínas surfactantes) que reduzem a tensão superficial nos pulmões e facilita a respiração mais fácil (TIZARD, 2009). Estes componentes formam três camadas: a primeira que é líquida e cobre a membrana alveolar, a intermediária, derivada de secreção apócrina de células dos bronquíolos respiratórios e a última constituída pelas células caliciformes da mucosa traqueobrônquica, próxima aos bronquíolos respiratórios.

Os alvéolos são formados por tecido conjuntivo (esqueleto) revestido por uma camada de células de três tipos: pneumócito do tipo I, que reveste maior parte da superfície dos alvéolos e pneumócito granular (célula do tipo II) onde é produzida a solução surfactante e as células em escova alveolar (JONES, 2000).

O epitélio do sistema respiratório está exposto à grande número de partículas nocivas e fatores ambientais. Uma vez que se tem o conhecimento dessas informações, é importante entender os mecanismos da resposta inflamatória a fim de estabelecer estratégias para reduzir o impacto e danos causados (HOROHOV, 2004, THACKER, 2006). Essas partículas são provenientes da forragem, ração, terra, esterco, pêlos, podendo haver ainda bactérias e vírus suspensos em aerossóis provenientes de tosse ou espirro de outros animais. Partículas com dimensões maiores que 10 μm são filtradas já nas porções superiores, principalmente na cavidade nasal (DUKES, 1996, TIZARD, 2009), as de tamanho entre 2 a 10 mm são aprisionadas no epitélio respiratório (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2004) e as menores (1 a 2 mm de diâmetro) podem penetrar nos bronquíolos (DUKES, 1996, JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2004, TIZARD, 2009). O sistema respiratório no intuito de evitar que essas partículas entrem em contato com as vias aéreas e causem doenças, desenvolveu importantes funções protetoras as quais são desempenhadas por mecanismos físicos, químicos, celular e mediadores pró-inflamatórios (DUKES, 1996).

Dentre os mecanismos físicos de proteção do sistema respiratório é descrito a força gravitacional, força inercial e movimento browniano. A força gravitacional leva a sedimentação das partículas do ar inalado por simples ação da força da gravidade, sendo atuante principalmente na cavidade nasal e árvore traqueobrônquica. (DUKES, 1996). As forças inerciais atuam na deposição das partículas na cavidade nasal, faringe e árvore traqueobrônquica, a qual envolve o fator velocidade de passagem do ar nas vias aéreas. Durante a inspiração o ar entra com velocidade pelas fossas nasais as quais são formadas por um intrucado canal denominado cornetos. Essas dobras de cartilagem fazem com que o ar inalado mude de direção rapidamente jogando as partículas de encontrro as paredes das vias aéreas onde se sedimentam (DUKES, 1996, GUYTON, 1996). Em ambos os casos a sedimentação é aumentada proporcionalmente ao tamanho das partículas. Já o movimento

browniano é responsável pela sedimentação das partículas menores que um micrômetro, sendo ativo principalmente onde há grande aérea de superfície como os bronquíolos e alvéolos (DUKES, 1996). A remoção mecânica das partículas é realizada segundo sua localização. Após a deposição, as partículas na cavidade nasal e orofaringe são eliminadas através da tosse, espirro e do mecanismo de *clearance* mucociliar (PILETTE et al., 2001).

A tosse é um mecanismo involuntário de defesa físico do sistema respiratório a qual leva a expulsão súbita de muco, partículas e outros materiais da árvore traqueobrônquica e glote. É estimulada por receptores irritativos que de forma mecânica são ativados pela compressão da traquéia ou broncoconstrição. Os receptores também são estimulados por fumaça, gases tóxicos como amônia, condições inflamatórias ou mediadores químicos como histamina. O estímulo da tosse leva a broncocontrição reflexa por meio de estimulação do sistema nervoso simpático. A estimulação do sistema nervoso nas vias aéreas pode não iniciar diretamente a tosse, porém causa broncoconstrição a qual pode indiretamente iniciar a tosse. (GUYTON, 1996, SMITH, 2006). Os equinos possuem menor porcentagem de receptores da tosse ativos nas vias aéreas superiores comparativamente as outras espécies. É observado o estímulo durante uma sondagem nasotraqueal apenas próximo a carina ou ainda ao exame endoscópico observar grande acúmulo de exsudato na traquéia sem o mínimo histórico de tosse. Certas características da tosse associa-se a porção das vias aéreas acometidas. Tosse seca, de início agudo, alta, áspera e de caráter não produtivo estão normalmente associada às vias aéreas superiores. Já a tosse relacionada às vias aéreas inferiores, tem carater mais suave, profundas e produtivas (muco, pús), tendendo a serem mais persistentes do que a tosse das vias aéreas superiores (SMITH, 2006).

O tipo de ração, cama, feno e instalações de armazenamento devem ser avaliadas principalmente em equinos com tosse crônica suspeitos de doença pulmonar alérgica (SMITH, 2006). A anamnese de animais com esses sinais deve levar em consideração o questionamento sobre o paciente, estresse recente e o ambiente. A idade é um fator importante para incidência de algumas afecções, por exemplo, rodococose é normalmente observada em potros enquanto a obstrução recorrente das vias aéreas (ORVA) é comum em equinos adultos estabulados. Já a

doença inflamatória das vias aéreas (DIVA) não é tão comum em animais mais velhos pela aquisição de imunidade (CHAPMAN et al., 2000).

A limpeza das vias aéreas superiores é dependente do movimento proximal mucociliar (DUKES,1996, SMITH, 2006). A remoção do fluido mucinoso proveniente da cavidade nasal e traquéia são direcionados a faringe onde são deglutidos (DUKES, 1996, SMITH, 2006). Acredita-se que a limpeza das vias inferiores funcionem de maneira semelhante, pelo movimento da camada mucosa retirando os materias depositados para fora dos alvéolos. Esse processo é auxiliado pelo movimento respiratório e fluxo de ar (DUKES, 1996). Apesar dos seus benefícios, a secreção exagerada de muco pode ser importante na morbidade das doenças das vias aéreas (THORNTON; SHEEHAN, 2004).

Depois dos mecanismos físicos, seguem os mecanismos de defesa celular caracterizado pela liberação de mediadores pró inflamatórios, anticorpos e agentes químicos que trabalham em conjunto contra a exposição do sistema respiratório a produtos vegetais (feno, mofos, esporos de fungos), animais (insetos, fezes), bacterianos e virais. A ação fagocítica alveolar é um dos processos mais importantes para remoção de partículas insolúveis ou microorganismos inalados. A mucosa do trato respiratório é revestida por amplo tecido com folículos linfoides; uma camada de linfócitos é distribuída por todos os ductos pulmonares assim como fossas nasais. A laringe possui tecido linfóide com grande porcentagem de células imunológicas ativas incluindo linfócitos T (TIZARD, 2009). Linfócitos e plasmócitos são encontrados ainda na parede alveolar, porém em pequenas quantidades quando comparadas aos macrófagos (JONES, 2000). Os linfócitos têm função de fixar-se aos microorganismos e destruí-los de forma semelhante aos monócitos e granulócitos (GUYTON, 1996). Alguns fagócitos alveolares são derivados de monócitos (medula óssea) que migram através de capilares, por movimento amebóide, para o lúmen alveolar pelas células epiteliais se transformando em macrófagos (DUKES, 1996, GUYTON, 1996, JONES, 2000, HUME et al., 2002; HUME, 2008). Os fagócitos ativos possuem inumeras de hidrolases como lisozima, fosfatase ácida e catepsina que atuam sobre corpos estranhos digerindo bactérias e neutralizando outros materiais. Macrófagos teciduais são encontrados em grande número das paredes alveolares, fagocitando partículas que ficam presas nessas

estruturas (GUYTON, 1996 DUKES, 1996, JONES, 2000, GUTH et al., 2009). Os macrófagos alveolares constituem a primeira linha de defesa das vias aéreas atuando na resposta imune contra patógenos inalados (HUME et al., 2002; HUME, 2008). Devido à grande quantidade de material particulado que é fagocitado, os macrófagos ao serem observados em microscopia são chamados de “células de poeira” ou “dust cells”. Quando as partículas não são digeríveis, os macrófagos formam uma célula gigante encapsulada em torno do corpo estranho para que seja digerida lentamente ou ao menos neutralizada (GUYTON, 1996, DUKES, 1996, JONES, 2000). Uma porcentagem das partículas inaladas, podem, ainda ser observadas nos linfonodos relacionados à drenagem linfática pulmonar, devido à alta permeabilidade dos vasos linfáticos encontrados no espaço intersticial. As partículas capitadas são transportadas do epitélio alveolar para o espaço intersticial e pelos vasos linfáticos em direção aos linfonodos onde são bloqueados pelo tamanho ou fagocitadas pelo sistema fagocítico mononuclear dos linfonodos (DUKES, 1996).

Os eosinófilos são atuantes em infecções parasitárias pela ação de enzimas hidrolíticas, substâncias larvicidas (proteína básica principal - MBP) e provavelmente pela liberação de formas ativas de oxigênio. Tem ação em locais com reações alérgicas como tecidos peribrônquicos. (DUKES, 1996).

A reação alérgica conhecida como “febre do feno” nos humanos e que também acomete os equinos é o resultado de reação alérgica a partículas de feno em especial algumas espécies fúngicas. Há liberação de histamina local a qual causa vasodilatação, aumento da permeabilidade vascular resultando em secreção mucóide pelas narinas e edema. A irritação das vias aéreas superiores ainda desencadeia síndrome de espirros típica. Reações alérgicas que atingem as vias aéreas inferiores como a asma nos humanos e a ORVA nos equinos decorrente da reação alérgeno-anticorpo promovendo a desgranulação de mastócitos. Há liberação de substância de reação lenta de anafilaxia que provoca espasmo da musculatura lisa alveolar e consequentemente dificuldade respiratória. Sendo assim no primeiro caso o uso de anti-histamínicos auxiliam no quadro alérgico, diferentemente da asma que não tem a histamina como principal agente desencadeante da anafilática (GUYTON, 1996). Sinais clínicos de incidência sazonal

como agravamento durante final de outono e inverno, principalmente países de clima temperado onde costuma-se estabular os animais, sugere pistas para uma doença de caráter alérgico (SMITH, 2006). Algumas alterações como febre e desvios hematológicos indicando infecção são excludentes de afecções alérgicas como a DIVA (COÜETIL et al., 2007).

O processo inflamatório nas vias aéreas está relacionado com o comprometimento das trocas gasosas. Esse processo leva a consequências como vasodilatação e redução do fluxo sanguíneo resultando em vasos capilares ingurgitados. Há ainda o aumento da permeabilidade capilar, levando a passagem de fluidos para os tecidos e o influxo de fagócitos, células ativadas e fibrinogênio acumulando no local e por último a broncoconstrição (GUYTON, 1996, LUNN et al., 2007). Processos inflamatórios obstrutivos, diminuição da área de superfície da membrana pulmonar ou qualquer outro mecanismo que interfira nas trocas de gases entre o sangue e o ar alveolar levam a aumento da concentração de dióxido de carbono. O aumento da concentração de ácido carbônico e íon hidrogênio podem resultar em acidose respiratória. O sinal clínico evidente em resposta a acidose respiratória é o aumento da frequência e da profundidade respiratória (GUYTON, 1996).

2.2. FATORES PREDISPONENTES DE IRRITAÇÕES DO SISTEMA RESPIRATÓRIO

O tipo de alojamento ou de pastejo, espaço aéreo, ventilação, sanidade, densidade de ocupação, poeira, sombra e abrigos são fatores importantes a serem analisados quando se estuda o sistema respiratório de equinos. Baias fechadas, estábulos em frente para a arena de treinamento ou alojamentos sob celeiros para armazenamento de feno, apresentam concentração significativa de partículas inaláveis (DERKSEN; WOODS, 1994).

Dependendo do manejo e condições dos estábulos quanto à higienie e ventilação, por exemplo, além do tipo de alimentação e cama dos animais, pode-se desenvolver um ambiente propício ao aparecimento de doenças respiratórias. A

poeira é a mistura complexa de partículas, transportadas pelo ar podendo ser de origem orgânica e inorgânica, compostas de fragmentos como grãos, plantas, fezes, derivados de animais e insetos, agente contagiosos, partículas ultrafinas (<100 nm de diâmetro), esporos de fungos, sendo este ultimo o principal alérgeno incriminado no desencadeamento de enfermidades respiratórias em equinos. A amônia, em ambientes mal ventilados como cocheiras, pode estar oito vezes mais concentrada do que em piquetes (SMITH, 2006, COÜETI et al., 2007, BERNDT; DERKSEN; ROBINSON, 2008). Gases tóxicos como a amônia e metano, causam irritação das vias aéreas além de deprimir a motilidade ciliar e retardar o mecanismo de *clearance* mucociliar, diminuindo a eficácia deste mecanismo de defesa (RUSH; MAIR, 2004).

A fenação é o método eficaz para estocagem de volumoso facilitando a alimentação dos animais em épocas de seca ou em propriedades que não dispõe de pasto suficiente. Quando bem processadas, as forragens mantêm qualidade nutricional adequada, porém alguns processos podem alterar tanto o valor alimentício como a qualidade sanitária desse feno. As forrageiras em crescimento no campo estão naturalmente inoculadas com ampla variedade de fungos e bactérias (REIS, SOLLENBERGER; URBANO, 2001). As alterações de matéria seca e pH no processo de fenação levam consequentemente a mudanças acentuadas na microbiota havendo decréscimo de gêneros típicos do campo como *Alternária, Fusarium e Cladosporum* e aumento de *Aspergillus e Penicillium* sendo estes mais termotolerantes (HLODVERSSON; KASPERSSON, 1986, ROTZ, 1995). As alterações químicas e da microbiota do feno podem ser prejudiciais a saúde das pessoas e dos animais, principalmente quando se leva em consideração fungos patogênicos como do gênero *Aspergillus.* Esses fungos produzem toxinas e/ou esporos que são responsáveis por afecções respiratórias denominada febre do feno nos humanos, em equinos, ORVA ou DIVA, na dependência das características citadas anteriormente (SCHMALLENBACH et al., 1998, JONES, 2000).

Derksen, Woods (1994) relataram alguns microrganismos existentes na forragem oferecida aos animais que apresentam umidade superior a quarenta por cento, sendo ideal para o crescimento de fungos como *Actinomyces, Aspergillus fumigatus, Microspolyspora faeni* e *Thermoactinomyces vulgaris.* A exposição a inalantes como *Aspergillus fumigatus* induzem a alterações inflamatórias e

imunológicas nos pulmões dos cavalos (SCHMALLENBACH et al., 1998, JONES, 2000). Alguns actinomicetos termofílicos como a *Micropolyspora faeni* presente nos fenos são facilmente inalados. Alguns autores indicam encharcar o feno para evitar a inalação desses agentes (McPHERSON; THOMSON, 1983; CLEMENTS; JONES, 2000, CLEMENTS; PIRIE, 2007).

2.3. MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO DE AFECÇÕES RESPIRATÓRIAS

São descritos diversos métodos de análise para avaliação do sistema respiratório dos equinos. Alguns destes fazem parte da rotina de atendimento para afecções do sistema respiratório, como exame físico (inspeção, palpação, auscultação e percussão), análise hematológica, exames bioquímicos. Exames mais específicos podem ser realizados dependendo da disponibilidade do profissional além de aspectos intrínsecos ao animal como tamanho e peso. O exame radiológico é realizado mais comumente para análise de cabeça e pescoço ficando vetada a análise torácica à potros e pôneis, pode-se utilizar ainda a ultrassonografia, endoscopia, lavado broncoalveolar, aspirado transtraqueal e análise dos gases sanguíneos (hemogasometria) (WHITWELL; GREET, 1984, FOGARTY; LEADON, 1987, RADOSTITIS et al., 2009).

2.3.1. EXAME FÍSICO DO SISTEMA RESPIRATÓRIO

Inicialmente o exame físico deverá incluir a avaliação do estado geral e não apenas o exame do aparelho respiratório (VIEL, 2009). Em uma segunda fase a inspeção deve ser feita de tal modo que identifique se a afecção é restrita ao trato superior ou inferior (RUSH; MAIR, 2004). Deve-se analisar o movimento torácico e abdominal, sendo comum nos animais domésticos a respiração costoabdominal (GONÇALVES, 2004). As alterações no tipo de respiração, como respiração

predominantemente abdominal pode indicar dor torácica provocada por fraturas ou pleurites. Observa-se ainda a postura tomada pelo animal, por exemplo, animais com alterações respiratórias tendem a distender o corpo para aumentar o volume torácico e consequentemente expansão pulmonar (FEITOSA, 2008). Avalia-se quanto a regularidade e frequência respiratória classificando em normopnéia, taquipnéia, hiperpneia, bradpnéia e dispnéia (GONÇALVES, 2004). Na respiração normal a inspiração é um movimento ativo e mais rápido e o expiratório é passivo (FEITOSA, 2008).

A dispnéia é caracterizada pela angústia respiratória relacionada ao transporte insuficiente de oxigénio para os tecidos. Pode estar associada a alterações sistémicas (ex. anemia, acidose metabólica ou febre), respiratórias e cardiovasculares (RUSH; MAIR, 2004). Observa-se ainda os ciclos respiratórios quanto a duração da inspiração e expiração sendo que algumas doenças podem estar relacionada com o encurtamento ou alongamento de uma ou ambas. O tipo de dispneia respiratória dá informações importantes quanto a localização do problema. A dispnéia inspiratória está associada a alterações relacionadas a diminuição do diâmetro do lúmen no trato respiratório anterior (ex. corpo estranho, estenose ou inflamação). Já a dispnéia expiratória está associada à obstrução do trato respiratório posterior (ex. enfisema pulmonar, bronquite, bronquiolite). Casos de dispnéia mista ocorrem em edema pulmonares e broncopneumonia (GONÇALVES, 2004).

Após avaliação geral inicia-se a análise setorizada, ou seja, inspeção das narinas (presença ou não de corrimentos, lesões, odor respiratório, fluxo entre as narinas, temperatura do ar exalado), traquéia (reflexo de tosse, tipo de tosse), torax (presença de fraturas, edema, abscessos) (McGORUM; DIXON, 2007). A avaliação segue ainda utilizando-se percussão desde os sinos nasais até o tórax (claro, maciço, metálico), auscultação (ruídos respiratórios: crepitações, grossa ou fina, sibilos, roncos, sopro) (ROY; LAVOIE, 2003, McGORUM; DIXON, 2007, FEITOSA, 2008). Se houver presença de corrimento nasal, este deverá ser caracterizado quanto ao tipo (unilateral ou bilateral), frequência (contínuo, intermitente), volume (escasso, profuso) e natureza (seroso, mucoso, mucopurulento, serosanguinolento ou hemorrágico. A secreção mucopurulenta é a mais comumento observada devido

à hipersecreção de muco e à migração de neutrófilos em resposta ao processo inflamatório/infeccioso (VIEL, 2009).

2.3.2. HEMOGRAMA

A análise hematológica associada à concentração de fibrinogênio traz informações importantes quanto ao caráter da afecção a qual se pesquisa. Apesar de normalmente revelar achados inespecíficos pode ser útil para condições inflamatórias primárias ou secundárias. Quadros anêmicos, por exemplo, podem levar a hiperventilação compensatória induzindo falso diagnóstico de doença respiratória. Infecções virais agudas frequentemente causam a anemia e leucopenia transitórias. Neutrofilia e fibrinogênio alto são característicos de condições inflamatórias, principalmente de caráter bacteriano. Algumas doenças parasitárias pulmonares podem levar ao aumento da concentração de eosinófilos, porém essa condição pode também estar associada a afecções alérgicas (SMITH, 2006, FEITOSA, 2008).

2.3.3. HEMOGASOMETRIA

Dentre os estudos para análise de desempenho do sistema respiratório destaca-se a análise dos gases oxigênio (O_2), dióxido de carbono (CO_2), bicarbonato (HCO_3^-) além do pH (GUYTON, 1996). Declara-se a análise hemogasométrica como melhor método para mensurar as trocas gasosas pulmonares e o equilibro ácido-base dos fluidos orgânicos e suas possíveis alterações. Utilizando esse método é possível analisar os gases sanguíneos como pressão parcial de oxigênio (PO_2), pressão parcial de dióxido de carbono (PCO_2), bem como bicarbonado (HCO_3^-) e potencial hidrogeniônico (pH) (GUYTON, 1996, CARLSON, 1997, CLUTTON, 2007, DAY, 2002). As pressões parciais de oxigênio(PO_2) e dióxido de carbono (PCO_2),

no sangue são relacionadas a quantidade de sangue que perfunde os alvéolos e não apenas a ventilação alveolar (DUKES, 1996).

Quando se tem o intuído de avaliar desordens respiratórias é indicado o uso de sangue arterial, já o sangue venoso dá maiores informações acerca do metabolismo tecidual e do estado ácido-base metabólico (CARLSON, 1997, DAY, 2002). No entanto análises no sangue venoso que resultam em médias de PCO_2 acima de 60 mmHg refletem, em geral a hipercapnia arterial e PO_2 abaixo de 20 mmHg indicam hipoxemia arterial. A hemogasometria é indicada na avaliação e controle de pacientes com histórico ou sinais clínicos de tosse, angústia respiratória e cianose (SMITH, 2006). A PCO_2 no sangue arterial é utilizada como parâmetro para avaliar a ventilação alveolar. O valor de normalidade em equinos é de 42,2 ± 0,8 mmHg, sua elevação aumenta o ácido carbônico fazendo com que o plasma se torne mais ácido podendo estar associado a hipoventilação e angústia respiratória (CARVALHO; SCHETTINO, 1997; CORLEY; MARR, 1998). A acidose metabólica está associada à frequência respiratória aumentada assim como profundidade da respiração (SMITH, 2006).

A frequência, ritmo, profundidade e o caráter respiratório são controlados pelo centro respiratório no tronco cerebral. Quimioreceptores centrais são estimulados quando o pH no líquido cerebroespinhal apresenta-se diminuído ou as concentrações sanguíneas de CO_2 estão aumentadas. Já os quimioreceptores periféricos presentes nos corpos carotídeos e aórticos respondem a PCO_2 abaixo de 60 mmHg (hipoxemia). A análise do estado ácido-base, concentração de dióxido de carbono, oxigênio e íon hidrogênio (pH) resulta em ajustes finos para normalização em variação estreita. Aumento de PCO_2 é a medida mais precisa da ventilação pulmonar, pois seu aumento (consequentemente queda do pH arterial) leva a estimulação e aumento da frequência respiratória. Em contrapartida como o CO_2 se difunde rapidamente pode-se observar valores dentro da normalidade mesmo com disfunção ventilatória considerável (SMITH, 2006).

A PO_2 reflete a troca gasosa pulmonar e a disponibilidade de oxigênio para os tecidos. Os valores de normalidade de PO_2 em equinos são em torno de 83,6 ± 1,7 mmHg, sendo que afecções relacionadas à obstrução das vias aéreas superiores ou inferiores, doença pulmonar com presença de líquido ou colapso alveolar estão

associadas à oxigenação inadequada e hipoxemia (valores de PO_2 inferiores a 80 mmHg). Casos de anemia também levam a redução da PO_2 devido ao déficit no transporte de oxigênio pelo sangue (SMITH, 2006). A PO_2 apresenta-se aumentada em casos de hiperventilação, o que pode ser decorrente do exercício e aumento da temperatura corporal (AGUILERA; TEJERO et al., 2000).

2.3.4. LAVADO BRONCOALVEOLAR (LBA)

Para análise pulmonar pode-se colher material para exame citológico a partir de aspirado transtraqueal ou LBA, sendo esse último uma técnica segura, simples e economicamente viável, podendo ser realizada a campo sem a presença de equipamentos sofisticados (RICHARD et al., 1998). O LBA é indicado para avaliação citológica em doenças generalizadas ou não infecciosas das vias aéreas inferiores, como ORVA e silicose, uma vez que este exame se restringe a porção caudodorsal do pulmão. Para doenças infecciosas ou condições pulmonares focais é preterível a utilização de aspiração transtraqueal (LAPOINT; VRINS; LAVOIE, 1994, SMITH, 2006, TAYLOR, BRASIL, HILLYER, 2010,). O LBA é descrito como a maneira mais sensível de se monitorar objetivamente as vias aéreas inferiores no intuito de auxílio diagnóstico, avaliar a resposta terapêutica em cavalos enfermos ou investigar as causas de queda desempenho, dando uma correta dimensão da população citológica nas vias aéreas inferiores e espaços alveolares (HOFFMAN, 1999, HEWSON; VIEL, 2002, HOFFMAN; MAZAN; ELLENBERG, et al., 2003, ITO; HOBO; KASASHIMA, 2003).

A técnica de LBA consiste na instilação de fluidos nas vias aéreas e posterior coleta, na qual obtem-se recupera-se o líquido com grande porcentagem das células que revestem o epitélio de porções distais do trato respiratório (ITO; HOBO; KASASHIMA, 2003, TIZARD, 2009).

Há vários estudos com lavado broncoalveolar de equinos avaliando a quantidade ideal de volume de fluido a ser infundido e assim como correlacionando o volume com a contagem de células obtidas. Alguns autores chegaram ao

consenso que o volume ideal de fluido a ser infundido está entre 250 a 500ml (HOFFMAN; ROBINSON; WADE, 2003). O volume infundido e recuperado influência nas porcentagens dos tipos celulares encontrados, como é o caso dos neutrófilos que em pequenos volumes, em geral, são superestimados (ROBINSON, 2001, HEWSON; VIEL, 2002, HODGSON; HODGSON, 2003). Viscardi et al. (2015) realizou estudo comparando infusão única de 250 mL e em duplicata, observando que quando se instila maior volume obtêm-se menor porcentagem de neutrófilos do que quando usa-se apenas 250 ml. Concluindo que valores inferiores a 250 ml podem ser satisfatórios para obtenção de amostra representativa das vias aéreas inferiores, desde que os valores de referência a ser utilizado tenham sido realizados na mesa diluição. Valores relativos percentuais descritos da avaliação citológica de LBA em cavalos sadios por 7 autores diferentes é observado na Tabela 1.

Tabela 1. Médias ± desvio padrão da média dos parâmetros avaliados no LBA de equinos sadios com seus respectivos autores.

AUTOR	VOL	CNT	TIPO CELULAR			
		x 10^3/mL	NE	LF	MC	EO
McKANE et al. (1993)	65 mL	832,0 ± 578	8,8 ± 6,4	31,3 ± 9,3	59,0 ± 9,7	0,5 ± 3,1
FOGARTY, BUCKLEY (1991)	120 mL	**	7,0 ± 3,3	28,0 ± 5,8	0,0 ± 0,0	**
CLARK et al. (1995)	200 mL	92,1 ± 142	5,9 ± 4,6	36,7 ± 14,8	56,0 ± 13,0	0,5 ± 0,9
VISCARDI et al. (2015)	250 mL	**	5,0 ± 4,15	43,0 ± 15,63	46,9 ± 15,01	2,8 ± 7,95
COUËTIL et al. (2001)	250 mL	321,0 ± 1,00	6,8 ± 2,7	31,4 ± 13,0	57,1 ± 10,3	0,3 ± 0,5
COUËTIL, DENICOLA (1999)	250 mL	445,0 ± 1,42	3,8 ± 5,5	22,9 ± 7,4	68,8 ± 8,8	**
HOLCOMBE et al. (2001)	300 mL	89,0 ± 39	10,3 ± 8,1	37,0 ± 9,8	41,4 ± 9,7	1,2 ± 2,2
MICHELOTTO (2010)	300 mL	34,3 ± 2,4	0,9 ± 0,2	28,1± 1,3	69,8 ± 1,4	1,2± 0,1
VISCARDI et al. (2015)	500 mL	**	3,5 ± 4,06	45,6 ± 14,45	46,8 ± 14,76	1,9 ± 4,53
HARE et al. (1994)	500 mL	530,0 ± 1,7	2,2 ± 1,4	36,7 ± 5,4	60,1 ± 4,8	0,03 ± 0,1
LAPOINTE et al. (1994)	500 mL	717,0 ± 1,09	4,2 ± 3,0	55,4 ± 7,1	39,2 ± 6,6	**

VOL: volume (mL), CNT: células nucleadas totais (x 10^3/mL), NE: neutrófilo (%), LF: linfócito (%), MC: macrófago (%), EO: eosinófilo (%) **: valores não informados. Tabela adaptada de Lessa et al. (2007).

No LBA a quantidade de volume recuperado é considerada satisfatória quando é igual ou maior que quarenta por cento do volume infundido, o que diminui o efeito da diluição das secreções respiratórias (ROBINSON, 2001, HEWSON; VIEL, 2002, LESSA et al., 2011).

A porcentagem de células que compõem do LBA de equinos saudáveis é: 50 % de macrófagos, 40% linfócitos e apenas 2% de neutrófilos (TIZARD, 2000). Cavalos com histórico de ORVA ou infecções bacterianas comumente possuem aumento da produção de muco e da porcentagem de neutrófilos (DERKSEN et al., 1985, SMITH, 2000). Contagens de neutrófilos menores que 30 células/µl correspondem a pequena quantidade de muco, já em processos intermediários são encontrado secreções com neutrófilos entre 30 a 100 células/µl e achados entre 100 a 1000 células/µl correspondem a obstrução por muco grave (ROBINSON, 2005).

A presença de grande número de eosinófilos é característica de infecções parasitárias (vermes pulmonares), condições alérgicas ou pneumonia intersticial eosinofílica. Estas células são encontradas em pequeno número no LBA e no aspirado transtraqueal em equinos saudáveis. O aumento desse tipo celular no LBA pode ser transitório, porém é relatado em equinos de corrida jovens (HARE; VIEL, 1998).

Em equinos saudáveis é observada pequena porcentagem de neutrófilos, porém esse tipo celular é altamente responsivo apresentando aumento rapidamente em até cinco horas após estimulação (COUËTIL et al., 2007). Tecidos lesionados produzem agentes quimiotáxicos que estimulam a migração tanto de neutrófilos como de macrófagos em sua direção. Quanto mais próximo da lesão, maior a concentração dessa substância química que podem ser de origem bacteriana, debris do tecido lesionado, produtos de reação do “complexo do complemento” ou ainda fatores liberados na cascata de coagulação (GUYTON, 1996). É descrita diferença importante entre a concentração de neutrófilos no LBA e no aspirado, sendo no primeiro, os valores são inferiores a cinco por cento e no segundo, inferiores a 20 por cento em equinos saudáveis (HOFFMAN et al., 2003).

Por último são descritos os mastócitos, células atuantes na anafilaxia por conterem grânulos contendo heparina, lipídeos, histamina, serotonina e/ou polipeptídeos (bradicininas e fator quimiotáxico da anafilaxia, para leucócitos e

eosinófilos) (GUYTON, 1996, JONES, 2000). Os mastócitos assim como os eosinófilos estão relacionados a imunoglobulinas do tipo E (IgE), que é o anticorpo responsável pelas reações alérgicas (GUYTON, 1996). São encontrados em pequenas porcentagens tanto no LBA como no aspirado traqueal. O aumento do número dessas células está relacionado à hiperresponsividade das vias aéreas em equinos com tosse crônica e queda de desempenho (HOFFMAN; MAZAN; ELLENBERG, 1998). Achados de macrófagos carregados com hemossiderina constitui uma indicação de hemorragia pulmonar recente, já quando carreiam grânulos intracitoplasmáticos refráteis pode se suspeitar de silicose (SMITH, 2000).

A atividade de algumas enzimas no LBA pode auxiliar no diagnóstico de afecções no trato respiratório em diferentes espécies. A atividade da fosfatase alcalina (FA) está relacionada com a síntese de fosfolipídeos de componentes protéicos do surfactante. É uma glicoproteína com função hidrolítica responsável pela remoção de grupamentos fosfatos de vários tipos de moléculas (KANEKO,1989). Apesar de ser um ótimo indicador de lesão hepática, a FA está associada a alterações fisiopatológicas não relacionadas ao fígado (KALINA; LEVI; RIKLIS, 1990, FERNANDEZ; KIDNEY, 2007,). Malikides, Hughes e Hodgson (2003) descreveram importante produção dessa enzima por neutrófilos. Em humanos foi relacionada a doenças pulmonares intersticiais e fibróticas além de, pneumopatias com lesão epitelial significativa (CAPELLI et al., 1997, SANCHEZ et al., 2005). É relacionada a inflamação dos tecidos pulmonares que influenciam na atividade dos pneumócitos do tipo II aumentando a atividade da fosfatase alcalina (JORGE, 2014). A partir dessas informações diversos autores utilizam a mensuração de FA no LBA como ferramenta diagnóstica auxiliar para afecções do trato respiratório (HENDERSON; SCOTT; WAIDE, 1995, CAPELLI et al., 1997, COBBEN et al., 1999, MADEN et al., 2001).

3. OBJETIVOS

3.1. OBJETIVOS GERAIS

Avaliação do sistema respiratório de equinos estabulados expostos a dois diferentes tipos de camas, maravalha autoclavada e serragem comum, comparados a equinos soltos a pasto.

3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar o estado clínico dos equinos por meio de exames físico e hematológico;
- Avaliar indiretamente a ventilação e oxigenação por meio de exame hemogasométrico arterial;
- Avaliar fibrinogênio plasmático;
- Avaliar a resposta inflamatória celular das vias aéreas inferiores pela análise de amostras coletadas através da técnica de lavado broncoalveolar (LBA) e atividade da fosfatase alcalina no sobrenadante do LBA;
- Avaliar as camas e feno para identificação de possíveis fungos;
- Avaliar a capacidade de dispersão de partículas no ar das camas de maravalha e serragem.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. ASPÉCTOS ÉTICOS

Este trabalho de pesquisa foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, UNESP-Câmpus de Jaboticabal/SP, sob o número de protocolo 21034/15, estando de acordo com os preceitos da lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, no decreto 6.899, de 15 de julho de 2009 e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA).

4.2. ANIMAIS E INSTALAÇÕES

Foram utilizados quinze equinos, adultos e em bom estado nutricional (escore corporal entre 5 e 6 de uma escala de 1 a 9), 10 machos e 5 fêmeas, sem raça definida, com idade média de 14,6 ± 4,03 anos e peso médio 402,1 ± 30,4 quilos. Previamente ao início do período experimental os equinos foram submetidos a programa de desverminação[1] e controle de ectoparasitas[2].

A avaliação experimental foi realizada nas dependências do setor de Equinocultura da FCAV/UNESP. Os equinos foram separados em três grupos sendo o primeiro, composto por dois machos e três fêmeas (15,6 ± 4,83 anos) os quais permaneceram em piquete com forrageiras (diversas) escassa e terra batida constituindo o grupo PASTO. O segundo grupo foi formado quatro machos e uma fêmea (14,4 ± 4,62 anos). Estes cinco animais foram alocados em baias individuais com cama de maravalha autoclavada de pinus (*Pinus elliottii)* (MA) comercializada em fardos para uso em centros equestres. O último grupo, também composto por quatro machos e uma fêmea (13,8 anos ± 3,19), foram alocados em baias com cama de serragem de madeiras diversas não tratadas (produtos de serrarias) (SE).

A disposição dos equinos e seus respectivos grupos de cocheiras no pavilhão do setor de equinocultura está ilustrado na Figura 1. O pavilhão do setor possui 14

[1]Equalan®. Merial Saúde Animal LTDA. São Paulo, SP.
[2]Butox® P CE 25. Intervet Brasil- Akzo Nobel Ltda. São Paulo, SP.

baias pareadas em 7 de cada lado, separadas por um corredor ao meio não permitindo contato entre os animais. Para separação dos grupos foi deixado 2 baias vazias de cada lado no centro do pavilhão, como pode ser visto em cinza na Figura 1. O pavilhão de cocheiras foi previamente higienizado com água e detergente neutro, seguido de hipoclorito de sódio a 1% (paredes inclusive). O telhado foi varrido internamente retirando teias de arranhas e excesso de poeira que haviam se depositado, evitando que essas partículas caíssem sobre os cavalos e interferissem nos resultados. Os cochos de água foram higienizados, assim como todo o sistema hidráulico do pavilhão de cocheiras.

Figura 1. Planta baixa do pavilhão de baias do setor de equinocultura da FCAV/UNESP, demonstrando à disposição dos grupos, sendo os equinos do grupo MA (cama autoclavada) numerados de 1 a 5 (C1-C5) e os equinos do grupo SE (serragem comum) numerados de 6 a 10 (C6-C10). As baias em cinza permaneceram vazias.

Todos os animais receberam concentrado comercial peletizado em quantidade equivalente a 1% do peso corpóreo, volumoso de feno de Tifton pré-secado e água *ad libitum*. O armazenamento das camas foi realizado separadamente, no qual os fardos da maravalha autoclavada (MA) (Figura 2M) foram mantidos em galpão coberto e fechado, e a serragem não tratada (SE) (Figura 2A) foi empilhada sobre uma lona no chão além de coberta para proteção da contra chuvas e contaminação externa. Ambos os materiais foram utilizados para forração do piso das baias, os quais eram cimentados, formando uma camada de aproximadamente quinze centímetros de altura. A higienização destas foi realizada diariamente com a retirada das fezes e urina e a reposição da cama era efetuada quando necessário. Os animais eram retirados das baias durante toda a higienização.

Figura 2. Foto comparativa dos dois tipos de cama utilizados nas baias. **A)** Serragem (SE) **B)** Maravalha autoclavada (MA).

O exame físico, amostras do LBA, sangue e de cama foram coletados em 4 momentos distintos. O momento D0 foi considerado como basal, no qual todos os equinos encontravam-se em piquete. Após as coletas de D0 os equinos do grupo MA e SE foram alojados em suas respectivas baias e o grupo PASTO foi separado em piquete diferente do qual o rebanho permanecia antes da avaliação basal. As três coletas subsequentes foram realizadas quinzenalmente após essa divisão, sendo D15, D30 e D45.

Após cada momento (D0, D15, D30 e D45) as baias foram higienizadas com a retirada total do conteúdo das camas sendo coletadas amostras de cada cama (SUJA) em sacos de papel e reservadas para posterior análise micológica. As camas novas sem uso (LIMPA) foram distribuídas nas respectivas baias sendo também coletadas amostras antes do retorno dos equinos.

4.3. EXAMES REALIZADOS

4.3.1. EXAME CLÍNICO

Os equinos foram avaliados quanto ao histórico clínico prévio referente a doenças respiratórias, as quais eram inexistentes sendo então selecionados a participar dos grupos experimentais. Foi realizado exame clínico físico baseado na ascultação torácica, mensuração da frequência cardíaca (batimentos por minuto, bmp) e respiratória (determinada em movimentos por minuto, mpm) além de temperatura retal.

Sinais respiratórios como presença de tosse e espirros foram observados e classificados em escores quando presentes:

Escore 0: tosse e espirros inexistentes.

Escore 1: tosse e espirros presente poucas vezes ao dia.

Escore 2: tosse e espirros presente muitas vezes ao dia.

A avaliação dos sinais respiratórios assim como a dispersão de partículas no ar pelas camas foram observadas durante a higienização das baias resultando em pelo menos 3 avaliações diárias: 2 horas durante a higienização das baias, quando se observava qualitativamente a dispersão de partículas de cama no ar e reação respiratória dos animais ao retornarem as baias limpas. Dois períodos de 1 hora cada durante a oferta de feno aos animais também sendo mensurados sinais respiratórios.

4.3.2. TEMPERATURA AMBIENTE E UMIDADE RELATIVA DO AR

Para avaliação da influência da temperatura e umidade relativa do ar foram utilizados dados meteorológicos convencionais coletados do dia 12 de abril à 28 de maio de 2015 na Estação Agroclimática do Departamento de Ciências Exatas da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da UNESP (Lat. 21º 15' 22" S, Long. 48º 18'58"W e altitude de 595 metros), localizada no município de Jaboticabal – SP.

4.3.3. ANÁLISES HEMATOLÓGICAS

Amostras de sangue venoso foram colhidas mediante punção da veia jugular nos momentos pré-determinados (D0, D15, D30 e D45) antes da realização do LBA. Foram utilizados tubos estéreis com ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA). O hemograma foi realizado no Laboratório de Patologia Clínico do Hospital Veterinário

Governador Laudo Natel (FCAV/UNESP) em analisador hematológico veterinário[3]. A contagem diferencial dos leucócitos foi efetuada em extensões sanguíneas com 100 células em lâminas para microscopia óptica. A partir do plasma obtido após centrifugação dos tubos de sangue venoso com EDTA foi mensurado a concentração de fibrinogênio assim como Blaisdell e Dobds (1977) descrevem.

Amostras de sangue arterial também foram coletadas previamente a realização do LBA mediante punção da artéria transversa facial; foram utilizadas seringas próprias para análise hemogasometrica[4], as quais permaneceram acondicionadas em isopor com gelo para transporte. As amostras foram processadas em até 5 minutos após a coleta em analisador de múltiplos parâmetros Sistema *Cobas b* 123[5].

4.3.4. LAVADO BRONCOALVEOLAR

Para realização do LBA os equinos foram mantidos em estação após sedação mediante aplicação de 0,05 mg/kg de xilazina[6]. Foi utilizado sonda flexível (Large Animal Broncho-Alveolar Lavage Catheter)[7] própria para coleta de LBA em equinos de acordo com a técnica descrita por Hewson e Viel (2002). Instilou-se 180 ml de solução salina (NaCl 0,9%) estéril aspirando-se gentilmente. O volume recuperado foi armazenado em isopor com gelo reciclável para transporte ao laboratório para análises.

O material foi processado no Laboratório de Patologia Clínica do Hospital Veterinário Governador Laudo Natel (FCAV/UNESP) em até 3 horas após a colheita assim como Pickles et al., (2002) e Viel e Hewson, (2002) indicam. Uma aliquota do LBA total homogenizado foi depositado em câmaras de Neubauer para contagem de células nucleadas totais (CNT) e eritrócitos (ER). O LBA total foi processado a partir centrifugação 1.300 rpm por 6 minutos a 4ºC obtendo-se o sobrenadante. O pellet

[3] SYSMEX, pocH-100iVDiff®, Japão
[4] BD®, A-line™ LUER LOK, São Paulo, Brasil
[5] Roche® Diagnostica Ltda, São Paulo, Brasil
[6] Sedomin® König SA, São Paulo, Brasil.
[7] Mila®, MILA internacional, Kentucky, Estados Unidos da América.

obtido da centrifugação foi colocado em citocentrifuga para produção de lâminas de microscopia, as quais foram coradas com coloração panótico rápido e fixadas. A análise citológica diferencial (porcentagem de neutrofilos, linfócitos, eosinófilos, macrófagos e mastócitos) foi realizada em microscópio óptico.

Utilizou-se espectrofotômetro semi-automático[8] para mensuração de proteína total (método do biureto - Sensiprot) e fosfatase alcalina (método de Bowers e McComb modificado) no sobrenadante do LBA das amostras por meio de kits comerciais[9].

4.3.5. ANÁLISE DAS CAMAS E FENO

Para determinar a micoflora presente nas amostras de feno foram coletadas vinte e seis amostras de diferentes fardos e momentos. Já as amostras de cama foram coletadas em dois momentos: LIMPA, antes de colocar os animais e SUJA, 15 dias após o uso contínuo das camas. As amostras de cada baia foram armazenas em sacos de papel em ambiente arejado até o processamento. Para estimular o crescimento fúngico e posterior identificação foi utilizado o método do papel filtro umedecido usado em testes com sementes, sendo adaptado para forragens (LUCCA FILHO, 1987, BRASIL, 1992). Neste método o feno e as camas foram processadas com auxilio de tesoura para redução do tamanho das partículas (aproximadamente 0,5 cm de comprimento) e dispostas uniformemente (10 partículas da mesma amostra por placa) em 10 placas de petri pré higienizadas com álcool etílico 96° (Figura 3). Isto é: de cada amostra de feno ou cama foram montadas 10 placas com 10 particulas dentro cada, totalizando 100 partículas analisadas por amostra.

[8] BIO-PLUS, LABQUEST, São Paulo, Brasil
[9] LABTEST, LABQUEST, São Paulo, Brasil

Figura 3. Placa de petri com 3 camadas de papel filtro embebido em água destilada com 10 unidades de cama de uma mesma amostra distribuídas uniformemente.

O material foi incubado a 22 ± 2ºC durante sete dias em fotoperíodo de doze horas (luz fluorescente fria), sendo então analisadas com microscópio estereoscópico[10]. Ao observar fungos sobre as partículas de feno ou cama, eram confeccionadas lâminas e coradas com lactofenol azul-algodão. Estas foram analisadas em microscópio óptico comum para facilitar identificação. A estimativa de incidência dos fungos foi calculada utilizando a fórmula descrita por Senthilkumar et al. (1993), a qual determina a porcentagem de ocorrência dos fungos:

$$\% \text{ DA FREQUÊNCIA} = \frac{\text{Número de partículas que o fungo apareceu}}{\text{Número total amostras analisadas}} \times 100$$

Para a análise da porcentagem das partículas finas nos diferentes tipos de cama, foram coletados cem gramas de cada tipo de cama (MA e SE) sem uso (LIMPA). Estas amostras foram pesadas em balança de precisão e posteriormente peneiradas com peneira de alumínio. Após esse procedimento obteve-se conteúdo com partículas menores que um décimo de centímetro (tamanho graduado pela peneira) o qual foi pesado novamente. Com a diferença entre o peso inicial e o peso peneirado, foi calculado o valor percentual de partículas finas. O material peneirado foi processado em lâminas para análise em microscópio óptico[11] adaptado com

[10] QUIMIS®, São Paulo, Brasil
[11] Olympus Ltda, modelo BX51, Brasil

câmera fotográfica. A mensuração do tamanho das partículas foi efetuada com auxílio de software de computador[12].

Outra análise realizada foi a avaliação qualitativa visual da capacidade de cada cama em dispersar partículas de ar devido a sua movimentação durante higienização das baias e/ou andar dos animais.

[12] Espanhol (Colombina)

4.4. DELINEAMENTO EXPERIMENTAL E ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Para a análise das variáveis do hemograma, da hemogasometria e análise climatológica, o delineamento utilizado foi de parcelas subdivididas com medidas repetidas no tempo, testando o fator grupo (3 níveis) nas parcelas e o fator momento (4 níveis) nas subparcelas, com 05 repetições por grupo. O quadrado médio de animal dentro de grupo foi usado como resíduo para testar o efeito de grupo. Havendo diferença significativa entre médias, estas foram comparadas entre si pelo teste de Tukey ao nível de significância de 5%.

Para as variáveis categóricas (espécies de fungos nas camas) foi utilizado o teste de Kruskal-Wallis (não paramétrico), sendo que para valores de P iguais ou inferiores a 0,05 ($p \leq 0,05$), as diferenças entre as medianas entre os grupos, momentos, momentos dentro de grupos foram consideradas significativas. Para tanto, foi utilizando o procedimento “General Linear Models” (GLM) na primeira análise e o procedimento npar1way na segunda, ambos do programa computacional SAS[13].

[13] SAS 9.1, SAS Institute, Cary. NC, USA

5. RESULTADOS

5.1. EXAME CLÍNICO

Dentre os parametros avaliados no exame clínico a única variável que apresentou diferença (p≤0,05) entre os grupos e os momentos foi o peso (P) (Tabela 2). O grupo MA e o PASTO apresentaram decréscimo de peso com o passar dos momentos porém, sem diferença significativa. Os demais parâmetros como frequência cardíaca (FC), frequência respiratória (FR) e temperatura retal (T) são descritos nos apendice de 1 a 7.

Tabela 2. Médias ± desvio padrão da média dos pesos (kg) de equinos divididos em grupos em quatro momentos distintos.

GRUPO	MOMENTOS			
	D0	D15	D30	D45
MA	425,2 ± 33,07^{A}	414,4 ± 45,27^{A}	404,6 ± 41,12^{A}	410,4 ± 50,63^{A}
SE	361,0 ± 31,40^{Ba}	381,2 ± 10,80^{Bb}	362,4 ± 22,86^{Bab}	381,4 ± 13,15^{Bab}
PASTO	385,8 ± 28,73^{C}	361,0 ± 31,40^{C}	361,8 ± 31,40^{C}	367,2 ± 36,45^{C}

MA: cama de maravalha autoclavada, SE: serragem comum, PASTO: animais soltos em piquete. D0: momento basal, D15, D30, D45: avaliações quinzenais realizados após o basal. Médias seguidas de letras maiúsculas distintas nas colunas e minusculas nas linhas diferem entre si (p≤ 0,05).

A classificação por escores utilizada para a presença de tosse e esfiros possibilitou verificar que o grupo SE apresentou escore 2 a partir de D15, repetinfo-se em D30 e D45 (Figura 4). Os animais apresentaram tosse e espirros ao entrar na baia, após a higienização e/ou troca das camas assim como durante a movimentação na baia. A movimentação dos animais nas baias resultava na suspensão de partículas da cama no ar, sendo que os animais que se enquadravam no escore 2 permaneciam com os sintomas mesmo após algumas horas da higienização e retorno as baias. Um dos animais do grupo MA apresentou escore 1 apenas no momento D30 apresentando melhora no momento D45 no qual obteve escore 0. Um equino do grupo PASTO apresentou escore 1 em D30 e D45 (Figura 4). Foi observado tosse ou espiros durante o oferecimento de volumoso ou concentrado apenas naqueles animais que ja apresentavam o quadro de irritação das vias aéreas.

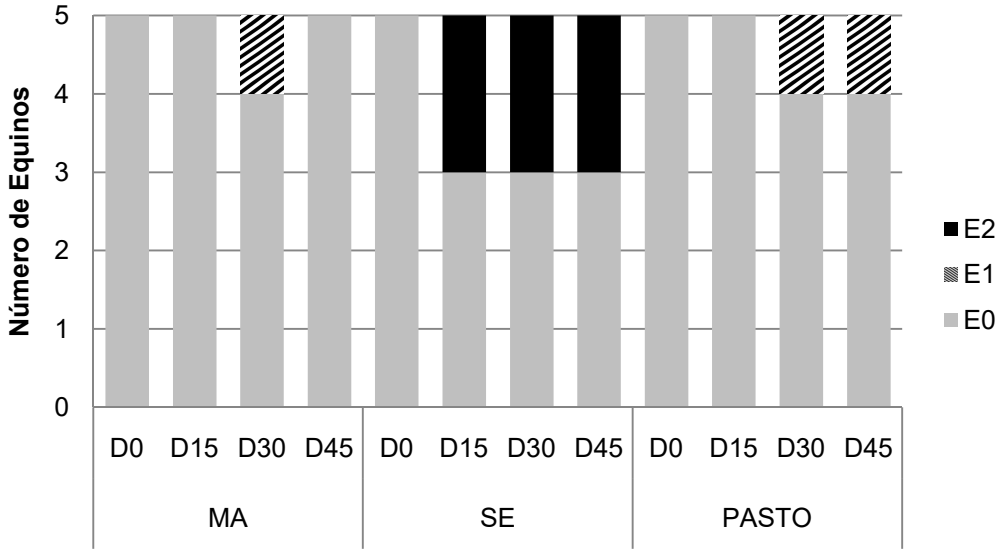

Figura 4. Sinais clínicos referentes à irritação das vias aéreas observados nos três grupos de equinos (MA: cama de maravalha autoclavada, SE: cama de serragem comum e PASTO: equinos mantidos em piquete) de acordo com escores de 0 a 2 (E0: ausência de sinais clínicos, E1: tosse e espirros esporádicos e E2: tosse e espirros persistentes). Animais divididos em 3 grupos para comparação

5.2. TEMPERATURA AMBIENTE E UMIDADE RELATIVA DO AR

A temperatura ambiente e a umidade relativa do ar (UR) mensuradas durante o periodo experimental estão descritos na Figura 5. O período P0 refere-se as médias dos valores de 15 dias antes do início do experimento (15 dias antes do D0), momento este que todos os equinos estavam a pasto. O período P15 diz respeito as médias dos primeiros 15 dias do período experimental (15 dias antes do D15), assim respectivamente com os demais períodos. Observa-se que houve queda progressiva nos valores de temperatura do início das avaliações até o P45 apesar de não haver diferença estatistica. Os valores mínimos durante os dias permaneceram entre 15 a 20°C e os máximos entre 25 a 30°C. Os valores de UR permaneceram semelhantes sendo que as menores porcentagens foram observadas no P15 e P30. O período P15 apresentou os maiores valores de temperatura média e os menores de UR

média. Já o P30 apresentou temperaturas amenas relacionadas a segunda menor média de UR.

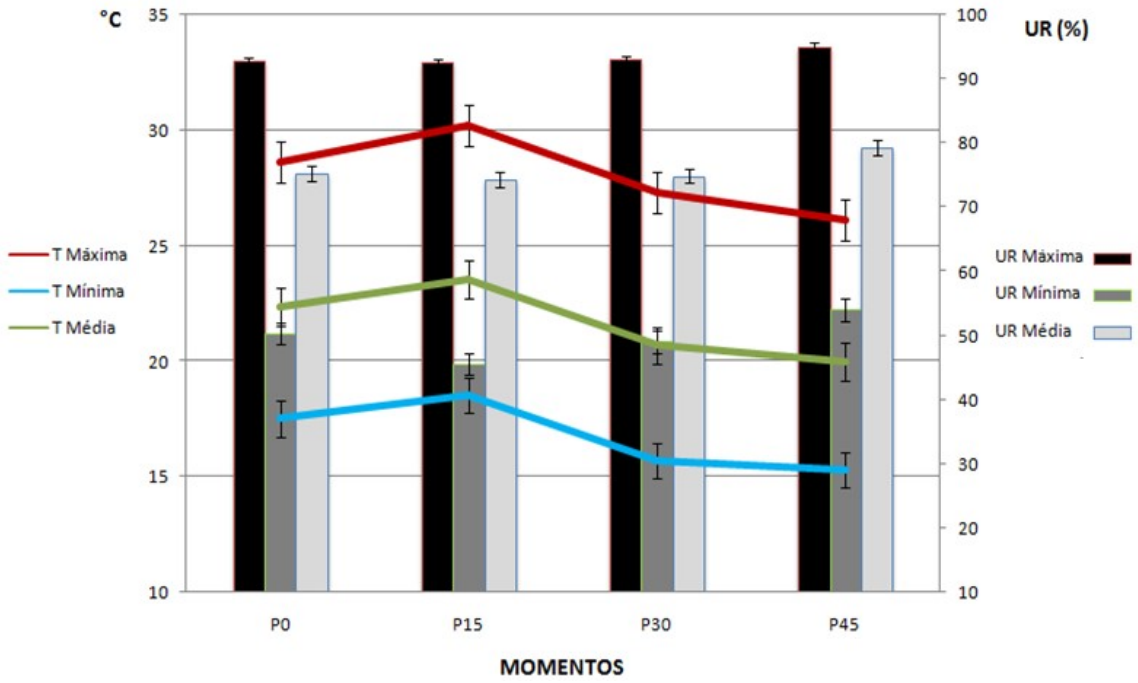

Figura 5. Comparação da Temperatura ambiente (T) máxima, mínima e média são descritas pelo gráfico em linhas em cores em graus Celsius. A Umidade relativa do ar (UR) máxima, mínima e média descritas pelo gráfico em barras em tons de cinza. Os momentos (P0, P15, P30 e P45) referem-se às médias dos valores de 15 dias antes do momentos experimentais nos quais foram realizados coletas.

Foi observado índice pluviométrico de 69,4 mm, sendo o período com maior índice pluviométrico associado a um dia com temperatura ambiente inferior a 15ºC durante o P0. No P15 houve 14,8 mm de chuva com dois dias com temperatura ambiente inferiore a 15º C. No P30 obteve-se 67,9 mm de chuva e seis dias com temperatura ambiente inferiores a 15º C, caracterizando o segundo período mais frio. No ultimo período, o P45, apresentou 21,2 mm de chuva e sete dias com dias com temperaturas inferiores a 15º C sendo o perído mais frio.

5.3. ANÁLISES HEMATOLÓGICAS

As variáveis hematológicas referentes ao hemograma distribuidas individualmente nas tabelas 3 a 7, a contagm de Lf no grpo MA foi significativamente menor no D0 comparada aos demais momentos. No SE, a diferentça observada foi no D15, com média mais alta quando comparada aos demais momentos. No grupo PASTO, os valores de Lf foram maiores que o basal apenas em D30 ($p \leq 0,05$), porém embora em D15 e D45 fosse acima de D0 não diferiram estatisticamente (Tabela 3).

Tabela 3. Médias ± desvio padrão da média dos linfócitos (x 10^3/ µl) mensurados no sangue venoso de equinos divididos em grupos em quatro momentos distintos.

GRUPOS	MOMENTOS			
	D0	D15	D30	D45
MA	1,86 ± 0,18^{a}	2,48 ± 0,41^{b}	2,86 ± 0,42^{b}	2,32 ± 0,29^{b}
SE	1,96 ± 0,32^{a}	2,60 ± 0,46^{b}	2,40 ± 0,64^{ab}	2,22 ± 0,51^{ab}
PASTO	2,04 ± 0,70^{a}	2,56 ± 0,69^{ab}	2,76 ± 0,70^{b}	2,58 ± 0,69^{ab}

MA: cama de maravalha autoclavada, SE: serragem comum, PASTO: animais soltos em piquete. D0: momento basal, D15, D30, D45: avaliações quinzenais realizados após o basal. Médias seguidas de letras minusculas nas linhas diferem entre si ($p \leq 0,05$).

Na tabela 4 observ-se qe não houve diferença para a contagem de eosinófilos entre os três grupos. No grupo SE, apresenta valores maiores e diferentes no basal comparados ao D30 e D45.

As demais variáveis mensuradas no leucograma não apresentaram diferença significativa e estão descritas nos apendices de 8 a 14.

Tabela 4. Médias ± desvio padrão da média dos eosinófilos (x 10^3/ µl) mensurados no sangue venoso de equinos divididos em grupos em quatro momentos distintos.

GRUPOS	MOMENTOS			
	D0	D15	D30	D45
MA	0,500 ± 0,24	0,350 ± 0,71	0,200 ± 0,03	0,330 ± 0,07
SE	0,470 ± 0,11[a]	0,340 ± 0,12[ab]	0,210 ± 0,06[b]	0,204 ± 0,04[b]
PASTO	0,456 ± 0,24	0,366 ± 0,11	0,282 ± 0,70	0,426 ± 0,18

MA: cama de maravalha autoclavada, SE: serragem comum, PASTO: animais soltos em piquete. D0: momento basal, D15, D30, D45: avaliações quinzenais realizados após o basal Médias seguidas de letras distintas nas linhas diferem entre si (p≤ 0,05).

Em relação aos eritrócitos não se observou diferença entre os grupos em nenhum dos momentos comparados. O grupo MA apresentou médias de eritrócitos decrescente numericamente com o passar das avaliações, havendo diferença significativa apenas entre D0 e D45 (Tabela 5).

Tabela 5. Médias ± desvio padrão da média dos eritrócitos (x 10^3/ µl) mensurados no sangue venoso de equinos divididos em gruposem quatro momentos distintos.

GRUPOS	MOMENTOS			
	D0	D15	D30	D45
MA	8,690 ± 1,53[a]	7,590 ± 1,34[ab]	7,610 ± 0,51[ab]	6,890 ± 0,71[b]
SE	7,820 ± 0,72	7,540 ± 0,74	7,350 ± 0,56	8,124 ± 1,15
PASTO	6,724 ± 1,37	6,416 ± 0,60	6,910 ± 0,54	6,728 ± 0,58

MA: cama de maravalha autoclavada, SE: serragem comum, PASTO: animais soltos em piquete. D0: momento basal, D15, D30, D45: avaliações quinzenais realizados após o basal. Médias seguidas de letras distintas nas linhas diferem entre si (p≤ 0,05).

Para a hemoglobina, observou-se diferença do grupo MA em relação ao PASTO apenas no basal (D0). Para o grupo SE os demais não houve diferença entre eles em nenhum dos outros momentos. Os valores de Hb do grupo MA diminuíram a partir de D15, porém só diferiram do basal (p≤ 0,05) em D45.

Tabela 6. Médias ± desvio padrão da média de hemoglobina (g/dL) mensurada no sangue venoso de equinos divididos em grupos em quatro momentos distintos.

GRUPOS	MOMENTOS			
	D0	D15	D30	D45
MA	13,500 ± 2,40^{Aa}	11,980 ± 2,11^{ab}	12,280 ± 0,94^{ab}	11,160 ± 0,90^{b}
SE	12,020 ± 0,76^{AB}	11,860 ± 0,88	11,600 ± 0,59	12,940 ± 1,71
PASTO	10,640 ± 1,92^{B}	10,200 ± 1,23	11,000 ± 0,36	10,880 ± 0,77

MA: cama de maravalha autoclavada, SE: serragem comum, PASTO: animais soltos em piquete. D0: momento basal, D15, D30, D45: avaliações quinzenais realizados após o basal. Médias seguidas de letras maiúsculas distintas nas colunas e minusculas nas linhas diferem entre si (p≤ 0,05).

Foi observado decréscimo do hematócrito no grupo MA no decorrer das avaliações havendo diferença significativa de D0 para D45. Este grupo também apresentou maior média que o grupo PASTO no D0 como é descrito na Tabela 7 (p≤ 0,05). As demais variáveis mensuradas no hemograma não apresentaram diferença podendo ser observadas nos apêndices 8 a 14.

Tabela 7. Médias ± desvio padrão da média do hematócrito (%) mensurado no sangue venoso de equinos divididos em grupos em quatro momentos distintos.

GRUPOS	MOMENTOS			
	D0	D15	D30	D45
MA	39,10 ± 7,70Aa	34,14 ± 6,46ab	34,30 ± 2,67ab	30,62 ± 2,78b
SE	34,40 ± 2,34AB	33,26 ± 2,85	32,18 ± 1,99	35,32 ± 4,74
PASTO	30,20 ± 5,99B	28,76 ± 3,51	30,58 ± 0,95	29,62 ± 2,12

MA: cama de maravalha autoclavada, SE: serragem comum, PASTO: animais soltos em piquete. D0: momento basal, D15, D30, D45: avaliações quinzenais realizados após o basal. Médias seguidas de letras maiúsculas distintas nas colunas e minusculas nas linhas diferem entre si (p≤ 0,05).

Na avaliação hemogasométrica, os valores de pH mensurado no sangue arterial dos equinos está descrito na Tabela 8 e Figura 6 onde os grupos MA e SE apresentam médias menores que o grupo PASTO em D45, havendo diferença significativa entre os grupos MA e PASTO nesse momento (p≤ 0,05). O grupo MA também diferiu significativamente do PASTO no D15, observando-se então médias maiores para o último grupo. Em D15 obteve-se as menores médias de pH do grupo MA em comparação aos demais momentos (p≤ 0,05), já no grupo PASTO foi observado média significativamente maior que nos outros momentos.

Tabela 8. Médias ± desvio padrão da média do pH mensurado no sangue arterial de equinos divididos em grupos em quatro momentos distintos.

GRUPOS	MOMENTOS			
	D0	D15	D30	D45
MA	7,450 ± 0,01^{a}	7,457 ± 0,01^{Aa}	7,458 ± 0,02^{a}	7,421 ± 0,02^{Ab}
SE	7,432 ± 0,01	7,453 ± 0,01^{A}	7,425 ± 0,02	7,430 ± 0,01^{AB}
PASTO	7,472 ± 0,02^{ab}	7,510 ± 0,02^{Ba}	7,471 ± 0,02^{ab}	7,453 ± 0,02^{Bb}

MA: cama de maravalha autoclavada, SE: serragem comum, PASTO: animais soltos em piquete. D0: momento basal, D15, D30, D45: avaliações quinzenais realizados após o basal. Médias seguidas de letras maiúsculas distintas nas colunas e minusculas nas linhas diferem entre si (p≤ 0,05).

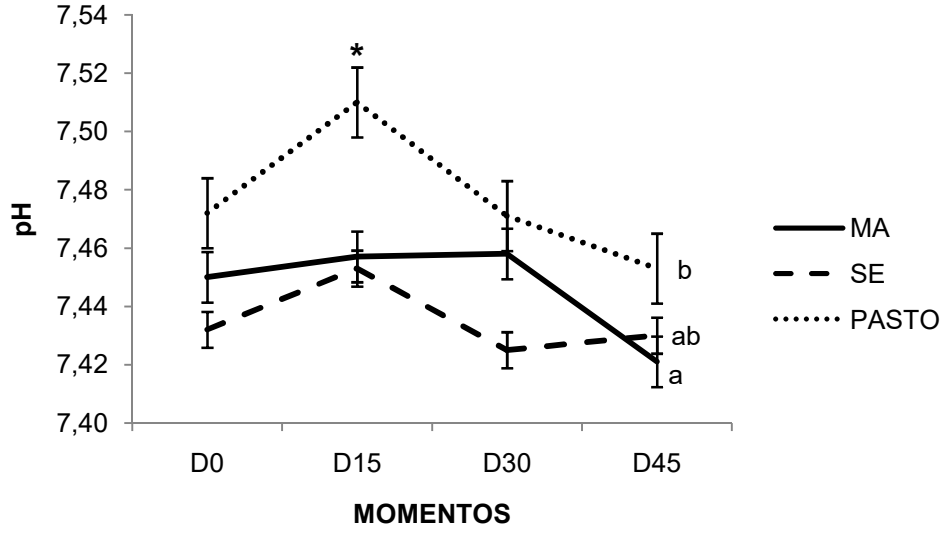

Figura 6. Médias ± desvio erro padrão da média de pH mensurado em sangue arterial de equinos divididos em três grupos (MA: cama de maravalha autoclavada, SE: cama de serrgem comum e PASTO: animais em piquete) nos momentos basal (D0) e posteriores avaliações quinzenais (D15, D30 e D45). *Médias assinaladas com asteriscos ou por letras distintas diferem dos demais grupos no momento (p≤ 0,05).

Para as determinações de HCO_3 (Tabela 9 e Figura 8) foram observadas diferenças entre os grupos apenas em D15 e D45 no grupo MA e SE em relação o grupo PASTO (p≤ 0,05). Quanto aos diferentes momentos, apenas o grupo PASTO observou-se que em D15 o bicarbonato foi maior em D30 e D45 (p≤ 0,05), porém não diferiu de D0. Os demais momentos não diferiram entre si.

Tabela 9. Médias ± desvio padrão da média de bicarbonato (HCO_3^-) determinado no sangue arterial de equinos divididos em grupos em quatro momentos distintos.

	MOMENTOS			
GRUPOS	D0	D15	D30	D45
MA	28,33 ± 0,76	28,06 ± 1,29^{A}	27,96 ± 2,58	25,34 ± 2,58^{A}
SE	26,32 ± 1,18	27,70 ± 0,87^{A}	26,00 ± 1,17	26,70 ± 0,81^{A}
PASTO	29,30 ± 1,10^{ab}	31,80 ± 2,41^{Ba}	28,60 ± 2,33^{b}	28,30 ±0 1,31^{Bb}

MA: cama de maravalha autoclavada, SE: serragem comum, PASTO: animais soltos em piquete. D0: momento basal, D15, D30, D45: avaliações quinzenais realizados após o basal. Médias seguidas de letras maiúsculas distintas nas colunas e minusculas nas linhas diferem entre si (p≤ 0,05).

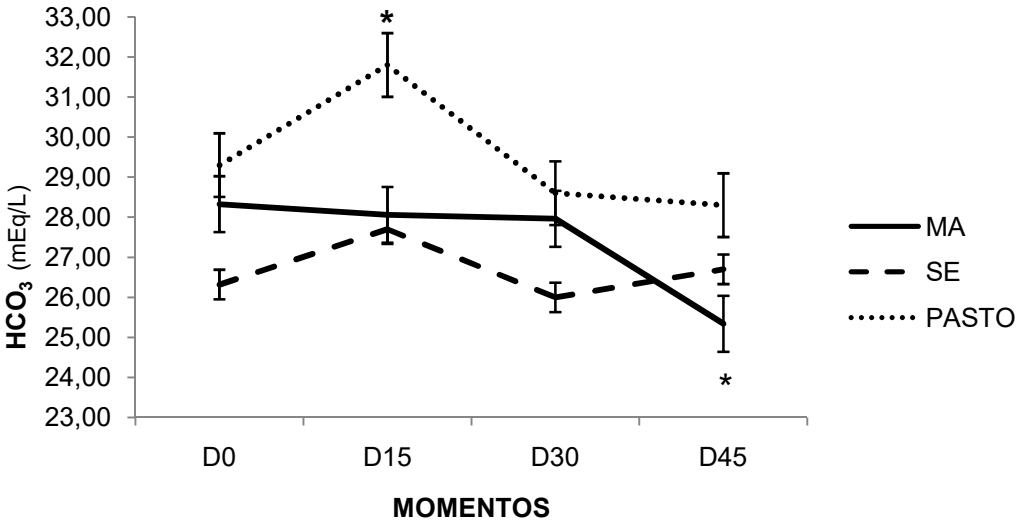

Figura 7. Médias ± erro padrão da média de bicarbonato (HCO_3) mensurado em mmHg no sangue arterial de equinos divididos em três grupos (MA: cama de maravalha autoclavada, SE: cama de serrgem comum e PASTO: animais em piquete) no momento basal (D0) e posteriores avaliações quinzenais (D15, D30 e D45). *Média assinalada com asterisco difere dos demais grupos no momento (p≤0,05).

Na Tabela 10 e Figura 8 estão apresentadasas médias da pressão parcial de dióxido de carbono (PCO_2) mensurada no sangue arterial dos equinos. Observa-se diferença significativa entre os grupos apenas no momento D45, quando o grupo MA diferiu do grupo PASTO (p≤0,05). Nos demais momentos (D15, D30 e D45) não houve diferença entre os grupos.

Tabela 10. Médias ± desvio padrão da média da pressão parcial de dióxido de carbono (PCO_2) em mmHg mensurada no sangue arterial de equinos divididos em grupos em quatro momentos distintos.

GRUPOS	MOMENTOS			
	D0	D15	D30	D45
MA	44,98 ± 2,56	42,52 ± 5,03	42,46 ± 5,85	39,50 ± 5,85^{A}
SE	41,20 ± 2,64	42,50 ± 2,01	38,30 ± 1,91	43,70 ± 2,98^{AB}
PASTO	43,70 ± 1,57	43,50 ± 5,47	44,60 ± 4,12	46,50 ± 2,89^{B}

MA: cama de maravalha autoclavada, SE: serragem comum, PASTO: animais soltos em piquete. D0: momento basal, D15, D30, D45: avaliações quinzenais realizados após o basal. Médias seguidas de letras maiúsculas distintas nas colunas diferem entre si (p≤ 0,05).

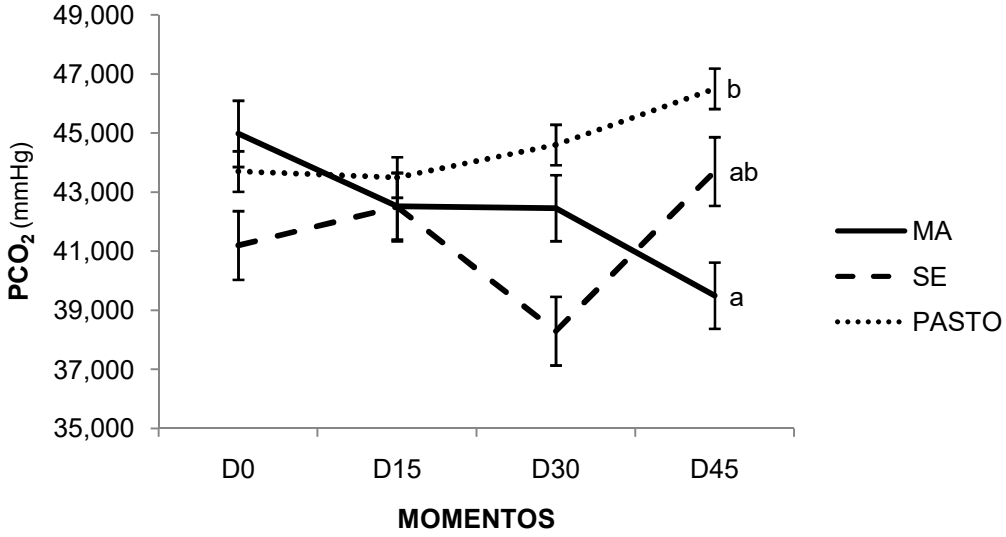

Figura 8. Médias ± erro padrão da média da pressão parcial de dióxido de carbono (PCO_2) mensurado em mmHg no sangue arterial de equinos divididos em três grupos (MA: cama de maravalha autoclavada, SE: cama de serrgem comum e PASTO: animais em piquete) nos momentos basal (D0) e posteriores avaliações quinzenais (D15, D30 e D45). Médias seguidas por letras distintas diferem dos demais grupos no momento (p≤ 0,05).

As médias da pressão parcial de oxigênio (PO_2) diferiram apenas em D45 entre os grupos MA e PASTO (p≤ 0,05) como descrito na Tabela 11 e Figura 9.

Tabela 11. Médias ± desvio padrão da média da pressão parcial de oxigênio (PO_2) mensurada em mmHg no sangue arterial de equinos divididos em grupos em quatro momentos distintos.

GRUPOS	MOMENTOS			
	D0	D15	D30	D45
MA	95,45 ± 13,51	108,34 ± 23,30	117,20 ± 48,63	127,78 ± 48,63^{A}
SE	101,62 ± 18,53	113,70 ± 9,66	132,20 ± 15,37	103,60 ± 9,00^{AB}
PASTO	91,10 ± 8,25	120,20 ± 26,00	88,20 ± 9,61	102,10 ± 29,51^{B}

MA: cama de maravalha autoclavada, SE: serragem comum, PASTO: animais soltos em piquete. D0: momento basal, D15, D30, D45: avaliações quinzenais realizados após o basal. Médias seguidas de letras maiúsculas distintas nas colunas diferem entre si (p≤ 0,05).

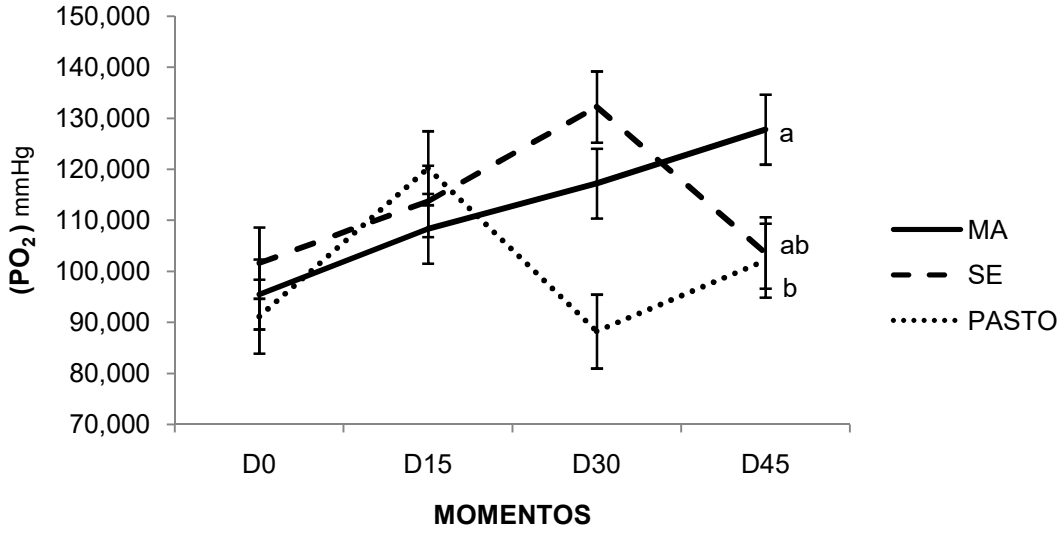

Figura 9. Médias ± erro padrão da média da pressão parcial de oxigênio (PO_2) mensurado em sangue arterial de equinos divididos em três grupos (MA: cama de maravalha autoclavada, SE: cama de serrgem comum e PASTO: animais em piquete) nos momentos basal (D0) e posteriores avaliações quinzenais (D15, D30 e D45). Médias seguidas por letras distintas diferem dos demais grupos no momento (p≤0,05).

Dados detalhados da análise hemogasométrica distribuídos por grupos estão descritos no apêndices de 15 à 17 e por momentos nos apêndices de 18 à 21.

5.4. LAVADO BRONCOALVEOLAR

Na avaliação da porcentagem de fluido recuperado de LBA observou-se que nos primeiros momentos, em especial o D0, a porcentagem foi menor em todos os grupos quando comparado ao final do período experimental no D45. No momento D0 a média de fluido recuperado entre os grupos foi de 35,7 ± 7,9%, em D15 foi 40,2 ± 3,2%, em D30 42,8 ± 4,2% e 42,4 ± 1,7% em D45. As porcentagens de fluido recuperado entre os grupos nos momentos não apresentaram diferença estatística (Figura 10).

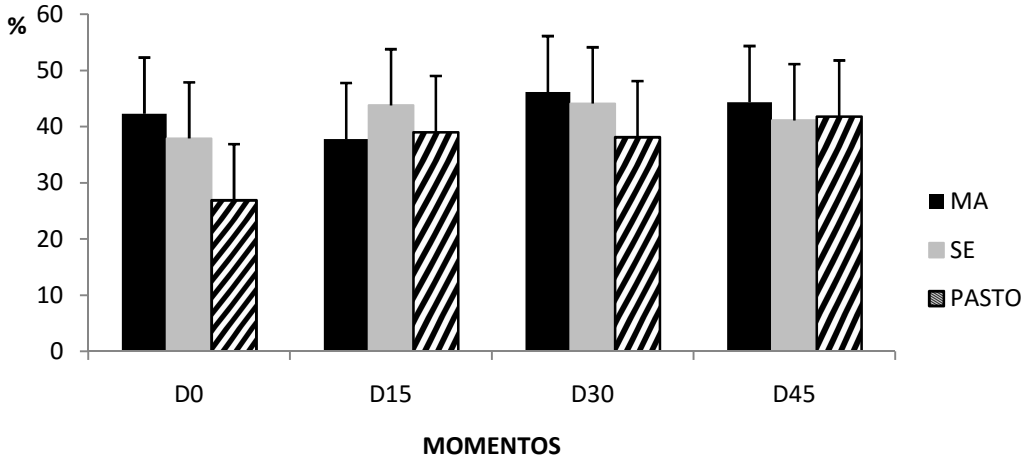

Figura 10. Média ± erro padrão da média da porcentagem de fluido recuperado no lavado broncoalveolar (LBA) de 15 equinos separados em 3 grupos: MA (baias com cama de maravalha autoclavada), SE (baias com cama de serragem) e PASTO (animais em piquete) nos momentos basal (D0) e posteriores avaliações quinzenais (D15, D30 e D45).

A contagem de células nucleadas totais do LBA pode ser observada na Figura 11, na qual os três grupos saem de valores basais próximos, porém o grupo PASTO segue um padrão crescente e com as maiores médias que os demais grupos, enquanto o MA é decrescente até o momento D15 ($p>0,05$).

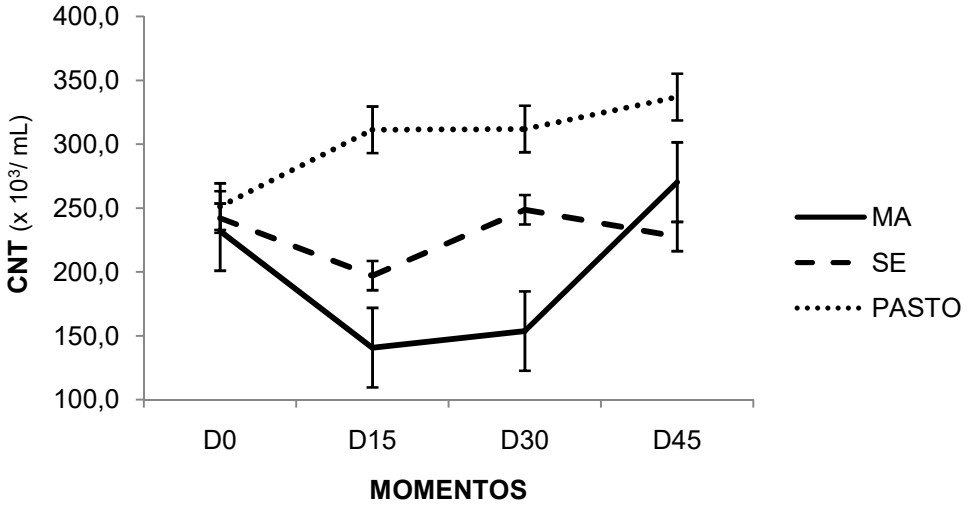

Figura 11. Médias ± erro padrão da média das células nucleadas totais (CNT) mensuradas no lavado broncoalveolar de equinos divididos em três grupos (MA: cama de maravalha autoclavada, SE: cama de serragem comum e PASTO: animais em piquete) no momento basal (D0) e posteriores avaliações quinzenais (D15, D30 e D45).

Os valores percentuais de neutrófilos obtidos na avaliação diferencial do LBA são descritos na Tabela 12 e Figura 12, nos quais se observa diferença entre os grupos somente no momento D30, onde o grupo MA apresenta média significativamente maior que os demais grupos. A comparação entre momentos foi significativa apenas nos grupos estabulados, o grupo MA obteve o maior valor em D30 e os menores em D15 e D45 ($p \leq 0,05$). Já o grupo SE apresentou média significativamente menor no D45.

Tabela 12. Médias ± desvio padrão da média de neutrófilos (%) mensurados no lavado broncoalveolar de equinos divididos em grupos em quatro momentos distintos.

GRUPOS	MOMENTOS			
	D0	D15	D30	D45
MA	12,80 ± 5,79^{a}	8,20 ± 5,54^{ac}	35,0 ± 18,87^{Ab}	4,80 ± 2,80^{c}
SE	21,00 ± 14,44^{a}	10,40 ± 2,79^{a}	16,4 ± 2,88^{Ba}	4,40 ± 2,97^{b}
PASTO	18,00 ± 12,14	15,60 ± 3,36	9,4 ± 4,80^{B}	7,80 ± 3,35

MA: cama de maravalha autoclavada, SE: serragem comum, PASTO: animais soltos em piquete. D0: momento basal, D15, D30, D45: avaliações quinzenais realizados após o basal. Médias seguidas de letras maiúsculas distintas nas colunas e minusculas nas linhas diferem entre si ($p \leq 0,05$).

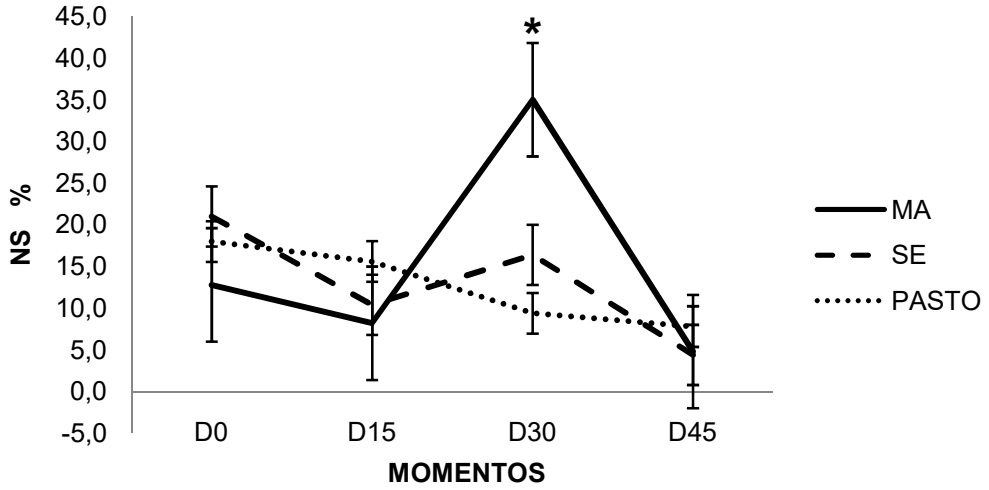

Figura 12. Médias ± erro padrão da média dos neutrófilos segmentados (NS) mensuradas no lavado broncoalveolar de equinos divididos em três grupos (MA: cama de maravalha autoclavada, SE: cama de serragem comum e PASTO: animais em piquete) no momento basal (D0) e posteriores avaliações quinzenais (D15, D30 e D45). *Média com asterisco diferente dos demais grupos no momento (p≤0,05).

A contagem diferencial dos linfócitos no LBA dos equinos está descrita na Tabela 13 e Figura 13. O grupo MA apresenta diminuição em D30, retornando aos valores basais em D45. Já o grupo SE mantem uma diminuição numérica, sem diferença estatistica, para posterior aumento em D45 (p≤ 0,05). O grupo PASTO apresentou menores medias no D15 e D30 sendo significativamente diferentes de D0 e D45.

Tabela 13. Médias ± desvio padrão da média de linfócitos (%) mensurados no lavado broncoalveolar de equinos divididos em grupos em quatro momentos distintos.

GRUPOS	MOMENTOS			
	D0	D15	D30	D45
MA	71,80 ± 14,44^{a}	66,60 ± 15,53^{a}	41,6 ± 6,70^{b}	78,40 ± 5,50^{ac}
SE	71,80 ± 13,81^{ab}	66,60 ± 6,99^{ab}	58,2 ± 7,05^{b}	80,80 ± 4,87^{a}
PASTO	72,40 ± 9,86^{a}	51,20 ± 13,57^{b}	56,5 ± 4,98^{b}	80,20 ± 1,92^{a}

MA: cama de maravalha autoclavada, SE: serragem comum, PASTO: animais soltos em piquete. D0: momento basal, D15, D30, D45: avaliações quinzenais realizados após o basal. Médias seguidas de letras minusculas nas linhas diferem entre si (p≤ 0,05).

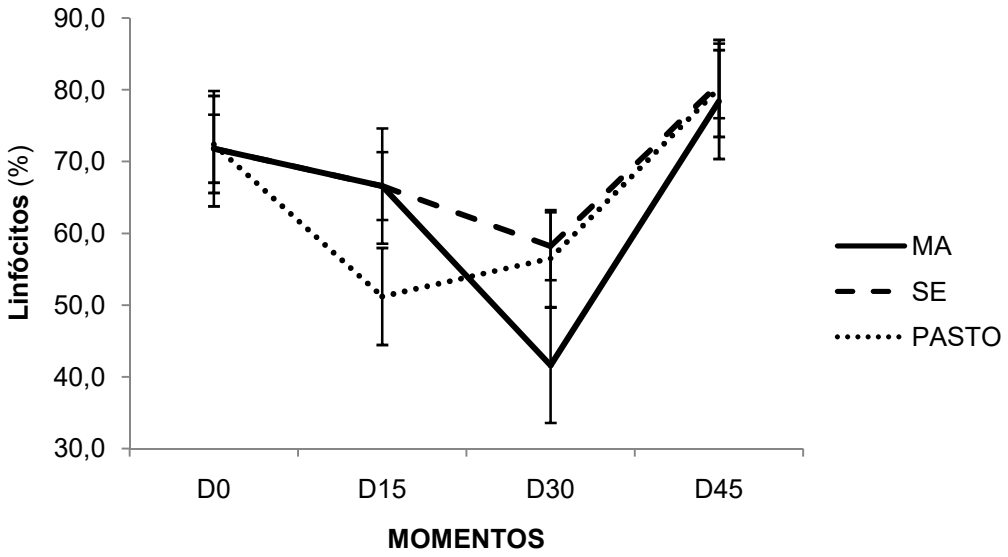

Figura 13. Médias ± erro padrão da média dos linfócitos (LF) mensuradas no lavado broncoalveolar de equinos divididos em três grupos (MA: cama de maravalha autoclavada, SE: cama de serragem comum e PASTO: animais em piquete) no momento basal (D0) e posteriores avaliações quinzenais (D15, D30 e D45).

As médias percentuais de macrófagos são ilustrados na Figura 14 onde não é observado diferença estatística entre os grupos nos diferentes momentos, o mesmo ocorre para as médias percentuais de eosinófilos (Figura 15). Dados detalhados da análise citológica do LBA dividida por grupos são descritas no apêndices de 22 à 24.

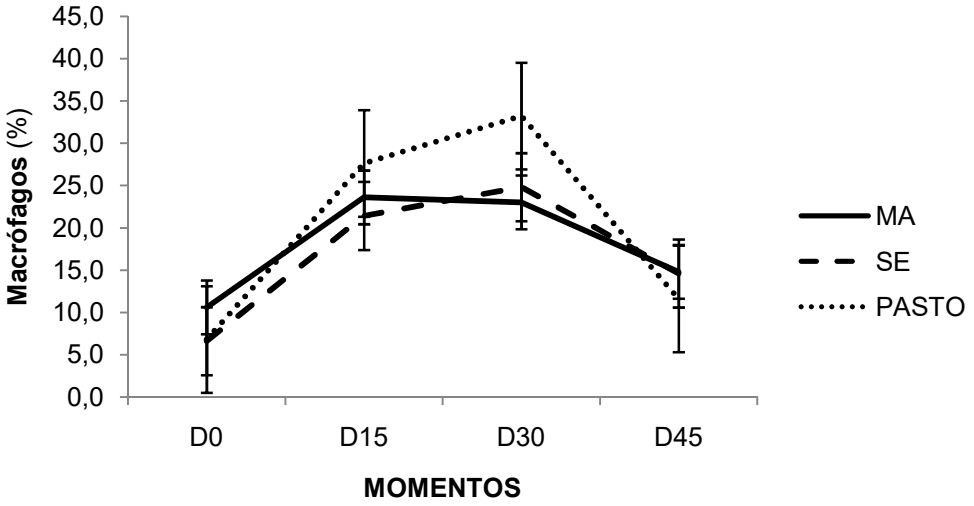

Figura 14. Médias ± erro padrão da média de macrófagos (MC) mensurados no lavado broncoalveolar de equinos divididos em três grupos (MA: cama de maravalha autoclavada, SE: cama de serragem comum e PASTO: animais em piquete) no momento basal (D0) e posteriores avaliações quinzenais (D15, D30 e D45).

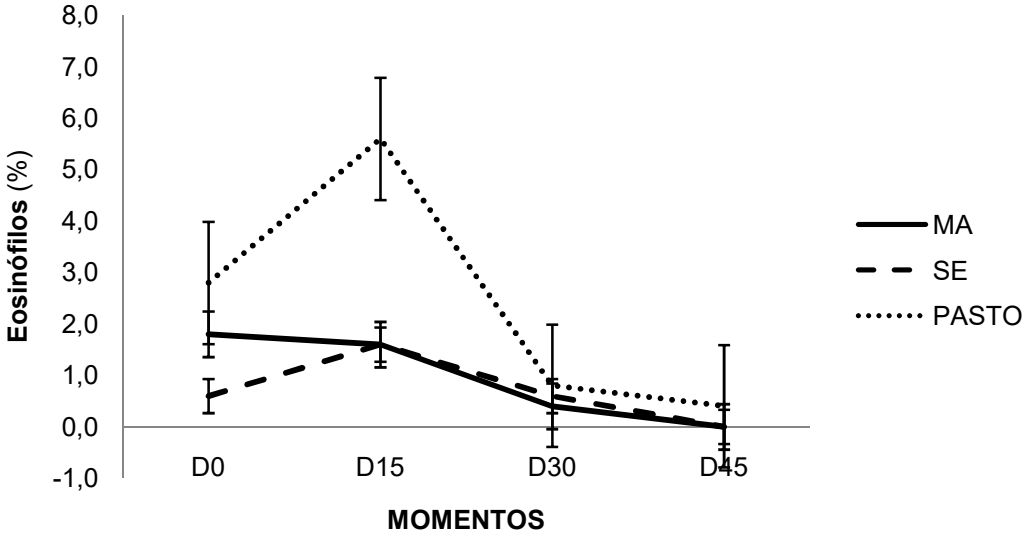

Figura 15. Médias ± erro padrão da média de eosinófilos (EO) mensurados no lavado broncoalveolar de equinos divididos em três grupos (MA: cama de maravalha autoclavada, SE: cama de serragem e PASTO: animais em piquete) no momento basal (D0) e posteriores avaliações quinzenais (D15, D30 e D45).

Na análise citológica do LBA foi observado infiltrado de células nucleadas sendo: linfócitos, macrófagos, neutrófilos segmentados e eosinófilos, como pode ser visto na Figura 16.

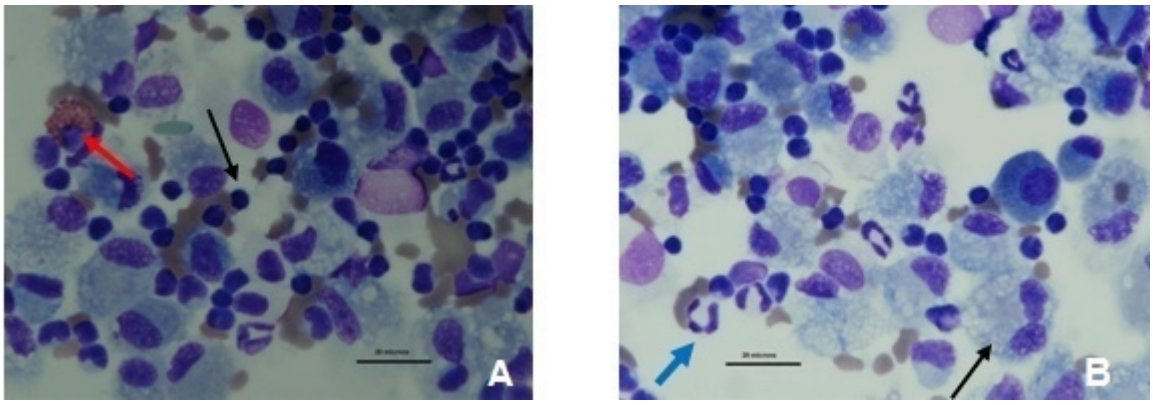

Figura 16. Fotomicrografias de análise citológica de LBA de equino. **A)** Eosinófilo (seta vermelha), linfócito (seta preta). **B)** Macrófago (seta preta), neutrófilo (seta azul), Panótico romanowski, 1000x.

As concentrações da enzima fosfatase alcalina mensuradas no sobrenadante do LBA dos equinos não apresentaram diferença estatística entre os grupos e momentos, no entanto é notável o aumento numérico dos valores em todos os grupos. No MA e PASTO o aumento vai até D30, já no grupo SE houve flutuações dos valores sendo os dois maiores nos momentos D15 e D45 (Figura 17). A tabela descritiva dos valores de FA mensurados no LBA encontra-se no apêndice 25.

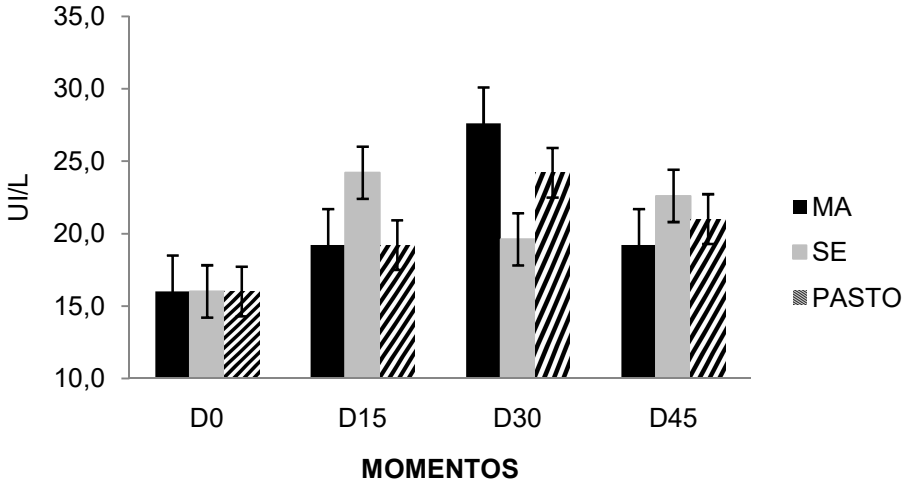

Figura 17. Fosfatase alcalina mensurada no sobrenadante do lavado broncoalveolar de 15 equinos divididos em três grupos: cama de maravalha autoclavada (MA), serragem comum (SE) e piquete (PASTO), nos momentos D0 (basal), D15 (primeira avaliação quinzenal), D30 (segunda avaliação quinzenal) e D45 (terceira avaliação quinzenal).

5.5. ANÁLISE MICOLÓGICA E GRAU DE DISPENSÃO DE PARTÍCULAS DAS CAMAS E FENO

As camas antes do uso (LIMPA) e quinze dias após o uso (SUJA) dentro dos grupos foram avaliadas quanto ao desenvolvimento ou supressão dos fungos. No grupo MA houve crescimento significativo dos gêneros *Aschochyta, Monilia* e *Penicillium* e diminuição dos *Cladosporium* e *Helminthosporium* ($p \leq 0,05$). Já no grupo SE o desenvolvimento significativo foi de *Monília* e a supressão foi da *Rhizoctonia* ($p \leq 0,05$) (Tabela 30).

Tabela 14. Médias ± desvio padrão da média da frequência dos gêneros de fungos das camas.

GÊNERO	MA		SE	
	LIMPA	SUJA	LIMPA	SUJA
Aschochyta	0,0 a	1,6 ± 1,5 b	0,0	0,0
Cladosporium	5,6 ± 4,2 a	0,4 ± 0,5 b	0,4 ± 0,9	2,0 ± 2,1
Curvularia	1,0 ± 1,7	0,8 ± 1,3	0,4 ± 0,5	0,0
Epicocum	1,0 ± 1,0	1,8 ± 3,5	0,0	0,25 ± 2,6
Fusarium	0,2 ± 0,4	0,0	0,0	0,0
Helminthosporium	1,0 ± 1,0 a	0,0 b	0,2 ± 0,4	0,0
Monília	0,0 a	7,0 ± 5,3 b	0,0 A	13,75 ± 9,2 B
Nigrospora	0,2 ± 0,4	0,2 ± 0,4	3,2 ± 4,0	0,5 ± 0,5
Penicillium	0,0 a	0,8 ± 0,8 b	2,8 ± 2,8	4,5 ± 4,7
Rhizopus	0,2 ± 0,4	0,2 ± 0,4	1,4 ± 3,1	0,0
Rhizoctonia	0,4 ± 0,9	0,4 ± 0,9	3,8 ± 3,3 A	0,0 B
Thichoderma	0,0	0,0	0,0	0,5 ± 0,9

MA: cama de maravalha autoclavada, SE: serragem comum. LIMPA: cama antes de ser colocada nas baias para uso, SUJA: cama após 15 dias de uso na baia. Médias seguidas de letras distintas na linha diferem entre si ($p \leq 0,05$). Não há relação de comparação entre letras maiúsculas e minúsculas.

A Figura 18 representa as porcentagem dos gêneros encontrados na cama MA onde observa-se que houve médias maiores de *Cladosporium, Curvolaria, Fusarium, Helminthosporium, Nigrospora, Rhizopus e Rhizoctonia* na cama limpa quando comparada a SUJA.

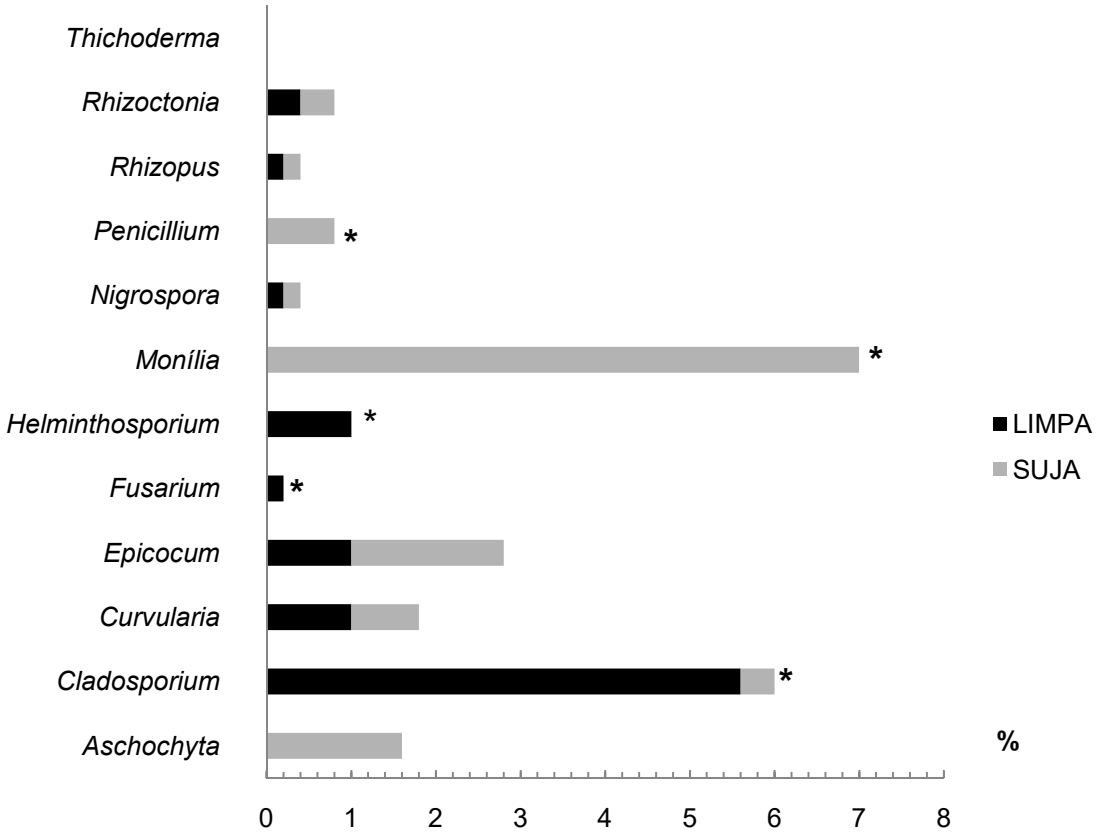

Figura 18. Frequência dos gêneros de fungos das camas antes do uso (LIMPA) e após quinze dias de uso (SUJA) no grupo de equinos em baias com cama de maravalha autoclavada (MA). *Gêneros seguidos por asterisco diferirem entre cama LIMPA e SUJA (p≤ 0,05).

Na figura 19 observa-se as porcentagens dos gêneros de fungos encontrados na cama SE, na qual há presença de *Curvularia, Helminthosporium, Nigrospora, Penicilium, Rhizopus* e *Rhizoctonia* em maiores proporções na cama LIMPA comparada a SUJA.

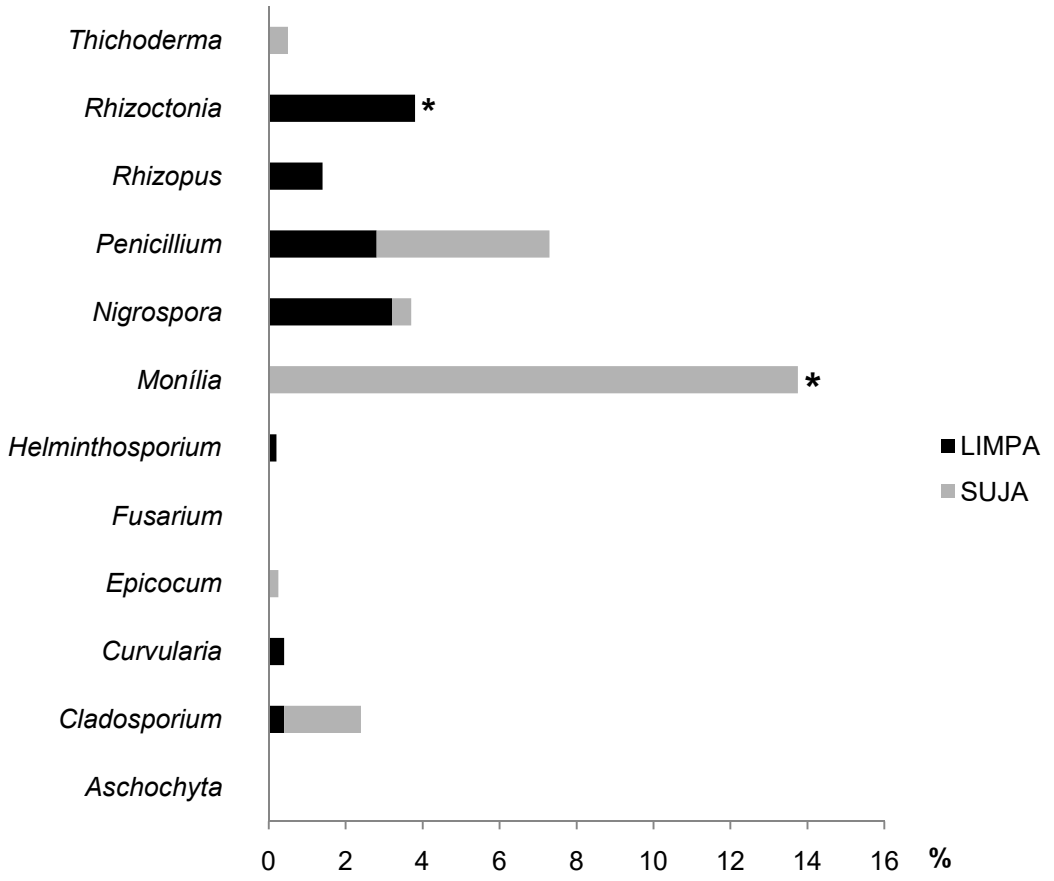

Figura 19. Frequência dos gêneros de fungos das camas antes do uso (LIMPA) e após quinze dias de uso (SUJA) no grupo de equinos em baias com cama de serragem (SE). *Gêneros seguidos por asterisco difererem entre cama LIMPA e SUJA (p≤ 0,05).

Nas 26 amostras de diferentes fardos de feno de Tifton pré secado escolhidas ao acaso, destacou-se a presença de *Cladosporium,* observando frequência de 27,85 ± 19,36%, seguido da *Nigrospora* com 11,0 ± 6,41%, *Curvularia* com 7,46 ± 7,65%, *Botodiplodia* com 6,73 ± 16,3%*, Rhizopus* com 6,04 ± 7,81*,* sendo os demais gêneros com frequência menor ou igual a 5% (Figura 20).

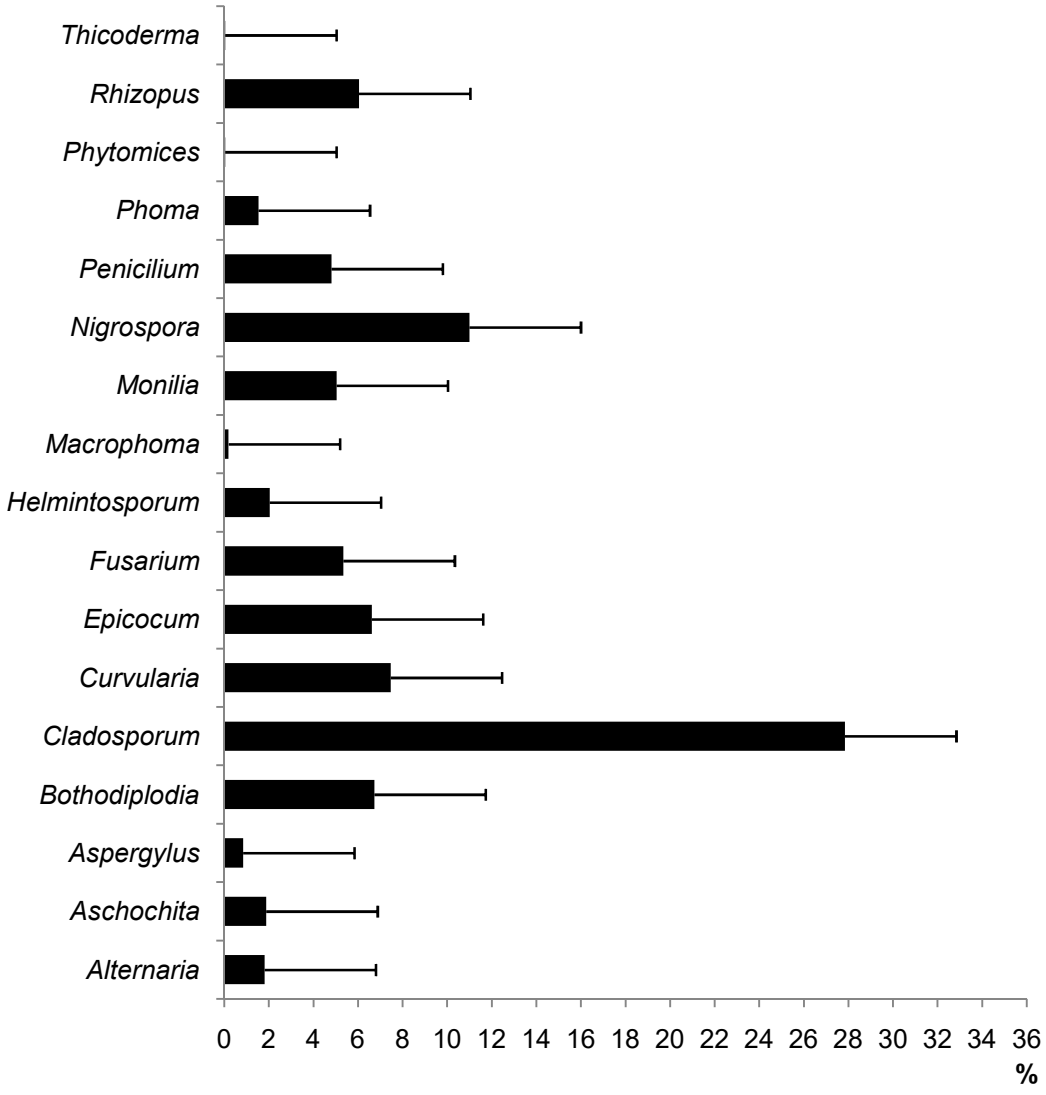

Figura 19. Média ± erro padrão da média da porcentagem de gêneros fúngicos observados em 26 amostras, escolhidas ao acaso, de feno de Tifton pré secado utilizado na alimentação dos equinos durante todo o período experimental.

Fotomicrografias de algumas espécies dos gêneros fungicos encontrados nas 26 amostras de feno de Tifton pré secado são documentadas na Figura 20.

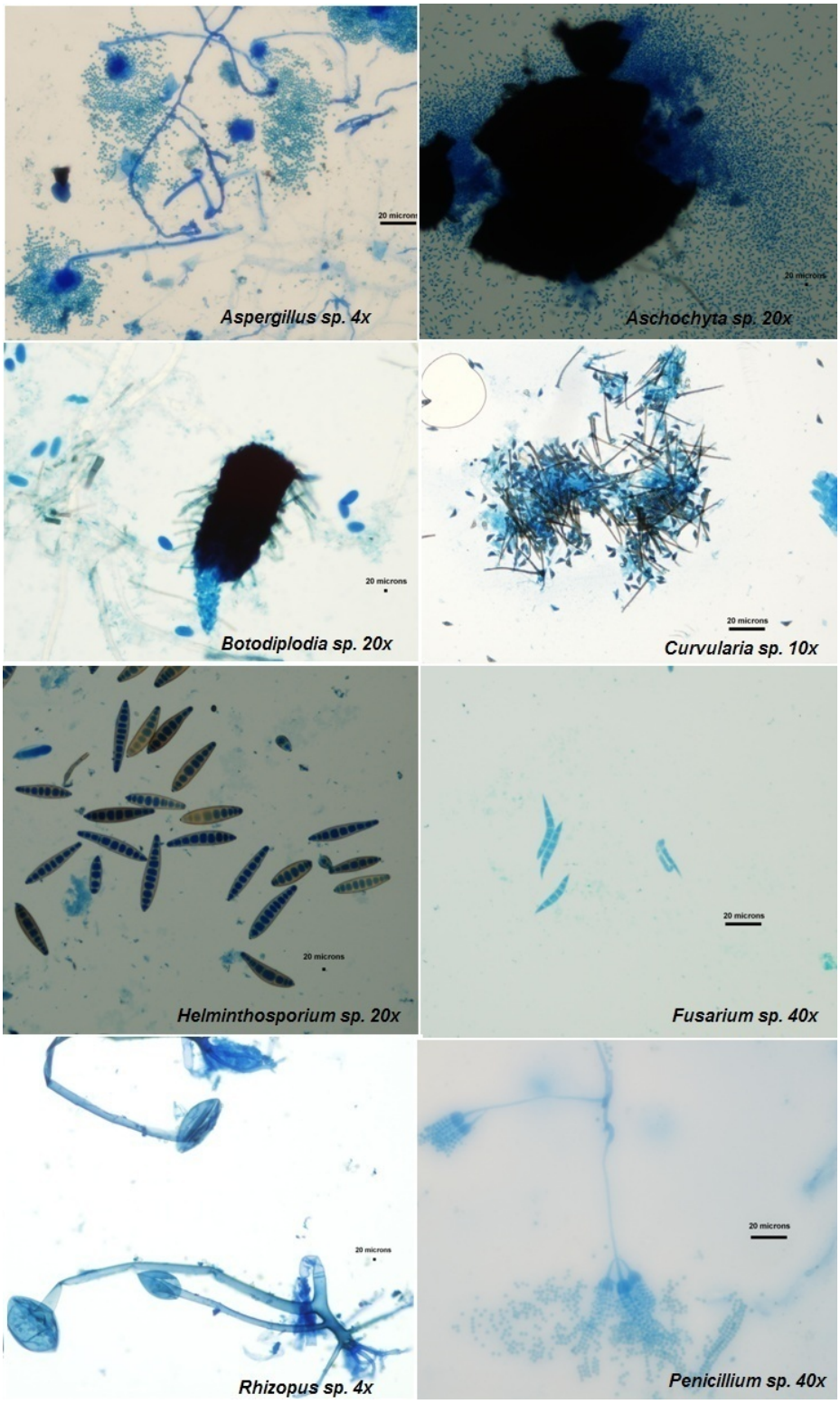

Figura 20. Fotomicrografias das espécies dos gêneros fúngicos encontrados em 26 amostras de feno de capim Tifton pré secado escolhidas ao acaso utilizado na alimentação dos equinos durante todo o período experimental, identificação e aumento microscópico utilizado estão descritos nas imagens.

Durante a troca e higienização das camas foi observado visualmente a capacidade de dispersão de partículas no ar. O grupo MA apresentou leve dispersão quando comparado e o grupo SE que foi de moderado a alta. O grau de dispersão foi influenciado pela diferença de materiais que compunham as camas, uma vez que durante a limpeza diária a cama do grupo MA suja com urina e fezes era facilmente identificada e removida. Já a cama do grupo SE compactava-se facilmente com o pisoteio dos animais, sendo necessário movimentar todo o conteúdo da baia para retirada das fezes e urina. Essa cama também carecia de maior número de reposições semanais.

A cama do grupo SE apresentou maior porcentagem de partículas com dimensões inferiores a um milímetro (1000 µm) após o peneiramento e pesagem (Tabela 32). Na análise microscópica das partículas finas das camas MA e SE observam-se maior porcentagem de partículas por campo com tamanho aproximado de 100 mícrons (igual a 0,1 mm) na cama SE do que na MA (Figura 21).

Tabela 15. Avaliação qualiquantitativa da porcentagem de partículas inferiores a 1000 µm presentes nas camas.

TIPO DE CAMA	GRUPOS	
	MA	SE
% PARTICULAS GROSSEIRAS	84,71	81,72
% PARTICULAS FINAS (< 1000 µm)	15,29	18,28

MA: cama de maravalha autoclavada, SE: serragem comum. MA: cama de maravalha autoclavada, SE: serragem comum. LIMPA: cama antes de ser colocada nas baias para uso, SUJA: cama após 15 dias de uso na baia.

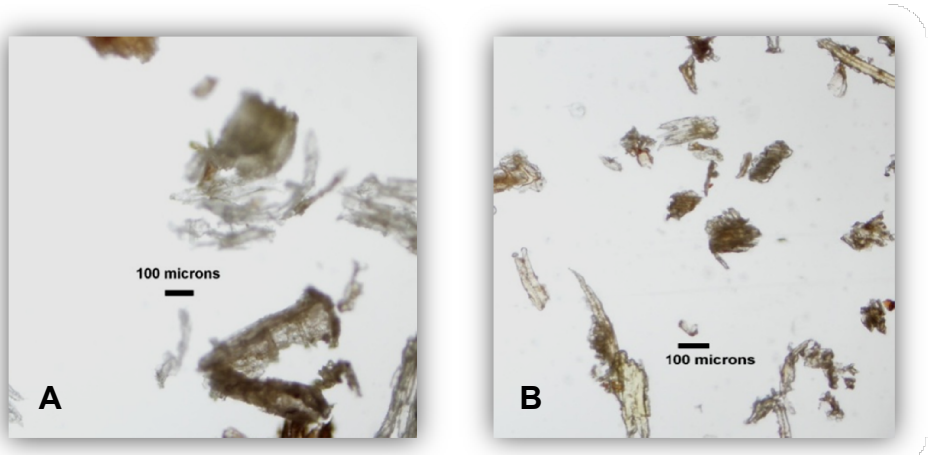

Figura 21. Fotomicrografias das partículas finas das camas de maravalha autoclavada (A) e serragem (B).

6. DISCUSSÃO

O presente estudo foi pioneiro na avaliação micológica de dois tipos de materiais de natureza orgânica (madeira) utilizado para forração de cocheiras de equinos, assim como os seus efeitos sobre o trato respiratório destes animais. A importância desse estudo basea-se em diversos trabalhos que incriminam alguns fungos como desencadeadores de respostas alérgicas e inflamatória das vias aéreas (AINSWORTH; BILLER, 2000, MAIR; DERKSEN, 2000, ROBINSON et al., 2003). A maioria dos estudos relacionados com a estabulação de equinos avaliaram a população micológica encontrada no ambiente das baias (partículas no ar) utilizando forração de palha (TANNER et al., 1998, WOODS et al., 1993), maravalha, (SAASTAMOINEN; SÄRKIJÄRVI; HYYPPÄ, 2015, TANNER et al., 1998, WOODS et al., 1993), serragem (TANNER et al., 1998), aparas de papel (TANNER et al., 1998) e turfa (SAASTAMOINEN; SÄRKIJÄRVI; HYYPPÄ, 2015) deixando questionamentos da principal fonte desses agentes uma vez que a alimentação, condições de higiene da cocheira entre outros fatores podem ser também fonte desses microoganismos (ROBINSON et al., 2006, CLEMENTS; PIRIE, 2007, BERNDT et al., 2008).

A presença de fungos no volumoso oferecido aos animais também foi avaliada neste trabalho, assim como teve sua importância despertada por outros pesquisadores que estudaram a influência da inalação de agentes presentes no feno como predisponentes a enfermidades respiratórias (McDONALD; HENDERSON; HERON, 1991, MAHANNA, 1994, SCHMALLERNBACH et al., 1998, CLEMENTS; PIRIE, 2007).

Neste trabalho, tentou-se manter condições ideais para estabulações de equinos com cocheiras amplas, bem ventiladas, higienizadas diariamente, longe de picadeiros e seleiro de feno e ração. A maioria dos estudos relacionados a estabulação e tipos de camas com desordens do trato respiratório comparam materiais de natureza diferente como palha (palha de trigo, palha peletizada), turfa, aparas de madeiras (WOODS et al., 1993, FLEMING; HESSEL; VAN DEN WEGHE, 2008). Outro aspecto do estudo realizado, foi a comparação do efeito da estabulação com dois tipos de forração com equinos mantidos à pasto assim como foi realizado por Michelotto (2010). Ou seja, o estudo em pauta focado na importância do efeito do tipo de forração utilizados nas baias e do feno no processo

fisiopatológico das enfermidades das vias aéreas tem despertado interesse de vários autores (WOODS, et al., 1993, FLEMING; HESSEL; VAN DEN WEGHE, 2008).

Não foi observado diferença significativas entre as populações fungicas encontradas nas camas dos grupos MA e SE. Saastamoinen, Särkijärvi e Hyyppä (2015) compararam dois tipos de cama, a de maravalha comercial (similar a usada nesse estudo) e turfa (material comumente utilizado para camas de equinos na região da Finlândia), com manejo alimentar semelhante ao utilizado nesse trabalho. Eles também não observaram diferença na porcentagem de partículas patológicas passíveis de inalação, como fungos e endotoxinas, entre os dois tipos de cama concluindo que a diferença permanecia na facilidade de higienização, durabilidade de cada cama e capacidade absortiva que estaria intrinsecamente relacionada a concentração de amônia no ambiente.

Foi encontrado porcentagens relativamente baixas de gêneros fúngicos em ambas as camas. Woods et al. (1993) identificou maior população de agentes alergênicos (*Aspergillus fumigatus*) em sistemas convencionais de estabulação com camas de palha ao comparar com camas de maravalha. Sugerindo que camas a base de madeiras têm menor propensão ao desenvolvimento micológico. A avaliação micológica da cama MA apresentou queda na porcentagem do gênero *Cladosporium* após o uso: 5,6 % na cama LIMPA para 0,4% da cama SUJA. Alfonzo et al. (2001) observaram que o armazenamento do feno de capim Tifton 85 levou ao decréscimo da população de *Cladosporium*. Fatos estes explicados por Nascimento (2000) o qual observou que a alfafa durante o armazenamento sofria alterações físico-químicas inibindo o crescimento de fungos saprófita como *Cladosporium*. Ou seja, a cama MA pode ter sofrido contaminação com esse fungo durante o transporte e armazenamento e a contaminação com urina e fezes inibiu seu desenvolvimento.

A grande diversificação de populações fúngicas encontradas no feno provavelmente está relacionada ao seu processamento realizado à campo. Segundo Gregory et al. (1963) durante a secagem o capim fica em contato com populações de microrganismos provenientes do solo, ar e até mesmo microflora da planta. As condições de armazenamento e as alterações decorrentes podem favorecer ou inibir o crescimento desses microorganismos. Clark, Madelin e Allpress (1988)

complementam afirmando que o armazenamento também influencia aumentando a porcentagem de partículas inaláveis.

Espécies dos gêneros *Fusarium e Penicilium,* as quais foram encontradas na análise do feno utilizado nesse trabalho, são produtoras de toxinas e incriminadas por várias afecções em animais, inclusive as do trato respiratório (McDONALD, HENDERSON; HERON, 1991, MAHANNA, 1994). Silva et al. (2010) também identificaram essas espécies em suas análises, considerando o feno de boa qualidade apesar o índice de prevalência do gênero *Fusarium* ser maior (8,32%) do que o observado neste trabalho (6%). Apesar de não ter sido avaliado a presença das toxinas e sim dos gêneros e seus esporos sobre o feno, descreve-se que para a produção de toxinas do *Fusarium,* por exemplo, é necessário temperaturas amenas (7 a 24°C) (MUCK, SHINNES, 2001). Levando as condições climáticas da região (Jaboticabal/SP) onde se realizou a pesquisa e o feno utilizado (pré-secado), o qual possui alto teor de umidade, acredita-se que a produção de toxinas pelo *Fusarium* pode não ter alcançado concentrações significativas para desencadear irritação as vias aéreas. Em contrapartida são os esporos de *Aspergillus,* presente no feno oferecido aos animais, incriminados por desencadear respostas respiratórias alérgicas (ROBERTS, 1995) e não as toxinas, podendo sua presença estar relacionado a sinais clínicos observados em alguns animais desse trabalho.

Outro ponto importante quanto a qualidade das camas é a porcentagem de partículas passíveis de inalação. A cama SE apresentou maior porcentagem de partículas com tamanho inferior a 1000 µm após o peneiramento e 100 µm por campo na avaliação microscópica quando comparado ao MA. Estudos identificaram que o ambiente da baia pode apresentar esporos e partículas de pó pequeno o bastante (<100 nm de diâmetro) para ser aspirados alcançando os bronquíolos onde se depositam e iniciam a reação inflamatória por efeitos irritantes primários (AINSWORTH; BILLER, 2000, MAIR, ROBINSON et al., 2003, CLEMENTS; CLEMENTS; PIRIE, , 2007, VAN DEN WEGHE, 2008). Sendo assim acredita-se que as características da cama SE podem ter propiciado aspiração de maior porcentagem de partículas e por consequência o desencadeamento de sinais clínicos mais severos (escore 2) decorrentes da reação inflamatória.

O pavilhão de cocheiras utilizado para acomodação dos animais deste experimento apresentava pé direito alto, janelas em ambos os lados das cocheiras fornecendo a circulação de ar e ventilação adequada. Clark, Madelin e Allpress (1988) compararam a influência da ventilação em cocheiras utilizando cama de maravalha e concluíram que o ambiente mal ventilado favorece o crescimento fúngico na cama, maior concentração de esporos inaláveis e consequentemente morbidade das vias aéreas. Esses achados condizem com os resultados da análise das camas, onde a população fúngica apresentou baixas proporções. Apesar da capacidade da diferença de dispersão de partículas de cada cama utilizada, o ambiente bem ventilado provavelmente influenciou nos achados de sinais clínicos e laboratoriais diminutos em comparação a outros autores que utilizaram modelos experimentais semelhantes (LÉGUILLETTE, 2003, ROBINSON et al.,2003, COUËTIL et al., 2007, MICHELOTTO, 2010).

O período experimental foi caracterizado por diminuição da temperatura ambiental média do início para o fim da avaliação além da primeira e segunda quinzena com umidade relativa menor que os demais momentos. Em 20% dos animais do grupo PASTO observou-se a presença de sinais clínicos (E1) de afecções respiratórias durante o período avaliado. Segundo Almeida et al. (2015) isto pode estar relacionado as condições climáticas e também aos agentes alergênicos presentes na alimentação. Robinson et al. (2006) atentam para as condições climáticas e estação do ano na qual são realizadas as analises, uma vez que os animais expostos a temperaturas amenas e/ou baixa umidade podem estar mais propensos ao desenvolvimento de afecções respiratórias. Michelotto (2013) realizou estudos em diferentes estações do ano, obtendo maior porcentagem de animais com sintomas ou achados laboratoriais condizentes as inflamações das vias aéreas durante o inverno. Apesar das diferenças continentais, no Paraná/Brasil e Robinson et al. (2006) em Michigan/ Estados Unidos, ambos pesquisadores obtiveram diferenças clínicas e laboratoriais relacionadas as estações do ano. Sendo assim especula-se que o clima, durante o período avaliado (compreendendo o outono), pode ter influenciado os achados clínicos e citológicos do LBA no grupo PASTO, uma vez que estes animais estariam mais expostos as intempéries do tempo.

O exame clínico anterior ao período experimental, ausência de sintomas respiratórios, além do histórico conhecido dos equinos utilizados neste trabalho favoreceu a exclusão de doenças respiratórias prévias, apesar de achados laboratoriais (LBA) de alguns animais no D0 fossem condizentes com inflamação das vias aéreas. Mayhew (2000), Roy, Lavoie (2003), Gonçalves (2004), Viel (2009), McGorum e Dixon (2007) e Feitosa (2008) frisam a importância do exame físico detalhado associado ao histórico dos animais para localizar a origem e a localização das afecções. Os equinos utilizados nesse trabalho apresentavam idade média entre 14 a 15 anos, o que pode ter colaborado com os resultados obtidos, uma vez que, segundo Chapman et al. (2000), os animais mais velhos tem menor prevalência de algumas doenças respiratórias como a DIVA devido a imunidade adquirida. Reações inflamatórias como a DIVA são descritas inicialmente em equinos jovens, relacionado ao inicio do treinamento associado a primeiro contato com a estabulação, sendo sua incidência diminuindo com o amadurecimento, sugerindo a aquisição de imunidade contra os principais agentes associados a afecção (WOOD; NEWTON; CHANTER; MUNFORD, 2005, CHAPMAN et al., 2000;). Em contrapartida Allen e Franklin (2007) afirmam que animais que não são utilizados para esporte a doença pode ser diagnosticada mais tardiamente. Apesar desse estudo não ter havido teste referente ao desempenho desportivo e levando em consideração o histórico (contato com estabulação e atividade atlética anterior além de ausência de sinais clínicos), achados excludentes dessa afecção era esperado.

A sanidade do sistema respiratório dos equinos foram avaliados primeiramente a partir do exame físico, sinais clínicos sendo ambos classificados em escores. Obteve-se a presença de sinais como tosse seca, não produtiva além de espirros, em maior ou menor intensidade, sinais esses que se encaixam na caracterização de Smith (2006), sendo tais sinais relacionados principalmente as vias aéreas superiores.

O exame de escolha para análise das vias aéreas neste trabalho foi o LBA ao invés do aspirado transtraqueal uma vez que o LBA é uma técnica segura, simples e economicamente viável, podendo ser realizada a campo sem a presença de equipamentos sofisticados (RICHARD et al., 1998). É descrita como a maneira mais

sensível de se monitorar objetivamente as vias aéreas inferiores no intuito de avaliar a resposta terapêutica em cavalos enfermos ou ainda investigar as causas de queda de desempenho, uma vez que este exame fornece uma correta dimensão da população citológica nas vias aéreas inferiores e espaços alveolares (HEWSON; VIEL, 2003; MAZZAN; HOFFMAN, 2003). O aspirado transtraqueal permite coletar amostras de secreções respiratórias presentes nas grandes vias aéreas, traquéia e brônquios, enquanto a LBA trás informações das vias respiratórias mais distais bem como da região submetida à lavagem, podendo a porção analisada não ser a afetada em casos de infecções que acometem porções específicas dos pulmões (Taylor et al., 2010). Como este trabalho tem foco em estudar afecções de caráter alérgico e devido a experiência, treinamento e a existência de material adequado para realização do LBA, preteriu-se tal técnica.

Utilizou-se o volume de 180 mL no qual os valores médios de NS obtidos da análise citológica em D0 variaram de 12,8 a 21% sendo maior que o obtido pelos autores que utilizaram 250 mL (ROBINSON, 2001, HEWSON; VIEL, 2002, HODGSON; HODGSON, 2007). Concordando com o achado de Sweeney et al. (1992), porém, diferente dos resultados de Fogarty e Buckley (1991), McKane et al. (1993) e Clark, Madelin e Allpress (1995) que usaram volumes menores ou igual a 200 mL. Esse achado condiz com a afirmação de Lessa et al. (2011), não sendo adequado utilizar como referência os valores de LBA adquiridos com volumes infundidos diferentes. Hoffman et al. (2003) e Viel e Hewson (2003) consideram contagens percentuais inferiores a 5% para equinos sadios o que não foi observado no D0 desse trabalho. Tais diferenças podem corroborar com as afirmações quanto aos volumes diferentes de infusão entre os trabalhos comparados, sendo que o valor de neutrófilos pode estar superestimado quando se compara a trabalhos que usaram volumes maiores. Entretanto os valores entre os grupos foram uniformes, sendo factível a comparação e determinar conclusões quanto ao fator alergênico das camas comparados ao pasto.

Neste trabalho foi utilizado a citocentrifugação para produção de lâminas na análise celular diferencial na qual aparentemente não houve influência sobre os valores de linfócitos, uma vez que apresentaram contagens percentuais significativa. Apesar de não ter sido realizado comparação com esfregaço comum, achados estes

contradizem resultados observados por Pickles, et al. (2002) onde a citocentrifugação levou ao aumento do percentual de macrófagos e diminuição de linfócitos quando comparado ao esfregaço comum. Hodgson e Hodgson, (2007) descrevem que tanto o esfregaço comum como citocentrifugação são adequadas para avaliação citológica, sendo o procedimento utilizado nesse trabalho funcional e passível de reprodução.

Foi observado que no grupo PASTO a contagem de CNT não apresentou diferença significativa, porém foi maior do que os grupos estabulados independente do momento discordando das afirmações de BURRELL et al. (1996), HOLCOMBE et al. (2001), HODGSON e HODGSON (2007), CLEMENTS e PIRIE (2007) e BERNDT et al. (2008) os quais associam a estabulação a maior porcentagem de células inflamatórias no LBA quando comparados a animais mantidos a pasto devido a maior concentração de partículas passíveis de inalação nas baias. Quando se compara apenas os grupos estabulados MA e SE, o segundo grupo, com exceção do momento D45, apresentou CNT maiores que o MA, sugerindo que o ambiente das baias forrada com serragem apresentaram maior propensão no desencadeamento de respostas alérgicas das vias aéreas.

Os linfócitos foi tipo celular predominante (66,35 ± 2,6%) encontrado no LBA de todos os cavalos independentemente do momento ou grupo, contradizendo os achados de Hoffman (1999), Hoffman et al. (2003) e Viel e Hewson (2003) os quais observaram, em cavalos sadios, a predominância de macrófagos, compreendendo de 60 a 70% da CNT, já a porcentagem de linfócitos entre 30 a 35.

A porcentagem de neutrófilos apresentou maiores valores nos primeiros momentos, sendo observado decréscimo com o passar dos dias. Apenas o grupo MA apresentou aumento significativo dos demais grupos deste tipo celular no momento D30, fato este relacionado a dois animais (40% do grupo) que apresentaram porcentagem de NS superior a 50%. Destes dois animais o que apresentou maior porcentagem (54%) apresentou escore clínico 1 no D30. Alguns autores relatam que o ambiente das cocheiras leve ao aumento da porcentagem de neutrófilos no LBA, tanto em equinos normais quanto naqueles susceptíveis ou com histórico de doença das vias aéreas, sendo o que diferencia os dois grupos é a intensidade da resposta inflamatória (TREMBLAY, 1993, LECLERE, 2011). Fato

este que não foi observado no grupo SE e no MA, (com exceção do momento D30) e ainda o grupo PASTO apresentou em alguns momentos como o D15 e o D45, valores maiores de neutrófilos que os animais embaiados.

O período de observação de 45 dias foi o suficiente para desencadear alterações significativas na concentração de neutrófilos no LBA, porém diferentemente do esperado e descrito por autores como Malikides (2003) e Debrue et al. (2005). Malikides (2003) observou inflamação das vias aéreas em equinos após duas semanas de serem colocados em baias. Debrue et al. (2005) observou aumento da porcentagem de NS no LBA de equinos saudáveis com idade entre 8 a 16 anos, após 35 dias de estabulação, porém este ultimo utilizou como forração a cama de palha.

Provavelmente tipo de forração a base de madeiras não tenha representado um desafio alergênico suficiente às vias aéreas. O aumento de NS após a estabulação pelos autores supracitados podem estar associado ao tipo de cama utilizado (a base de palhas). Michelotto (2010) complementa a partir de observação por 30 dias de equinos em camas de serragem *versus* piquete, que camas a base de palha apresentam maior propensão em desencadear reações alérgicas e/ou inflamatórias das vias aéreas que a madeira. Do ponto de vista clínico, a diferença na porcentagem de neutrófilos encontrada do D0 com o D45 nos grupos embaiados, onde no D45 são menores, pode ser ponderar que o ambiente das baias representou menor teor alergênico do que as condições as quais se encontravam antes do período experimental.

Foi observado neste trabalho que na maioria dos grupos houve aumento das médias de FA do D0 para D30, e apesar de flutuações entre os valores numéricos, os valores de FA ao final da avaliação experimental (D45) foram maiores do que o basal. Diferentemente do esperado o grupo que apresentou maiores médias foi o MA no D30 seguido pelo grupo PASTO no mesmo momento, sendo que o SE foi o que apresentou menores médias e alterações de FA. Malakides et al. (2003) demonstrou que a FA também tem produção importante pelos neutrófilos no trato respiratório, podendo os valores de FA no D30 no grupo MA estar associados ao aumento significativo da porcentagem de NS nesse mesmo momento. Cobben et al. (1999) estudou a atividade da FA no LBA de pacientes humanos no qual

correlacionou o aumento da enzima a processos patológicos pulmonares associado a lesão ou estímulo de pneumócitos do tipo II. Já Henderson et al. (1995) não observaram aumento significativos de FA relacionados a exposição crônica à partículas de baixa toxicidade em ratos. Em um estudo comparativo de cães com broncopneumonia e traqueobronquite, foi observado que a primeira afecção levou ao aumento da atividade de FA diferentemente do segundo, indicando a necessidade de dano epitelial significativo para tal aumento (MADEN et al., 2001). A falta de diferença significativa das médias de FA entre os grupos e os momentos neste trabalho pode estar relacionado ao fato de que as camas não terem representado fator de irritação suficiente as vias aéreas inferiores para causar alterações na funcionalidade dos pneumócitos do tipo II. E ao ser relacionado aos achados de NS no LBA, pode-se ainda dizer que o ambiente x alimentação favoreceu a sanidade das vias aéreas.

Foi observado o LBA com coloração rosada em pequena porcentagem dos animais sendo identificada na avaliação citológica a presença de eritrócitos. Segundo Hodgson, Hodgson (2007) é comum a presença de pequeno número de eritrócitos no LBA sendo atribuído a hemorragia iatrogênica de menor gravidade durante a colheita. Como não havia histórico de exercício recente (para desencadeamento de hemorragia pulmonar induzida pelo exercício – HPIE) ou lesão importante que correspondesse a tal sangramento, esse achado condiz com a afirmação dos autores.

A concentração de fibrinogênio sérico, apesar de não apresentar diferença estatística, demonstrou nítida diferença numérica das médias avaliadas, chegaram a triplicar do basal para o D45 em todos os grupos. Essa observação condiz com o que Costa (2012) relata, sendo associada a reação inflamatória moderada em resposta ao processo alérgico que pode ter se instalado nas vias aéreas superiores de alguns animais. Foi observado ainda exames hematológicos sem alterações significativas e dentro dos padrões de normalidade concordando com Costa (2012) e Anon (2003) os quais afiram que aecções de caráter alérgico do sistema respiratório normalmente apresentam exames hematológicos normais.

A análise dos gases sanguíneos realizada neste estudo é um dos métodos indicados para avaliação da função pulmonar (WIEDMEYER, 2012). Os valores

hemogasometricos observados nos equinos nesse trabalho permaneceram dentro dos valores de normalidade para a espécie, não havendo indícios de comprometimento da função respiratória. Considera-se hipoxemia valores de PO_2 inferiores a 80 mmHg e hipercapnia valores de PCO_2 superiores a 45 mmHg para a espécie equina (TAYLOR et al., 2010), valores estes não encontrados em nossos animais, demonstrando que não houve comprometimento da função respiratória, sendo os achados clínicos provavelmente limitados a vias aéreas superiores. Entretando a comparação entre os grupos evidenciou valores de PCO_2 menores no D45 no grupo MA em relação aos demais grupos assim como, apesar de não haver diferença estatítica, houve diminuição dos valores desse parâmetro com o decorrer dos momentos. Complementando esse achando obteve-se valores de PO_2 inversamente proporcionais, sugerindo que o ambiente das baias do grupo MA propiciou menor capacidade irritativa das vias aéreas quando comparado aos demais grupos. Foi observado que os animais do grupo PASTO apresentam em todo período experimental médias de pH superiores aos demais grupos, sendo significativo no D15. Tal fato deve-se a movimentação dos equinos desse grupo no piquete durante a captura e contenção ao levados até o local de coleta das amostras. Frisa-se que antes de ser realizado o exame físico desse grupo, estes ficaram em repouso em baias abertas sem cama por pelo menos 15 minutos. Este achado condiz com Silva et al. (2009) o qual relaciona alterações nas concentrações dos gases sanguíneos e equilíbrio acido-base ao exercício.

Especula-se que as variações genéticas e a susceptibilidade individual responderiam a vários questionamentos do porque apenas alguns indivíduos apresentarem respostas alérgicas exacerbadas e outros não em um mesmo tipo de manejo (EWART; ROBINSON, 2007). Um fator genético foi observado em algumas famílias de equinos quanto à inflamação das vias aéreas. Observando-se a prevalência de ORVA em até 48% de potros vindo de ambos pais afetados e caindo para 17% quando apenas um tinha a doença (MARTI, 1991). Um fator importante quanto a esses processos alérgicos ou até mesmo uma rinite, é que a expressão gênica só ocorre na presença de antígeno ou alérgeno pré-determinado (JOST et al., 2007). Pacholewska et al. (2015) complementam tal achado obtendo resultados significativos quanto a expressão gênica de células monoclonais do sangue

periférido de equinos doentes comparado a saudáveis. Explicando assim porque alguns equinos à pasto, que não tem histórico de doença respiratória, começam a apresentar sintomas ao serem embaiados.

Com idade dos animais utilizados, o ambiente (baias com camas de diferentes tipos) e o isolamento de algumas espécies fúngicas como o *Aspergillus sp.*, esperava-se alterações condizentes com inflamação no trato respiratório inferior (aumento significativo da contagem de neutrófilos no LBA e queda de PO_2 nos grupos estabulados) como relatados por Schmallenbach et al. (1998), Léguillette (2003), Robinson et al. (2003), Couëtil et al. (2007) e Michelotto (2010), o que não foi observado nesse trabalho.

7. CONCLUSÃO

Os diferentes tipos de cama testados não apresentam diferença na capacidade de desencadear resposta inflamatória das vias aéreas inferiores dos equinos, além de apresentar diminuta porcentagem de populações fungicas. A cama de maravalha influenciou positivamente nas trocas gasosas (oxigênio e dióxido de carbono), além de favorecer a higienização diária sendo mais rápida, efetiva e dispersar menor porcentagem de partículas inaláveis. O uso do pavilhão de cocheiras apropriadas, com ventilação, higienização e manejo correto dos animais favoreceram ao surgimento de sinais alérgicos do sistema respiratório sutis, trazendo informações de manejo ideais ao setor equestre. Sendo assim espera-se que esse trabalho estimule novos estudos quanto a predisposição dos animais a processos alérgicos relacionados à forração das baias, principalmente com materiais à base de madeiras. Podendo ser realizado trabalhos por maior período de exposição, ou ainda com animais mais jovens (nunca estabulados) utilizando as mesmas condições e período de tempo.

8. REFERÊNCIAS

AGUILERA-TEJERO, E., ESTEPA, J.C., LÓPEZ, I., BAS, S., MAYER-VALOR, R., RODRÍGUEZ, M., Quantitative Analysis of Acid-Base Balance in Show Jumpers Before and After Exercise. **Research in Veterinary Science**, London, v. 68, n. 2, p. 103-108, 2000.

AINSWORTH, D.M., CHEETHAM, J., Disorders of the respiratory system: diagnostic approach to respiratory disorders. In: S.M. Reed, W.M. Bayly, D.C. Sellon, **Equine Internal Medicine**. 2 ed. St. Louis, Missouri: Elsevier Saunders. 2010. p. 289-341.

ALFONZO, E. P. M. , SILVA, F. B., MEINERZ, C. C., DILDEY, O. D. F., CASTAGNARA, D. D., NERES. M. A., TAFFAREL, L. E., RADIS, A. C. Ocorrência de fungos em fenos de capim tifton 85 solteiro ou associado a leguminosas anuais de inverno. CONGRESSO BRASILEIRO DE ZOOTECNIAUniversidade Federal de Alagoas, 21, 2001. **Anais Eletrônicos...** Disponível em < http://cacphp.unioeste.br/projetos/cmetloeste/pub_tecnicas/02_12_2011_Ocorrencia_de_fungos_em_fenos_de_capim_tifton_85_solteiro_ou_associado_a_leguminosas_anuais_de_inverno.PDF> Acesso em 6 de jan de 2016.

ALLEN, K., FRANKLIN, S. RAO and IAD: respiratory disease in horses revisited. **In Practice**, v. 29, p. 76-82. 2007.

ALMEIDA, S. R. P., ROCHA, D. C. C., LOPES, A. C. A. M., VILLANOVA JR., J. A., MICHELOTTO JR., P. V., The use of tracheal wash and bronchoalveolar lavage in the clinical examination of coughing horses. **Revista Acadêmica Ciência Animal.** v. 13. p. 81-89. 2015.

BERNDT, A.; DERKSEN, F.J.; ROBINSON, N.E. Endotoxin concentrations within the breathing zone of horses are higher in stables than on pasture. **The Veterinary Journal***,* Oct 17, 2008.

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

CAPELLI, A., LUSUARDI, M., CERUTTI, C.G., DONNER, C.F.,Lung Alkaline Phosphatase as a Marker Of Fibrosis in Chronic Interstitial Disorders. **American Journal Respiratory Critical Care Medicine,** v. 155, n. 1, p. 249-253, 1997

CLARK,A. F., MADELIN, T. M., ALLPRESS, R. G., The relationship of air hygiene in stables to lower airway disease during an outbreak of equine Herpesvirus-1 infection. In. POWER, D. G., **Equine Infectiuns Diseases: Proceedings of Fifth International Conference**. 5. Kentucky/USA. p.268-271.1988.

CARLSON, G. P., Fluid Eletrolyte ad Acid-base Balance. In: KANEKO, J. J.; HAENEY, J. W.,; BRUSS, M. L. (Ed.). **Clinical Biochemistry of Domestic Animals**. 5 ed. San Diego: Academic Press, p. 485-516, 1997.

CARVALHO, C. R. R. , SCHETTINO, G. P. P. , Monitorização respiratória básica e avançada. In: FELIX, V. N., CARVALHO, W. B., AULER, Jr. J. O. C. PROENÇA FILHO, J. O. P., **Terapia avançada adulto- pediatria/ RN.** São Paulo: Savier, 1997. p. 45-54.

CHAPMAN, P. S., GREEN, C., MAIN, J. P., TAYLOR, P. M., CUNNINGHAM, F. M., COOK, A. J. C. ANDMARR, C. M. Retrospective study of the relationship between age, inflammation,and the isolation of bacteria from the lower respiratory tract of thoroughbred horses. **Veterinary Record.** v.146, p. 91-95, 2000.

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.

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

CLUTTON, R.E. Blood gas analysis. In B.C. MCGORUM, P.M. DIXON, N.E. ROBINSON & J. SCHUMACHER (Ed.), **Equine Respiratory Medicine and Surgery**. Philadelphia: Elsevier Saunders. 2007. p. 201-209.

COBBEN, N. A., DRENT, M., JACOBS, J. A., SCHMITZ, M. P., MULDER, P. G., HENDERSON, R. F., WOUTERS, E. F., VAN DIEIJEN-VISSER, M. P., Relationship Between Enzymatic Markers of Pulmonary Cell Damage And Cellular Profile: A Study in Bronchoalveolar Lavage Fluid. **Experimental Lung Research.** v.25, p. 99-111. 1999.

CORLEY, K. T. T.; MARR, C M. Pathophysiology, Assessment and Treatment of Acid-Base Distrubances in the Horse. **Equine Veterinary Education**, Newmarket, v. 10, n. 5, p. 255-265, 1998.

COSTA, L.R.R., Summer Pasture-Associated Recurrent Airway Obstruction. In D.A. WILSON. **Clinical veterinary advisor: the horse.** St. Louis, Missouri: Elsevier Saunders. 2012. p. 591-593.

COUËTIL L.L., ROSENTHAL F.S., DENICOLA D.B., CHILCOAT C.D. Clinical Signs, Evaluation of Brochoalveolar Lavage Fluid, and Assessment of Pulmonary Function. In: Horses With Inflammatory Respiratory Disease. **American Journal Veterinar Research.** v. 62. p. 538-546. 2001.

COUËTIL, L.L., DENICOLA, D.B., Blood Gas, Plasma Lactate and Bronchoalveolar Lavage Cytology Analyses in Racehorses With Respiratory Disease. **Equine Veterinary Journal.** v. 30. p. 77–82. 1999.

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

DAVIS, E.C., Respiratory infections. In: Sellon, D.C. (Ed.) **Long, Equine Infectious Diseases**. St. Louis, Missouri: Saunders Elsevier, 2007. p. 1-13.

DAY, T. K. Blood gas analisyis. **The Veterinary Clinics of North America Small Animal Practice**, Philadelphia, v.32 , p. 1031-1048. 2002.

DEBRUE, M., HAMILTON, E., JOUBERT, P., LAJOIE-KADOCH, S., LAVOIE, J. P. Chronic exacerbation of equine heavesis associated with an increased expression of interleukin-17 mRNA in bronchoalveolar lavage cells. **Veterinary Immunology and Immunopathology**. v. 105. p. 25–31. 2005.

DERKSEN, F. J., SCOTT, J. S., MILLER, D. C., SLOCOMBE, R. F., ROBINSON, N.E., Bronchoalveolar Lavage in Ponies with Recurrent Airway Obstruction (Heaves). **American. Review. Respiratory. Disease.** v. 132,p. 1066-1070, 1985.

DERKSEN, F.J.; WOODS, P.S.A. Chronic Lung Disease in The Horse: Role of aeroallergens and Irritants and Methods ff Evaluation. **Veterinary Clinics of North America: Equine Practice**. v.16, n.5, p.11- 13, 1994.

DUKES, H.H. **Fisiologia dos animais domésticos**. ed. 11. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1996.

EWART, S. L., ROBINSON, N. E., Genes and respiratory disease: A First Step on a Long Journey. **Equine Veterinary Journal**. v. 39. n. 3. p. 270-274, 2007.

FEITOSA, F.L.F. Exame físico geral ou de rotina. In: F.L.F. FEITOSA, **Semiologia Veterinária, a Arte do Diagnóstico**. São Paulo: Editora Roca. 2008. p. 77-102.

FERNANDEZ, N. J., KIDNEY, B. A. Alkaline Phosphatase: Beyond The Liver. **Veterinary Clinical Pathology**, v.36, n.3, p. 223-233, 2007.

FLEMING, K., HESSEL, E. F., VAN DEN WEGHE, H. F. A., A comparasion of total, respirable, and real time airbone particulate sampling in horse barns. **Journal of Occupational Environmental Medicine.** v. 28. p. 408-412. 2008

FOGARTY, U.; BUCKLEY, T. Bronchoalveolar lavage findings in horses with exercise intolerance. **Equine Veterinary Journal**, v. 23, n. 6, p. 434-437, 1991

FOGARTY, U.; LEADON, D.P. Poor Desempenho Syndrome: A Review Of The Literature and Some Data on the Haematological and blood chemical Changes in two groups of thoroughbred racehorses performing below expectation. **Irish Veterinay Journal.** v.41. p.203-209. 1987.

GERBER, V. Mucus in equine lower airway disease. In: VIEL, L.; ROBINSON, N.E.; DUCHARME, N.G.; McGORUM, B.C. (Ed.). In: PROCEEDINGS OF THE WORLD EQUINEAIRWAYS SYMPOSIUM. 2, 2001. Scotland: Edinburg, **Anais Eletrônicos**.... Disponível em <http://www.ivis.org/proceedings/weas/2001/Gerber.pdf>. Acesso em 5 de jan 2016.

GONÇALVES, R.C., Semiologia do sistema respiratório. In: F.L.F. FEITOSA (Ed.), **Semiologia Veterinária a Arte do Diagnóstico**. São Paulo: Editora Roca. 2004. p. 314-331.

GREGORY, P.H. Microbial and biochemical changes during the moulding of hay. **Journal of Genetic Microbiology**, v.33, p. 147-174. 1963.

GUTH, A.M., JANSSEN, W.J., BOSIO, C.M., CROUCH, E.C., HENSON, P.M., DOW, S.W., Lung Environment Determines Unique Phenotype of Alveolar Macrophages. **American Journal of Physiology** - Lung Cellular and. Molecular. Physiology. v. 296, n.6, p. 936–946. 2009.

GUYTON, A. C., Tratado de fisiologia médica. In:_____. (Ed.), **Ventilação Pulmonar.** 9. ed. São Paulo:Guanabara Koogan, 1996. Cap. 37. p. 348-358.

HALLIWELL, R. E. W., McGORUM, B. C., IRVING, P., DIXON, P. M., Local and Systemic Antibody Production in Horses Affected With Chronic Obstructive Pulmonary Disease. **Veterinary Immunology and Immunopathology.** v. 38, p. 201-215, 1993.

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

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

HENDERSON, R. F., SCOTT, G. G., WAIDE, J. J., Source of Alkaline Phosphatase Activity in Epithelial Lining Fluid of Normal and Injured F344 Rat Lungs. **.** V.134. p. 170-174. 1995.

HEWSON, J., VIEL, L. Sampling, microbiology and cytology of the respiratory tract. In: LEKEUX, P. Equine Respiratory Diseases. Ithaca: **International Veterinary Information Service**, 2002.. Disponível em < http://www.ivis.org/special_books/Lekeux/viel/chapter_FRm.asp?LA=1>. Acesso 5 de jan de 2016.

HLODVERSSON, R., KASPERSSON, A. Nutrient losses during deterioration of hay in relation to changes in biochemical composition and microbial growth**. Animal Feed Science Technology**, v.15, n.2, p.149-165, 1986.

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

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

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

HOFFMAN, A.; ROBINSON, N.E.; WADE, J.F. Workshop summary. In.:____ **Proceedings of a Workshop on Inflammatory Airway Disease: Defining the Syndrome**, Boston: R & W Publications. 2003. p. 89- 91, 2003.

HOFFMAN, A.M.; MAZAN, M.R.; ELLENBERG, S. Association Between Bronchoalveolar Lavage Cytology Features and Airway Reactivity in Horses with a History off Exercise Intolerance. **American Journal of Veterinary Research**, v. 59, n. 2, p. 176-181, 1998.

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

HOROHOV, D.W., Immunology of the equine lung. In: P. LEKEUX (Ed.), **Equine Respiratory Diseases**. Ithaca, NY: International Veterinary Information Service. Ago 2004. Disponível em: <http://www.mediveteequine.com/wp-content/uploads/2014/12/ACS-Immunology-of-the-Equine-Lung.pdf>. Acesso em 5 de jan. 2016.

HUME, D.A., Macrophages as APC and the dendritic cell myth. **The Journal of Immunology**, v. 181., n. 9. p. 5829–5835. 2008.

HUME, D.A., ROSS, I.L., HIMES, S.R., SASMONO, R.T., WELLS, C.A., RAVASI, T., The mononuclear phagocyte system revisited. **Journal of Leukocyte Biology.** v. 72. n.4. p 621–627. 2002.

ITO, S., HOBO,S., KASASHIMA,Y. I., Bronchoalveolar Lavage Fluids Findings In the Atelectatic Regions of Anesthetized Horses. **Journal Veterinary Medicine Science**, v. 65, n.9, p.1011-1013,2003.

JONES, T. C, HUNT, R. D, KING, N.W, Patologia Veterinária. In:_____. (Ed.), **Sistema Respiratório**. 6. ed. Barueri: Manole, 2000. cap. 20, p.963-990.

JORGE, M. L. L. A., VISCARDI, V., SILVA, K. M., OTAKA, J. N. P., ALENCAR, N. X., TORRES F., R. A., LESSA, D.L A. B., Atividade da fosfatase alcalina no lavado broncoalveolar de equinos de policiamento montado no Estado do Rio de Janeiro. **Ciencia. Rural**, Santa Maria, v. 44, n. 1, p. 92-96, Jan, 2014. Disponível em <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S010384782014000100015&lng=en&n rm=iso>. Acesso em 06 de Jan de 2016.

JOST, U. KLUKOWSKA-RÖTZLER, J., DOLF, G., SWINBURNE, J. E., RAMSEYER, A., BUGNO, M., BURGERD, BLOTT, S., GERBER, V., A region on equine chromosome 13 is linked to recurrentairway obstruction in horses. **Equine Veterinary Journal**. v.3. p. 236-241. Maio, 2007.

JUNQUEIRA, L.C., CARNEIRO, J., Histologia Básica. In:_____. (Ed.) **Aparelho Respiratório.** 10.ed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan. 2004. p. 339-357.

KALINA, M. LEVI D, RIKLIS S. Modulation of alkaline phosphatase activity in alveolar type II like cells. **Histochemistry**, v.95, p.97-103,1990.

KALINA, M., LEVI, D., RIKLIS, S., Modulation of alkaline phosphataseactivity in alveolar type II like cells. **Histochemistry**, v. 95, p. 97-103, 1990 Disponível em: <http://www.springerlink.com/content/r78138073kj077kw/>. Acesso em: 6 de jan de 2016.

KANEKO, J.J. **Clinical biochemistry of domestic animals**. 5.ed. San Diego: Academic, 1989. p.932.

LAPOINT, J. M., VRINS, A., LAVOIE, J.P., Effects of Centrifugation and Specimen Preparations Technique Bronchoalveolar Lavage Analysis in Horse. **Equine Veterinary Journal**, v. 26, n.3, p. 227-229, 1994.

LAPOINTE, J. M., VRINS, A., McCARVILL, E., A survey of exercise-induced pulmonary haemorrhage in Quebec standardbred racehorses. **Equine Veterinary Journal,** v. 26, n. 6, p. 482-485, 1994.

LECLERE, M., LAVOIE-LAMOUREUX, A., GELINAS-LYMBURNER, E., DAVID, F., MARTIN J.G., LAVOIE, J.P., Effect of antigen exposure on airway smooth muscle remodeling in an equine model of chronic asthma. **American Journal Respiratory Cellular Molecular Biology.** v. 45. p. 181-187, 2011.

LÉGUILLETTE, R., Recurrent airway obstruction – heaves. **Veterinary Clinics of North America – equine practice**, v.19, p. 63-86, 2003.

LESSA, D. A. B., JORGE M. L. L. A., VIANA E. B., FERNANDES W. R., Análise Do Líquido Broncoalveolar de Equinos Portadores de Doença Inflamatória das Vias Aéreas. **Brazilian Journal Veterinary Research Animal Science**. v. 48. p. 123-130, 2011.

LUNN, D.P.; BREATHNACH, C.; SOBOLL, G. Immunology and Immunopathology. In: McGORUM, B.C.; DIXON, P.M.; ROBINSON, N.E.; SCHUMACHER, J. **Equine Respiratory Medicine and Surgery.** Philadelphia: Elsevier, 2007, p. 71-81.

MADEN, M., ALTUNOK, V., BIRDANE, F. M., ASLAN, V., NIZAMLIOĞLU, M., Specific Enzyme Activities in Bronchoalveolar Lavage Fluid as an Aid to Diagnosis of Tracheobronchitis and Bronchopneumonia in Dogs. **Research in Veterinary Science**. v. 2. p. 141-145. 2001.

MAHANNA, B., Proper management assures high-quality feeds. **Feedstuffs**, v.10, p.12-56, 1994.

MALIKIDES, N., HUGHES, K.J.; HODGSON, D.R., Comparison of tracheal aspirates and bronchoalveolar lavage in racehorses. 2. ed. Evaluation of the diagnostic significance of neutrophil percentage. **Australian. Veterinary. Journal***,* v. 81, p.685-687, 2003.

MARLIN, D.J., VICENT, T.L. Pulmonary blood flow. In B.C. MCGORUM, P.M. DIXON, N.E. ROBINSON & J. SCHUMACHER (Ed.), **Equine Respiratory Medicine and Surgery**. Philadelphia: Elsevier Saunders. 2007. p. 33-42.

MARTI, E., GERBER, H., ESSICH, G., OULEHLA, J., LAZARY, S., The genetic basis of equineallergic diseases. 1. Chronic hypersensitivity bronchitis. **Equine Veterinary Journal.** v. 23. p. 457-460. 1991.

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

MAYHEW, I.G., Clinical Examination of Horses And Foals. In: O.M. RADOSTITIS, I.G.J. MAYHE, D.M. HOUSTON (Ed.), **Veterinary Clinical Examination and Diagnosis**. London, UK: Elsevier W.B. Saunders. 2000. p. 139-149.

McDONALD, P., HENDERSON, N., HERON, S. The biochemistry of silage. Marlow Bucks. Chalcombe Publications. p. 340. 1991.

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

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

McPHERSON, E.A.; THOMSON, J.R. Chronic obstructive pulmonary disease in the horse. 1: Nature of the disease. **Equine Veterinary Journal,** v. 15, n.3, p. 203-206, 1983.

MICHELOTTO Jr., P.V., LESSA, D. A. B., SILVA, K. M., GAWLOWSKI, K. R. S., FERNANDES, W. R., The airway fluid analysis: methods and interpretation for the athletic horse. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**. v.20, p.1-5, 2013

MICHELOTTO Jr, P. V. Efeitos Do Desafio Ambiental e do Exercício na Funcionalidade dos Macrófagos do Lavado Broncoalveolar de Cavalos Purosangue Inglês de Corrida. 2010, Tese (Doutorado) – Faculdade de Veterinária - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2010.

MOSER, L.E. Post-harvest physiological changes in forage plants. In: MOORE, K.J.; KRAL, D.M.; VINEY, M.K. (Ed.) **Postharvest physiology and preservation of forages**. Madison: American Society of Agronomy Inc., 1995. p.1-19.

MUCK, R.E. SCHINNES, K.J. Conserved forages (silage and hay): Progress and priorities. In. International Grassland Congress. 9. 2001. São Pedro. Piracicaba: **Brazilian Society of Animal Husbandry**. p. 753. 2001.

NASCIMENTO, J. M.; COSTA, C.; SILVEIRA, A. C. Influência do método de fenação e tempo de armazenamento sobre a composição bromatológica e ocorrência de fungos no feno de Alfafa (Medicagosativa, L. cv. Flórida 77). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 29 n. 3, p. 669-677, 2000.

PACHOLEWSKA, A., JAGANNATHAN, V.,DRÖGEMÜLLER, M., KLUKOWSKA-RÖTZLER, J., LANZ, S., HAMZA,E., DERMITZAKIS, E. T., MARTI, E., LEEB, T., GERBER, V., Impaired Cell Cycle Regulation in a Natural Equine Model of Asthma. **PLoS ONE**, v. 10. n. 8. p. 1-23. Ago. 2015. Disponível em http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4546272/pdf/pone.0136103.pdf acesso em 6 de jan de 2016.

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

PILETTE, C., OUADRHIRI Y, GODDING V, VAERMAN JP, SIBILLE Y. Lung mucosal immunity: immunoglobulin. A revisited. **European Respiratory Journal,** v. 18, n.3, p. 571-88, sep 2001.

RADOSTITIS, O.M., GAY, C.C., HINCHCLIFF, K.W., CONSTABLE, P.D., Veterinary medicine: a textbook of the diseases of cattle, sheep, goats, pigs and horses. In:_____. (Ed.) **Diseases of the Respiratory System.** 10. ed. London, UK: W.B. Saunders Elsevier. 2009. Pp.. 470-519.

REIS, R.A.; SOLLENBERGER, L.E.; URBANO, D. Impact of overseeding cool-season annual forageson spring regrowth of Tifton 85 bermudagrass. In: **International Grassland Congress**, 19. 2001, São Pedro: Fundação Estudos Agrarios Luiz Queiroz (FEALQ), p. 295-297, 2001

REIS, R.A., PANIZZI, R.C., ROSA, B. et al. Efeitos da Amonização na Ocorrência de Fungos, Composição Química e Digestibilidade In Vitro de Fenos de Grama Seda (Cynodondactylon (L.) Pers.). **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa. v. 26, n.3, p. 454-460. 1997.

RICHARD, A.M.; KING, C. How to Perform Bronchoalveolar Lavage in Practice. **American Association of Equine Practitioner Proceedings**. v.44, p.186-188, 1998.

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

ROBINSON, N.E. Tracheal Mucus and Inflammation: Prevalence and Consequences In Midwestern Horses. **Proceedings of the Third World Equine Airways Symposium**, Cornell University, July 20-22, p.45-48, 2005.

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

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

ROY. M. F., LAVOIE J. P. Tools for the Diagnosis of Equine Respiratory Disorders. **The Veterinay Clinics, Equine. Practice** .v. 19. p.1-17, 2003.

RUSH, B. & MAIR, T., **Equine Respiratory Disease**. In:_____. (Ed.) Oxford: Blackwell Science, 2004. p. 1-9; 237-240; 291- 294.

SAASTAMOINEN, M., SÄRKIJÄRVI, S., HYYPPÄ, S., Reducing Respiratory Health Risks to Horses and Workers: A Comparison of Two Stall Bedding Materials. **Animals Journal.** v. 5. p. 965-977. 2015.

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

SCHMALLENBACH, K. H., RAHMAN, I., SASSE, H. H., DIXON, P. M., HALLIWELL, R. E., McGORUM, B. C., MILLER, H. R., Studies OnPulmonary and Systemic Aspergillus Fumigatus- SpecificIgE and IgG Antibodies in Horses Affected with Chronic Obstructive Pulmonary Disease (COPD). **Veterinary Immunology and Immunopathology**. v. 66,p. 245–256, 1998

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

SILVA, F. B., VOGT, A. S. L.,, CASTAGNARA, D. D., NERES, M. A., LORENO EGIDIO TAFFAREL, L. E., BATISTA, P. B., Desenvolvimento De Fungos Em Tifton 85 Submetido a Diferentes Métodos de Desidratação. Congresso Nordestino De Reprodução Animal. UFERSA. Mosorró. 6. 2010 **Anais Eletrônicos...** Disponível em < http://cac-php.unioeste.br/projetos/cmetloeste/pub_tecnicas/12_ Desenvolvimento_de_fungos_em_Tifton_85_submetido_a_diferentes.pdf> Acesso em 06 de jan de 2016.

SILVA, M.A.G., MARTINS, C.B., GOMIDE, L.M.W., ALBERNAZ, R. M. A., QUEIROZ-NETO, A., LACERDA-NETO, L. C., Determinação de eletrólitos, gases sanguíneos, osmolalidade, hematócrito, hemoglobina, base titulável e anion gap no sangue venoso de equinos destreinados submetidos a exercício máximo e submáximo em esteira rolante. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.61, p.1021-1027, 2009.

SMITH, B.P. **Medicina Interna de Grandes Animais**. ed.3 São Paulo: Manole, 2006.

SWEENEY, C. R.; ROSSIER, Y.; ZIEMER, E. L.; LINDBORG, S. Effect of Lung Site And Volume on Results of Bronchoalveolar Lavage Fluid Analysis in Horses. **American Journal of Veterinary Research**, v. 53, n. 8, p. 1376-1379, 1992.

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

TAYLOR, I.G.R., BRAZIL, T.J., HILLYER, M.H. Respiratory diseases. In: **Diagnostic Techniques in Equine Medicine.** 2. ed. London: Saunders Elsevier. 2010. p. 217-248.

THACKER, E.L., Lung inflammatory responses. **Veterinary Research,** v. 37, p. 469-486, 2006.

THOMASSIAN, A., Principais Afecções das Vias Aéreas Anteriores do Equinos. In: SIMPÓSIO ALAGOANO DE MEDICINA EQUINA, 2., 2012, Maceió. **Anais Eletrônicos...** Brasilian Journal of Equine Medicine – Suplemento I (40). Maceió: UFAL, 2012. p.106-114.

THORNTON, D.J., SHEEHAN, J.K., From Mucins to Mucus: Toward a More CoherentUnderstanding Of This Essential Barrier. **Proceedings of the American Thoracic Society**, n.1, p.54-61, 2004.

THURLBECK, W. M., LOWELL, F. C., Heaves in horses. **American Review of Respiratory Disease,** v, 89, p. 882-88. 1964.

TIZARD, I. R., Introduccíon a la Inmunología Veterinaria. In:_____. (Ed.) **Inmunidad em lãs Superficies Corpolares.** 9. ed. Texas: Elsevier. 2009. Cap. 19. p. 239-254.

TREMBLAY, G.M., FERLAND, C., LAPOINTE, J.M., VRINS, A., LAVOIE, J.P., CORMIER, Y., Effect of stabling onbronchoalveolar cells obtained from normal and COPD horses. **Equine Veterinary Journal.** v. 25. p. 194-197. 1993.

VIEL, L. Diagnostic methodologies: RAO and IAD. In: PROCEEDINGS OF THE AIRWAY SYMPOSIUM (Ed.) 4, 2009., Berne, Switzerland**. International Veterinary Information Service**. 2009.

VIEL, L.; HEWSON, J., BAL Cytology In Horses With Exercise Intolerance: What Does It Tell Us?. **World Equine Airways Symposium,** Edinburgh, 2001. Disponível em: <http://www.ivis.org/proceedings/weas/2001/Viel.pdf> Acesso em 17 de jan de 2016.

VISCARDI, V., LOPES, A. C. G., BELING, J. C. F., GIOIA, G.. V., FILHO, R. A. T., LESSA. D. A. B., ALENCAR, N.X., Effects of single and duplicate infusions of 250mL of saline solution in the cytological evaluation of bronchoalveolar lavage in equines. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária.** v. 37. n. 1. p. 33-35. jan/mar 2015.

VOSS, E., SEAHORN, T. Tracheobronchoscopy. In: N.M. SLOVIS, **Atlas of Equine Endoscopy.** St. Louis, Missouri: Mosby.2004. p. .97-118.

WAGNER, B., IgE in horses: Occurrence in healthand disease. **Veterinary Immunology and Immunopathology.** v. 132,p. 21–30, 2009.

WHITWELL, K.E., GREET, T.R.C., Collection and Evaluation of Tracheobronchial Washes in the Horse. **Equine Veterinary. Journal.** v.16, p.499-508, 1984.

WIEDMEYER, C. Blood Gas Analysis. In D.A. WILSON. **Clinical Veterinary Advisor: The Horse.** St. Louis, Missouri: Elsevier Saunders. 2012. p. 913.

WOOD, J.L., NEWTON, J.R., CHANTER, N. & MUMFORD, J.A. Inflammatory Airway Disease, nasal discharge and Respiratory Infections in Young Bristish Racehorses. **Equine Veterinary Journal**, v. 37, p. 236-242. 2005.

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

9. APÊNDICE

Apêndice 1. Médias ± desvio padrão da média dos parâmetros (PARAM.) avaliados no exame físico dos equinos mantidos em cama de maravalha autoclavada (MA) nos momentos basal (D0) e quinzenais (D15, D30, D45) realizados após início das avaliações.

PARAM.	MA											
	D0			D15			D30			D45		
P	425,20	± 33,07	a	414,40	± 45,27	a	404,60	± 41,12	a	410,40	± 50,63	a
FC	31,20	± 7,69	a	32,80	± 3,35	a	30,80	± 3,34	a	27,20	± 1,79	a
FR	15,20	± 1,79	a	19,20	± 1,79	a	17,60	± 2,19	a	17,80	± 5,67	a
T	36,66	± 0,11	a	36,76	± 0,25	a	36,82	± 0,29	a	37,28	± 0,50	a

P (peso) em quilogramas; FC (frequência cardíaca) em batimentos por minuto; FR (frequência respiratória) em movimentos por minuto; T (temperatura retal) em graus Celsius. (p>0,05).

Apêndice 2. Médias ± desvio padrão da média dos parâmetros (PARAM.) avaliados no exame físico dos equinos mantidos em cama de serragem (SE) nos momentos basal (D0) e quinzenais (D15, D30, D45) realizados após início das avaliações.

PARAM.	SE											
	D0			D15			D30			D45		
P	361,00	± 31,40[a]	a	381,20	± 10,80[b]	b	362,40	± 22,86[ab]	ab	381,40	± 13,15[ab]	ab
FC	38,00	± 2,82	a	31,40	± 8,82	a	32,00	± 4,00	a	31,20	± 3,35	a
FR	18,40	± 4,92	a	20,00	± 2,83	a	19,20	± 1,79	a	19,20	± 5,22	a
T	37,12	± 0,30	a	37,06	± 0,90	a	37,00	± 0,20	a	37,32	± 0,28	a

P (peso) em quilogramas; FC (frequência cardíaca) em batimentos por minuto; FR (frequência respiratória) em movimentos por minuto; T (temperatura retal) em graus Celsius. Médias seguidas de letras distintas nas linhas não diferem entre si (p≤ 0,05).

Apêndice 3. Médias ± desvio padrão da média dos parâmetros (PARAM.) avaliados no exame físico dos equinos mantidos em piquete (PASTO) nos momentos basal (D0) e quinzenais (D15, D30, D45) realizados após início das avaliações.

PARAM.	PASTO											
	D0			D15			D30			D45		
P	385,80	± 28,73	a	361,00	± 31,40	a	361,80	± 31,40	a	367,20	± 36,45	a
FC	39,20	± 1,79	a	38,00	± 2,82	a	38,00	± 2,83	a	31,20	± 5,22	a
FR	17,80	± 3,35	a	18,40	± 4,92	a	18,40	± 3,58	a	17,60	± 3,58	a
T	37,20	± 0,13	a	37,12	± 0,30	a	37,12	± 0,44	a	36,88	± 0,47	a

P (peso) em quilogramas; FC (frequência cardíaca) em batimentos por minuto; FR (frequência respiratória) em movimentos por minuto; T (temperatura retal) em graus Celsius. Médias seguidas de letras distintas nas linhas não diferem entre si (p≤ 0,05).

Apêndice 4. Médias ± desvio padrão da média dos parâmetros (PARAM.) avaliados no exame físico de equinos divididos em três grupos: cama de maravalha autoclavada (MA), serragem comum (SE) e piquete (PASTO) durante o momento basal (D0).

PARAM.	D0					
	MA		SE		PASTO	
P	425,20 ± 33,07[a]	a	361,00 ± 31,40[b]	b	385,80 ± 28,73[c]	c
FC	31,20 ± 7,69	a	38,00 ± 2,82	a	39,20 ± 1,79	a
FR	15,20 ± 1,79	a	18,40 ± 4,92	a	17,80 ± 3,35	a
T	36,66 ± 0,11	a	37,12 ± 0,30	a	37,20 ± 0,13	a

P (peso) em quilogramas; FC (frequência cardíaca) em batimentos por minuto; FR (frequência respiratória) em movimentos por minuto; T (temperatura retal) em graus Celsius. Médias seguidas de letras distintas nas linhas diferem entre si (p≤ 0,05).

Apêndice 5. Médias ± desvio padrão da média dos parâmetros (PARAM.) avaliados no exame físico de equinos divididos em três grupos: cama de maravalha autoclavada (MA), serragem comum (SE) e piquete (PASTO) 15 dias após o basal (D15).

PARAM.	D15					
	MA		SE		PASTO	
P	414,40 ± 45,27[a]	a	381,20 ± 10,80[b]	b	361,00 ± 31,40[c]	c
FC	32,80 ± 3,35	a	31,40 ± 8,82	a	38,00 ± 2,82	a
FR	19,20 ± 1,79	a	20,00 ± 2,83	a	18,40 ± 4,92	a
T	36,76 ± 0,25	a	37,06 ± 0,90	a	37,12 ± 0,30	a

P (peso) em quilogramas; FC (frequência cardíaca) em batimentos por minuto; FR (frequência respiratória) em movimentos por minuto; T (temperatura retal) em graus Celsius. Médias seguidas de letras distintas nas linhas diferem entre si (p≤ 0,05).

Apêndice 6. Médias ± desvio padrão da média dos parâmetros (PARAM.) avaliados no exame físico de equinos divididos em três grupos: cama de maravalha autoclavada (MA), serragem comum (SE) e piquete (PASTO) 30 dias após o basal (D30).

PARAM.	D30					
	MA		SE		PASTO	
P	404,60 ± 41,12[a]	a	362,40 ± 22,86[b]	b	361,80 ± 31,40[c]	c
FC	30,80 ± 3,34	a	32,00 ± 4,00	a	38,00 ± 2,83	a
FR	17,60 ± 2,19	a	19,20 ± 1,79	a	18,40 ± 3,58	a
T	36,82 ± 0,29	a	37,00 ± 0,20	a	37,12 ± 0,44	a

P (peso) em quilogramas; FC (frequência cardíaca) em batimentos por minuto; FR (frequência respiratória) em movimentos por minuto; T (temperatura retal) em graus Celsius. Médias seguidas de letras distintas nas linhas diferem entre si (p≤ 0,05).

Apêndice 7. Médias ± desvio padrão da média dos parâmetros (PARAM.) avaliados no exame físico de equinos divididos em três grupos: cama de maravalha autoclavada (MA), serragem comum (SE) e piquete (PASTO) 45 dias após o basal (D45).

PARAM.	D45								
	MA			SE			PASTO		
P	410,40	± 50,63[a]	a	381,40	± 13,15[b]	b	367,20	± 36,45[c]	c
FC	27,20	± 1,79	a	31,20	± 3,35	a	31,20	± 5,22	a
FR	17,80	± 5,67	a	19,20	± 5,22	a	17,60	± 3,58	a
T	37,28	± 0,50	a	37,32	± 0,28	a	36,88	± 0,47	a

P (peso) em quilogramas; FC (frequência cardíaca) em batimentos por minuto; FR (frequência respiratória) em movimentos por minuto; T (temperatura retal) em graus Celsius. Médias seguidas de letras distintas nas linhas diferem entre si (p≤0,05).

Apêndice 8. Médias ± desvio padrão da média dos parâmetros (PARAM.) avaliados no hemograma de equinos mantidos em cama de maravalha autoclavada (MA) no basal (DO) e a cada quinze dias após início das avaliações (D15, D30, D45).

PARAM.	MA											
	D0			D15			D30			D45		
Le	8,180	± 1,54	a	8,120	± 1,18	a	7,120	± 0,66	a	7,020	± 1,23	a
Lf	1,860	± 0,18[a]	a	2,480	± 0,41[b]	b	2,860	± 0,42[b]	b	2,320	± 0,29[ab]	ab
Mo	0,240	± 0,05	a	0,240	± 0,05	a	0,260	± 0,05	a	0,200	± 0,07	a
Eo	0,500	± 0,24	a	0,350	± 0,71	a	0,200	± 0,03	a	0,330	± 0,07	a
He	8,690	± 1,53[a]	a	7,590	± 1,34[ab]	ab	7,610	± 0,51[ab]	ab	6,890	± 0,71[b]	b
Hb	13,500	± 2,40[a]	a	11,980	± 2,11[ab]	ab	12,280	± 0,94[ab]	ab	11,160	± 0,90[b]	b
Ht	39,100	± 7,70[a]	a	34,140	± 6,46[ab]	ab	34,300	± 2,67[ab]	ab	30,620	± 2,78[b]	b
Pl	270,00	± 61,70	a	259,400	± 22,50	a	296,600	± 45,72	a	241,600	± 40,56	a
Fb	0,400	± 0,24	a	0,420	± 0,23	a	0,400	± 0,14	a	0,760	± 0,30	a

Le (leucócitos totais, x 10^3/ µl), Lf (linfócitos, x 10^3/ µl), Mo (monócitos, x 10^3/ µl), Eo (eosinófilos, x 10^3/ µl), He (eritrócito, x 10^3/ µl), Hb (hemoglobina, g/dl), Ht (hematócrito, %), Pl (plaquetas x 10^3/ µl), Fb (fibrinogênio, g/dl). Médias seguidas de mesmas letras nas linhas não diferem entre si (p>0,05).

Apêndice 9. Médias ± desvio padrão da média dos parâmetros (PARAM.) avaliados no hemograma de equinos mantidos em cama de serragem (SE) no basal (DO) e a cada quinze dias após início das avaliações (D15, D30, D45).

PARAM.	SE											
	D0			D15			D30			D45		
Le	7,720	± 0,81	a	8,400	± 1,14	a	6,640	± 0,60	a	6,660	± 0,71	a
Lf	1,960	± 0,32[a]	a	2,600	± 0,46[b]	b	2,400	± 0,64[ab]	ab	2,220	± 0,51[ab]	ab
Mo	0,280	± 0,04	a	0,240	± 0,05	a	26,000	± 0,09	a	0,200	± 0,00	a
Eo	0,470	± 0,11[a]	a	0,340	± 0,12[ab]	ab	0,210	± 0,06[b]	b	0,204	± 0,04[b]	b
He	7,820	± 0,72	a	7,540	± 0,74	a	7,350	± 0,56	a	8,124	± 1,15	a
Hb	12,020	± 0,76	a	11,860	± 0,88	a	11,600	± 0,59	a	12,940	± 1,71	a
Ht	34,400	± 2,34	a	33,260	± 2,85	a	32,180	± 1,99	a	35,320	± 4,74	a
Pl	262,400	± 41,33	a	276,600	± 32,45	a	258,200	± 19,64	a	240,200	± 64,10	a
Fb	0,460	± 0,37	a	0,220	± 0,04	a	0,420	± 0,28	a	1,260	± 0,88	a

Le (leucócitos totais, x 10^3/ µl), Lf (linfócitos, x 10^3/ µl), Mo (monócitos, x 10^3/ µl), Eo (eosinófilos, x 10^3/ µl), He (eritrócito, x 10^3/ µl), Hb (hemoglobina, g/dl), Ht (hematócrito, %), Pl (plaquetas x 10^3/ µl), Fb (fibrinogênio, g/dl). Médias seguidas de mesmas letras nas linhas não diferem entre si (p>0,05).

Apêndice 10. Médias ± desvio padrão da média dos parâmetros (PARAM.) avaliados no hemograma de equinos mantidos em piquete (PASTO) no basal (DO) e a cada quinze dias após início das avaliações (D15, D30, D45).

PARAM.	PASTO											
	D0			D15			D30			D45		
Le	9,900	± 1,04	a	7,980	± 1,57	a	8,000	± 1,29	a	8,140	± 2,10	a
Lf	2,040	± 0,70[a]	a	2,560	± 0,69[ab]	ab	2,760	± 0,70[b]	b	2,580	± 0,69[ab]	ab
Mo	0,320	± 0,08	a	0,260	± 0,09	a	0,280	± 0,08	a	0,240	± 0,09	a
Eo	0,456	± 0,24	a	0,366	± 0,11	a	0,282	± 0,70	a	0,426	± 0,18	a
He	6,724	± 1,37	a	6,416	± 0,60	a	6,910	± 0,54	a	6,728	± 0,58	a
Hb	10,640	± 1,92	a	10,200	± 1,23	a	11,000	± 0,36	a	10,880	± 0,77	a
Ht	30,200	± 5,99	a	28,760	± 3,51	a	30,580	± 0,95	a	29,620	± 2,12	a
Pl	342,800	± 44,97	a	295,400	± 62,89	a	302,600	± 46,82	a	254,400	± 26,58	a
Fb	0,660	± 0,75	a	0,320	± 0,16	a	0,600	± 0,56	a	1,460	± 1,27	a

Le (leucócitos totais, x 10^3/ µl), Lf (linfócitos, x 10^3/ µl), Mo (monócitos, x 10^3/ µl), Eo (eosinófilos, x 10^3/ µl), He (eritrócito, x 10^3/ µl), Hb (hemoglobina, g/dl), Ht (hematócrito, %), Pl (plaquetas x 10^3/ µl), Fb (fibrinogênio, g/dl). Médias seguidas de mesmas letras nas linhas não diferem entre si (p>0,05).

Apêndice 11. Médias ± desvio padrão da média dos parâmetros (PARAM.) avaliados no hemograma de equinos divididos em três grupos: cama de maravalha autoclavada (MA), serragem comum (SE) e piquete (PASTO) durante o momento basal (D0).

PARAM.	D0					
	MA		SE		PASTO	
Le	8,1800 ± 1,54	a	7,720 ± 0,81	a	9,900 ± 1,04	a
Lf	1,8600 ± 0,18	a	1,960 ± 0,32	a	2,040 ± 0,70	a
Mo	0,2400 ± 0,05	a	0,280 ± 0,04	a	0,320 ± 0,08	a
Eo	0,5000 ± 0,24	a	0,470 ± 0,11	a	0,456 ± 0,24	a
He	8,6900 ± 1,53	a	7,820 ± 0,72	a	6,724 ± 1,37	a
Hb	13,5000 ± 2,40[a]	a	12,020 ± 0,76[ab]	ab	10,640 ± 1,92[b]	b
Ht	39,1000 ± 7,70[a]	a	34,400 ± 2,34[ab]	ab	30,200 ± 5,99[b]	b
Pl	270,0000 ± 61,70	a	262,400 ± 41,33	a	342,800 ± 44,97	a
Fb	0,4000 ± 0,24	a	0,460 ± 0,37	a	0,660 ± 0,75	a

Le (leucócitos totais, x 10^3/ µl), Lf (linfócitos, x 10^3/ µl), Mo (monócitos, x 10^3/ µl), Eo (eosinófilos, x 10^3/ µl), He (eritrócito, x 10^3/ µl), Hb (hemoglobina, g/dl), Ht (hematócrito, %), Pl (plaquetas x 10^3/ µl), Fb (fibrinogênio, g/dl). Médias seguidas de mesmas letras nas linhas não diferem entre si (p>0,05).

Apêndice 12. Médias ± desvio padrão da média dos parâmetros (PARAM.) avaliados no hemograma de equinos divididos em três grupos: cama de maravalha autoclavada (MA), serragem comum (SE) e piquete (PASTO) 15 dias após o basal (D15).

PARAM.	D15					
	MA		SE		PASTO	
Le	8,1200 ± 1,18	a	8,400 ± 1,14	a	7,980 ± 1,57	a
Lf	2,4800 ± 0,41	a	2,600 ± 0,46	a	2,560 ± 0,69	a
Mo	0,2400 ± 0,05	a	0,240 ± 0,05	a	0,260 ± 0,09	a
Eo	0,3500 ± 0,71	a	0,340 ± 0,12	a	0,366 ± 0,11	a
He	7,5900 ± 1,34	a	7,540 ± 0,74	a	6,416 ± 0,60	a
Hb	11,9800 ± 2,11	a	11,860 ± 0,88	a	10,200 ± 1,23	a
Ht	34,1400 ± 6,46	a	33,260 ± 2,85	a	28,760 ± 3,51	a
Pl	259,4000 ± 22,50	a	276,600 ± 32,45	a	295,400 ± 62,89	a
Fb	0,4200 ± 0,23	a	0,220 ± 0,04	a	0,320 ± 0,16	a

Le (leucócitos totais, x 10^3/ µl), Lf (linfócitos, x 10^3/ µl), Mo (monócitos, x 10^3/ µl), Eo (eosinófilos, x 10^3/ µl), He (eritrócito, x 10^3/ µl), Hb (hemoglobina, g/dl), Ht (hematócrito, %), Pl (plaquetas x 10^3/ µl), Fb (fibrinogênio, g/dl). Médias seguidas de mesmas letras nas linhas não diferem entre si (p>0,05).

Apêndice 13. Médias ± desvio padrão da média dos parâmetros (PARAM.) avaliados no hemograma de equinos divididos em três grupos cama de maravalha autoclavada (MA), serragem comum (SE) e piquete (PASTO) 30 dias após o basal (D30).

PARAM.	D30					
	MA		SE		PASTO	
Le	7,1200 ± 0,66	a	6,640 ± 0,60	a	8,000 ± 1,29	a
Lf	2,8600 ± 0,42	a	2,400 ± 0,64	a	2,760 ± 0,70	a
Mo	0,2600 ± 0,05	a	26,000 ± 0,09	a	0,280 ± 0,08	a
Eo	0,2000 ± 0,03	a	0,210 ± 0,06	a	0,282 ± 0,70	a
He	7,6100 ± 0,51	a	7,350 ± 0,56	a	6,910 ± 0,54	a
Hb	12,2800 ± 0,94	a	11,600 ± 0,59	a	11,000 ± 0,36	a
Ht	34,3000 ± 2,67	a	32,180 ± 1,99	a	30,580 ± 0,95	a
Pl	296,6000 ± 45,72	a	258,200 ± 19,64	a	302,600 ± 46,82	a
Fb	0,4000 ± 0,14	a	0,420 ± 0,28	a	0,600 ± 0,56	a

Le (leucócitos totais, x 10^3/ µl), Lf (linfócitos, x 10^3/ µl), Mo (monócitos, x 10^3/ µl), Eo (eosinófilos, x 10^3/ µl), He (eritrócito, x 10^3/ µl), Hb (hemoglobina, g/dl), Ht (hematócrito, %), Pl (plaquetas x 10^3/ µl), Fb (fibrinogênio, g/dl). Médias seguidas de mesmas letras nas linhas não diferem entre si (p>0,05).

Apêndice 14. Médias ± desvio padrão da média dos parâmetros (PARAM.) avaliados no hemograma de equinos divididos em três grupos: cama de maravalha autoclavada (MA), serragem comum (SE) e piquete (PASTO) 30 dias após o basal (D30).

PARAM.	D45					
	MA		SE		PASTO	
Le	7,0200 ± 1,23	a	6,660 ± 0,71	a	8,140 ± 2,10	a
Lf	2,3200 ± 0,29	a	2,220 ± 0,51	a	2,580 ± 0,69	a
Mo	0,2000 ± 0,07	a	0,200 ± 0,00	a	0,240 ± 0,09	a
Eo	0,3300 ± 0,07	a	0,204 ± 0,04	a	0,426 ± 0,18	a
He	6,8900 ± 0,71	a	8,124 ± 1,15	a	6,728 ± 0,58	a
Hb	11,1600 ± 0,90	a	12,940 ± 1,71	a	10,880 ± 0,77	a
Ht	30,6200 ± 2,78	a	35,320 ± 4,74	a	29,620 ± 2,12	a
Pl	241,6000 ± 40,56	a	240,200 ± 64,10	a	254,400 ± 26,58	a
Fb	0,7600 ± 0,30	a	1,260 ± 0,88	a	1,460 ± 1,27	a

Le (leucócitos totais, x 10^3/ µl), Lf (linfócitos, x 10^3/ µl), Mo (monócitos, x 10^3/ µl), Eo (eosinófilos, x 10^3/ µl), He (eritrócito, x 10^3/ µl), Hb (hemoglobina, g/dl), Ht (hematócrito, %), Pl (plaquetas x 10^3/ µl), Fb (fibrinogênio, g/dl). Médias seguidas de mesmas letras nas linhas não diferem entre si (p>0,05).

Apêndice 15. Médias ± desvio padrão da média dos parâmetros (PARAM.) hemagosométricos avaliados no sangue arterial de equinos mantidos em camas de maravalha autoclavada (MA) no basal (DO) e a cada quinze dias após início das avaliações (D15, D30, D45).

PARAM.	MA											
	D0			D15			D30			D45		
pH	7,450	± 0,01^{ab}	ab	7,457	± 0,01^{a}	a	7,458	± 0,02^{ab}	ab	7,421	± 0,02^{b}	b
HCO_3	28,325	± 0,76	a	28,060	± 1,29	a	27,960	± 2,58	a	25,340	± 2,58	a
PCO_2	44,975	± 2,56	a	42,520	± 5,03	a	42,460	± 5,85	a	39,500	± 5,85	a
PO_2	95,450	± 13,51	a	108,340	± 23,30	a	117,200	± 48,63	a	127,780	± 48,63	a

pH: íons de hidrogênio, HCO_3: Bicarbonato arterial (mmHg), PCO_2: Pressão arterial de dióxido de carbono (mmHg), PO_2: pressão arterial de oxigênio (mmHg). Médias seguidas de mesmas letras nas linhas não diferem entre si (p>0,05).

Apêndice 16. Médias ± desvio padrão da média dos parâmetros (PARAM.) hemagosométricos avaliados no sangue arterial de equinos mantidos em camas de serragem (SE) no basal (DO) e a cada quinze dias após início das avaliações (D15, D30, D45).

PARAM.	SE											
	D0			D15			D30			D45		
pH	7,432	± 0,01	a	7,453	± 0,01	a	7,425	± 0,02	a	7,430	± 0,01	a
HCO_3	26,320	± 1,18	a	27,700	± 0,87	a	26,000	± 1,17	a	26,700	± 0,81	a
PCO_2	41,200	± 2,64	a	42,500	± 2,01	a	38,300	± 1,91	a	43,700	± 2,98	a
PO_2	101,620	± 18,53	a	113,700	± 9,66	a	132,200	± 15,37	a	103,600	± 9,00	a

pH: íons de hidrogênio, HCO_3: Bicarbonato arterial (mmHg), PCO_2: Pressão arterial de dióxido de carbono (mmHg), PO_2: pressão arterial de oxigênio (mmHg).Médias seguidas por letras distintas nas linhas diferem entre si (p≤0,05).

Apêndice 17. Médias ± desvio padrão da média dos parâmetros (PARAM.) hemagosométricos avaliados no sangue arterial de equinos mantidos em piquete (PASTO) no basal (DO) e a cada quinze dias após início das avaliações (D15, D30, D45).

PARAM.	PASTO											
	D0			D15			D30			D45		
pH	7,472	± 0,02^{ab}	ab	7,510	± 0,02^{a}	a	7,471	± 0,02^{ab}	ab	7,453	± 0,02^{b}	b
HCO_3	29,300	± 1,10^{ab}	ab	31,800	± 2,41^{a}	a	28,600	± 2,33^{b}	b	28,300	±0 1,31^{b}	b
PCO_2	43,700	± 1,57	a	43,500	± 5,47	a	44,600	± 4,12	a	46,500	± 2,89	a
PO_2	91,100	± 8,25	a	120,200	± 26,00	a	88,200	± 9,61	a	102,100	± 29,51	a

pH: íons de hidrogênio, HCO_3: Bicarbonato arterial (mmHg), PCO_2: Pressão arterial de dióxido de carbono (mmHg), PO_2: pressão arterial de oxigênio (mmHg).Médias seguidas por letras distintas nas linhas diferem entre si (p≤0,05).

Apêndice 18. Médias ± desvio padrão da média dos parâmetros (PARAM.) hemagosométricos avaliados no sangue arterial dos equinos nos três grupos: cama de maravalha autoclavada (MA), serragem comum (SE) e piquete (PASTO) avaliados no basal (D0).

PARAM.	D0							
	MA			SE			PASTO	
pH	7,450	± 0,01	a	7,432	± 0,01	a	7,472	± 0,02	a
HCO_3	28,325	± 0,76	a	26,320	± 1,18	a	29,300	± 1,10	a
PCO_2	44,975	± 2,56	a	41,200	± 2,64	a	43,700	± 1,57	a
PO_2	95,450	± 13,51	a	101,620	± 18,53	a	91,100	± 8,25	a

pH: íons de hidrogênio, HCO_3: Bicarbonato arterial (mmHg), PCO_2: Pressão arterial de dióxido de carbono (mmHg), PO_2: pressão arterial de oxigênio (mmHg). Médias seguidas de mesmas letras na linha não diferem entre si (p>0,05).

Apêndice 19. Médias ± desvio padrão da média dos parâmetros (PARAM.) hemagosométricos avaliados no sangue arterial dos equinos nos três grupos: cama de maravalha autoclavada (MA), serragem comum (SE) e piquete (PASTO) avaliados 15 dias após o basal (D15).

PARAM.	D15							
	MA			SE			PASTO	
pH	7,457	± 0,01[a]	a	7,453	± 0,01[a]	a	7,430	± 0,01[b]	b
HCO_3	28,060	± 1,29[a]	a	27,700	± 0,87[a]	a	26,700	± 0,81[b]	b
PCO_2	42,520	± 5,03	a	42,500	± 2,01	a	43,700	± 2,98	a
PO_2	108,340	± 23,30	a	113,700	± 9,66	a	103,600	± 9,00	a

pH: íons de hidrogênio, HCO_3: Bicarbonato arterial (mmHg), PCO_2: Pressão arterial de dióxido de carbono (mmHg), PO_2: pressão arterial de oxigênio (mmHg).Médias seguidas por letras distintas nas diferem entre si (p≤0,05).

Apêndice 20. Médias ± desvio padrão da média dos parâmetros (PARAM.) hemagosométricos avaliados no sangue arterial dos equinos nos três grupos: cama de maravalha autoclavada (MA), serragem comum (SE) e piquete (PASTO) avaliados 30 dias após o basal (D30).

PARAM.	D30							
	MA			SE			PASTO	
pH	7,458	± 0,02	a	7,425	± 0,016	a	7,471	± 0,02	a
HCO_3	27,960	± 2,58	a	26,000	± 1,17	a	28,600	± 2,33	a
PCO_2	42,460	± 5,85	a	38,300	± 1,91	a	44,600	± 4,12	a
PO_2	117,200	± 48,63	a	132,200	± 15,37	a	88,200	± 9,61	a

pH: íons de hidrogênio, HCO_3: Bicarbonato arterial (mmHg), PCO_2: Pressão arterial de dióxido de carbono (mmHg), PO_2: pressão arterial de oxigênio (mmHg). Médias seguidas de mesmas letras na linhas não diferem entre si (p>0,05).

Apêndice 21. Médias ± desvio padrão da média dos parâmetros (PARAM.) hemagosométricos avaliados no sangue arterial dos equinos nos três grupos: cama de maravalha autoclavada (MA), serragem comum (SE) e piquete (PASTO) avaliados 45 dias após o basal (D45).

PARAM.	D45								
	MA			SE			PASTO		
pH	7,421	± 0,02[a]	a	7,430	± 0,01a[b]	ab	7,453	± 0,02[b]	b
HCO_3	25,340	± 2,58[a]	a	26,700	± 0,81[a]	a	28,300	±0 1,31[b]	b
PCO_2	39,500	± 5,85[a]	a	43,700	± 2,98[ab]	ab	46,500	± 2,89[b]	b
PO_2	127,780	± 48,63[a]	a	103,600	± 9,00[ab]	ab	102,100	± 29,51[b]	b

pH: íons de hidrogênio, HCO_3: Bicarbonato arterial (mmHg), PCO_2: Pressão arterial de dióxido de carbono (mmHg), PO_2: pressão arterial de oxigênio (mmHg).Médias seguidas por letras distintas nas linhas diferem entre si (p≤0,05).

Apêndice 22. Médias ± desvio padrão da média dos parâmetros (PARAM.) avaliados no lavado broncoalveolar de equinos mantidos em camas de maravalha autoclavada (MA) no basal (D0) e a cada quinze dias após início das avaliações (D15, D30, D45).

PARAM.	MA											
	D0			D15			D30			D45		
PT	14,460	± 14,46	a	18,020	± 36,16	a	6,240	± 6,4	a	8,240	± 3,12	a
CNT	232,000	± 89,13	a	140,600	± 42,30	a	153,600	± 19,50	a	270,200	± 15,71	a
NS	12,800	± 5,79[a]	a	8,200	± 5,54[ac]	ac	35,000	± 18,87[b]	b	4,800	± 2,80[c]	c
LF	71,800	± 14,44[a]	a	66,600	± 15,53[a]	a	41,600	± 6,70[b]	b	78,400	± 5,50[ac]	ac
MC	10,600	± 6,46	a	23,600	± 15,42	a	23,000	± 12,51	a	14,800	± 9,20	a
EO	1,800	± 3,03	a	1,600	± 1,14	a	0,400	± 0,00	a	0,000	± 0,00	a

PT: proteína total (g/dL), CNT: células nucleadas totais (x 10^3/µL), NS: neutrófilo segmentado (%), LF: linfócitos (%), MC: macrófagos (%), EO: eosinófilos (%) Médias seguidas por letras distintas nas linhas diferem entre si (p≤0,05).

Apêndice 23. Médias ± desvio padrão da média dos parâmetros (PARAM.) avaliados no lavado broncoalveolar de equinos mantidos em camas de serragem (SE) no basal (D0) e a cada quinze dias após início das avaliações (D15, D30, D45).

PARAM.	SE											
	D0			D15			D30			D45		
PT	5,060	± 2,26	a	2,520	± 0,61	a	4,260	± 0,67	a	6,540	± 4,03	a
CNT	242,000	± 80,70	a	197,000	± 43,67	a	248,600	± 50,20	a	227,600	± 44,21	a
NS	21,000	± 14,44[a]	a	10,400	± 2,79[a]	a	16,400	± 2,88[a]	a	4,400	± 2,97[a]	a
LF	71,800	± 13,81[ab]	ab	66,600	± 6,99[ab]	ab	58,200	± 7,05[b]	b	80,800	± 4,87[a]	a
MC	6,600	± 3,13	a	21,400	± 5,68	a	24,800	± 9,42	a	14,600	± 6,70	a
EO	0,600	± 1,34	a	1,600	± 1,3	a	0,600	± 0,54	a	0,000	± 0,00	a

PT: proteína total (g/dL), CNT: células nucleadas totais (x 10^3/µL), NS: neutrófilo segmentado (%), LF: linfócitos (%), MC: macrófagos (%), EO: eosinófilos (%) Médias seguidas por letras distintas nas linhas diferem entre si (p≤0,05).

Apêndice 24. Médias ± desvio padrão da média dos parâmetros (PARAM.) avaliados no lavado broncoalveolar de equinos mantidos em piquete (PASTO) (D0) e a cada quinze dias após início das avaliações (D15, D30, D45).

PARAM.	PASTO											
	D0			D15			D30			D45		
PT	4,560	± 5,65	a	9,080	± 7,08	a	9,580	± 0,76	a	7,720	± 0,34	a
CNT	251,000	± 145,32	a	311,200	± 182,39	a	311,800	± 79,75	a	336,800	± 94,94	a
NS	18,000	± 12,14	a	15,600	± 3,36	a	9,400	± 4,80	a	7,800	± 3,35	a
LF	72,400	± 9,86[a]	a	51,200	± 13,57[b]	b	56,500	± 4,98[b]	b	80,200	± 1,92[a]	a
MC	6,800	± 2,77[a]	a	27,600	± 12,74[b]	b	33,200	± 14,12[b]	b	11,600	± 1,03[a]	a
EOS	2,800	± 5,15	a	5,600	± 11,97	a	0,800	± 1,30	a	0,400	± 0,25	a

PT: proteína total (g/dL), CNT: células nucleadas totais (x 10^3/µL), NS: neutrófilo segmentado (%), LF: linfócitos (%), MC: macrófagos (%), EO: eosinófilos (%) Médias seguidas por letras distintas nas linhas diferem entre si (p≤0,05).

Apêndice 25. Médias ± desvio padrão de fosfatase alcalina (UI/L) no lavado broncoalveolar de 15 equinos divididos em três grupos: cama de maravalha autoclavada (MA), serragem comum (SE) e piquete (PASTO)

MOMENTOS	GRUPOS		
	MA	SE	PASTO
D0	16,00 ± 0,00	16,00 ± 5,66	16,00 ± 8,00
D15	19,20 ± 4,38	24,20 ± 6,02	19,20 ± 4,08
D30	27,60 ± 14,98	19,60 ± 8,05	24,20 ± 6,02
D45	19,20 ± 4,38	22,60 ± 7,06	21,00 ± 7,55

D0: basal, D15: primeira avaliação quinzenal, D30: segunda avaliação quinzenal e D45: terceira avaliação quinzenal. (p>0,05).