

Análise do líquido broncoalveolar de equinos portadores de doença inflamatória das vias aéreas

Evaluation of bronchoalveolar fluid of horses with inflammatory airway disease

Daniel Augusto Barroso LESSA¹; Maria Luisa Loredó de Abreu JORGE²; Eduardo Borges VIANA³; Nayro Xavier de ALENCAR¹; Wilson Roberto FERNANDES⁴

¹Departamento de Patologia e Clínica Veterinária da Faculdade de Veterinária da Universidade Federal Fluminense, Niterói-RJ, Brasil

²Major Veterinário, Polícia Militar do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro-RJ, Brasil

³Médico veterinário autônomo, Niterói-RJ, Brasil

⁴Departamento de Clínica Veterinária da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, São Paulo-SP, Brasil

Resumo

Objetivou-se caracterizar o perfil citológico broncoalveolar de equinos de policiamento portadores assintomáticos de Doença Inflamatória de Vias Aéreas (DIVA). Utilizaram-se 17 equinos adultos, machos e fêmeas, com idade entre 11 e 24 anos. Os animais que constituíram o grupo controle (oito) apresentaram-se normais ao exame físico, à endoscopia e à mensuração da diferença máxima de pressão intrapleural. No lavado broncoalveolar a contagem deveria ser de até 4%, 0,7%, 3,3% para neutrófilos, eosinófilos e células epiteliais e entre 17,0 e 56,7%, 29 e 75,7%, 0,7 e 13,7% para linfócitos, macrófagos e mastócitos, respectivamente. O grupo considerado doente (nove animais) apresentou achados compatíveis com afecções do trato respiratório posterior, pelo menos à endoscopia, além de uma contagem de neutrófilos maior que 5% e menor que 25%. O quadro assintomático de doença inflamatória das vias aéreas caracterizou-se por infiltrado neutrofílico, discreta redução no número de macrófagos, aumento no número de macrófagos espumosos, discreto infiltrado eosinofílico e aumento marcante no número de células epiteliais. Em face do caráter assintomático dessa enfermidade nos equinos de policiamento, a utilização do LBA como método de diagnóstico e acompanhamento é fundamental, pois permite reconhecer, tratar e determinar uma utilização mais racional desses animais, de modo a melhorar a qualidade de vida e prolongar a utilização dos mesmos em serviço.

Palavras-chave: Citologia. Doença Inflamatória de Vias Aéreas. Equinos. Lavado broncoalveolar

Abstract

The aim of this study was to characterize the cytology profile of bronchoalveolar lavage from police horses with asymptomatic Inflammatory Airway Disease (IAD). Seventeen adult horses, males and females, with ages ranging from 11 to 24 years old were utilized. The control group (eight horses) presented vital signs within the physiologic range, normal pulmonary percussion and auscultation, no abnormalities at respiratory endoscopy and at the measurement of the maximal intra-pleural pressure difference. The cell count of bronchoalveolar lavage (BAL) should be up to 4%, 0.7%, 3.3% to neutrophil, eosinophil and epithelial cell, and ranging of 17.0 to 56.7%, 29 to 75.7%, 0.7 to 13.7% to lymphocytes, macrophages and mast cell, respectively. The diseased group (nine animals) presented findings compatible with lower airway disease, at least during endoscopy and showed a neutrophil counts above 5% and below 25%. Asymptomatic IAD was characterized by neutrophilic infiltrate, discrete reduction in macrophage count with increased number of foamy macrophages and discrete eosinophilic infiltrate and marked increase in the number of epithelial cells. Due to the asymptomatic character of IAD in police horses, BAL is the preferred diagnostic and follow-up method since it allows recognition of the disease, evaluation of treatment and helps the implementation of a graded and rational work regime that aims at improving welfare of those animals as well as extending their usage as patrolling horses.

Keywords: Equine. Inflammatory airway disease. Cytology. Bronchoalveolar lavage.

Correspondência para:

Daniel Augusto Barroso Lessa
Rua Vital Brazil Filho, 64, Niterói-RJ,
CEP: 24.230-340
Fone: (21) 2629-9551
e-mail: lessadab@vm.uff.br

Recebido: 04/12/2009

Aprovado: 16/03/2011

Introdução

As doenças respiratórias na espécie equina representam uma importante causa de prejuízo à saúde e resultam em grande impacto econômico em função da queda de desempenho ou até mesmo pelo afastamento das atividades esportivas. Dentre estas afecções, a doença inflamatória das vias aéreas (DIVA) é particularmente importante em grandes centros urbanos, como a cidade do Rio de Janeiro, em função da elevada porcentagem de animais que apresentam esta enfermidade¹ e por muitas vezes a enfermidade manifestar-se de forma discreta ou assintomática^{2,3}, dificultando o diagnóstico e por conseguinte, um tratamento preciso. Fatores de risco para a DIVA em grandes centros urbano incluem a necessidade de manter os animais estabulados e a exposição a elevados índices de poluição do ar.

Esta síndrome é caracterizada por inflamação de menor gravidade que a obstrução recorrente das vias aéreas (ORVA) e afeta principalmente animais jovens de corrida. Clinicamente os animais não apresentam dificuldades respiratórias visíveis, ou sinais de doenças sistêmicas assim como a diferença máxima de pressão intrapleural (ΔP_{pl} máxima) permanece inalterada. Porém apresentam evidências de inflamação de vias aéreas, tal como acúmulo de secreção mucoide e de células inflamatórias, que podem estar acompanhadas de tosse e evidência de baixo desempenho⁴.

Diferente da DIVA, a Obstrução Recorrente das Vias Aéreas é considerada uma síndrome de animais mais velhos (acima de seis anos), apresentando evidências de obstrução de vias aéreas caracterizada por uma ΔP_{pl} máxima acima de 15 cm de H_2O e infiltrado neutrofílico acima de 25% no lavado broncoalveolar (LBA)⁵.

O LBA é um método sensível para o diagnóstico de doenças inflamatórias não infecciosas das vias aéreas posteriores dos equinos⁶. Utilizando esta metodologia, vários trabalhos já foram realizados no exterior. No Brasil, algumas pesquisas foram conduzidas com animais de policiamento. Na Cidade do Rio de Ja-

neiro, em um grupo de 35 animais de policiamento, foi detectada obstrução recorrente das vias aéreas (ORVA) em 60% dos animais estudados, porém 100% dos animais examinados apresentaram algum estado inflamatório pulmonar, caracterizado por infiltrado neutrofílico acima de 10%¹. Posteriormente, nesta mesma população equina, aparentemente saudável, foi verificado que 60% das amostras de LBA apresentaram alterações compatíveis com quadros inflamatórios, sendo um desses compatível com ORVA e os demais (11) compatíveis com DIVA⁷.

No Distrito Federal, foram analisados 24 equinos sadios distribuídos em dois grupos de doze: um grupo de animais utilizados em ronda e outro grupo constituído por animais que não estavam sendo utilizados (afastado da escala). Nos animais de ronda registraram-se valores médios percentuais $25,25 \pm 7,3$ de células escamosas, $20,2 \pm 5,5$ células epiteliais, $22,2 \pm 6,3$ macrófagos e $2,02 \pm 5,77$ de eosinófilos. No grupo afastado da escala observaram-se valores médios percentuais $31,0 \pm 9,47$ de células escamosas, $19,0 \pm 5,2$ células epiteliais, $43,0 \pm 13,88$ macrófagos e $4,0 \pm 1,52$ de eosinófilos e $3,0 \pm 1,0$ de eritrócitos⁸.

Apesar de achados citológicos compatíveis com DIVA já terem sido descritos em cavalos aparentemente sadios da Polícia Militar do Estado do Rio de Janeiro (PMERJ)⁷ e da DIVA já ter sido clinicamente caracterizada como assintomática em animais desta população³, diante dos diferentes perfis citopatológicos que caracterizam esta enfermidade⁹, existe a necessidade de estabelecer o perfil citológico nestes animais. Este trabalho teve por objetivo caracterizar o perfil citológico broncoalveolar de equinos de policiamento portadores assintomáticos de doença inflamatória de vias aéreas (DIVA).

Material e Método

Foram utilizados 17 equinos adultos (11 machos e seis fêmeas) de 11 a 24 anos (média de $15,2 \pm 3,4$),

sendo oito (grupo controle) pertencentes ao 2º Regimento de Cavalaria de Guardas Andrade Neves (RCGd, RJ) e nove (grupo doente) ao Regimento de Polícia Montada do Estado do Rio de Janeiro (RP-Mont, PMERJ).

Os animais do grupo Controle foram mantidos semiestabulados em baias de aproximadamente 9 m², sem cama, alimentados com 5-6 kg/animal de ração comercial com 12% de proteína bruta (PB) e 2-3 kg feno de *Coast Cross*/animal, limpos diariamente e soltos 4-6 vezes por semana. Esses animais trabalhavam diariamente em atividades esportiva ou de patrulha (trabalho moderado).

Os animais da PMERJ também foram mantidos semiestabulados, em baias de metragem 6 m², sem cama de 6 às 15 h e o restante do período em solário, alimentados com 6 kg/animal de ração comercial com 12% de PB e 12 kg/animal de Capim-Angola (*Bra-chiaria mutica*) cortado e oferecido no solário.

Todos os animais foram vermifugados trimestralmente e vacinados contra influenza, tétano, encefalomielite equina leste e oeste, rinopneumonite e raiva. Adicionalmente, os do grupo controle também foram vacinados contra garrotilho e leptospirose.

Nenhum dos animais de ambos os grupos estava sendo submetido a tratamento ou foi relatado sintoma de doença respiratória nos últimos dois meses. No momento do exame apresentavam-se aparentemente saudáveis e com valores de leucograma e fibrinogênio plasmático dentro da normalidade segundo Tyler et al.¹⁰.

Foi realizado exame físico com especial ênfase ao exame do aparelho respiratório, considerando os va-

lores de referência descritos por Houston e Radostits¹¹ para as funções vitais e por McGorum et al.¹² para os resultados da percussão e ausculta pulmonar.

Avaliação endoscópica foi realizada, sem que os animais tivessem sido previamente exercitados, utilizando-se fibroscópio (Olympus modelo GIF-PQ 20, Olympus Optical do Brasil, Ltda¹) sendo considerados achados compatíveis com afecções do trato respiratório posterior a presença de exsudato na traqueia, com ou sem hiperemia e/ou facilidade na provocação de tosse pela presença do endoscópio nesta região¹³. As alterações encontradas foram classificadas de acordo com a gravidade do processo em: - (inexistente), + (leve), ++ (moderada) e intensa (+++).

A diferença máxima de pressão intrapleural (Δ Ppl máxima) foi indiretamente aferida conforme metodologia previamente descrita¹⁴ (Venti-graph[®], Boeringer Ingelheim, Divisão Vetmédica). Os valores até 4 cm de H₂O foram considerados normais¹⁵.

Os exames físicos foram realizados em duplicata com exceção de um animal de cada grupo. As endoscopias e mensurações da diferença de pressão intrapleural máxima foram realizadas de forma única.

O Grupo Controle foi constituído por animais que apresentaram resultados de normalidade para as funções vitais, Δ Ppl máxima (Tabela 1), assim como para percussão, ausculta pulmonar e endoscopia.

De acordo com definição clínica da DIVA⁴, os animais do Grupo Doente Assintomático apresentaram normalidade para as funções vitais, Δ Ppl máxima (Tabela 1) e percussão pulmonar. Ruído broncovascular aumentado foi detectado em oito exames (47%)

Tabela 1 - Resultado da avaliação das funções vitais (temperatura, frequência cardíaca e frequência respiratória) e da aferição da diferença de pressão intrapleural (Δ Ppl máxima) dos equinos dos grupos Controle (sadio) e Doente (com suspeita de DIVA), apresentado na forma de média \pm 1 DP - Rio de Janeiro - 2001

Grupo	N	T (°C)	FC (bpm)	FR (mpm)	Δ Ppl máxima (cm de H ₂ O)
Controle	15	37,97 \pm 0,31	35,07 \pm 3,45	11,87 \pm 3,42	2,68 \pm 0,54
Doente	17	37,61 \pm 0,25	30,88 \pm 3,64	13,29 \pm 3,93	2,78 \pm 0,67

T: temperatura; bpm: batimentos por minuto; mpm: movimentos por minuto; cm: centímetros.

e todos os animais apresentaram achados endoscópicos compatíveis com afecções do trato respiratório posterior (Tabela 2).

Os lavados broncoalveolares foram realizados em duplicata com exceção de um animal de cada grupo, com intervalos de uma semana entre as coletas. Os animais foram contidos com cachimbo e sedados com cloridrato de romifidina (Sedivet®, Boehringer Ingelheim, Divisão Vetmédica), na dosagem de 0,04 mg/kg, i.v.. Os lavados foram obtidos por meio de uma sonda de silicone (Equine bronchoalveolar lavage catheter®, Bivona, Smiths Medical PM, Inc.) segundo a técnica descrita na literatura¹⁶. As amostras foram consideradas adequadas quando um mínimo de 40% do volume infundido havia sido recuperado⁵ junto ao surfactante.

O fluido aspirado foi mantido refrigerado até o processamento, o qual foi realizado no Laboratório Clínico Veterinário da Faculdade de Veterinária da UFF/RJ, até quatro horas após a coleta.

As características macroscópicas do lavado (coloração, turbidez, número e tamanho de partículas) foram classificadas aplicando-se um escore¹⁷ (Tabela 3) e o valor final atribuído para cada amostra foi decorrente do somatório dos valores atribuídos para cada característica.

Para a contagem diferencial de células nucleadas (CDCN), alíquotas de 200 µl da suspensão celular do lba foram submetidas à citocentrifugação (Citospyn®, incibrás, Fanem) à 28 g durante seis minutos. Nas lâminas coradas segundo o método de Rosenfeld¹⁸, foram analisados os tipos celulares após a contagem de

Tabela 2 – Alterações clínicas das vias aéreas de equinos de policiamento urbano observadas à endoscopia. Os achados encontrados foram classificados de acordo com a gravidade do processo - Rio de Janeiro - 2001

Animal	Secreção traqueal		Hiperemia		Tosse
	mucosa	hemorrágica	Laríngea	Traqueal	
609	+	-	-	-	-
614	+	-	-	+	++
300	+	-	-	-	-
123	+	+	-	-	-
627	++	-	-	-	-
105	+	-	-	-	-
682	+	-	-	-	-
612	+ *	-	+	-	++
642	+	-	-	-	-

-. inexistente; +: leve; ++: moderada; +++: intensa; *: com presença de grumos.

Tabela 3 – Características macroscópicas do LBA de cavalos segundo McKane et al.²¹ e modificado por Mori¹⁷

Escore	Característica do Lavado Broncoalveolar		
	Coloração	Turbidez	Nº e tamanho de partículas mucoides
0	Ausente	Transparente	Ausente
1	Rosa	Translúcido	Poucas partículas pequenas
2	Vermelho	Turvo	Muitas partículas pequenas
3	Vermelho escuro	Opaco	Muitas partículas grandes

600 células com aumento de 1000x. Foram incluídos no grupo os animais que apresentaram contagem de neutrófilos até 4%, linfócitos de 17,0 a 56,7%, macrófagos de 29 a 75,7%, eosinófilos até 0,7%, mastócitos de 0,7 a 13,7% e células epiteliais até 3,3%¹⁹ e no grupo doente aqueles que apresentaram contagem de neutrófilos maior que 5% e menor que 25%²⁰

Os dados de escore foram submetidos à transformação logarítmica. As demais variáveis e as variáveis transformadas foram submetidas a análises de variância, onde foi adotado nível de significância de 5%. as análises estatísticas foram realizadas utilizando-se o programa computacional BioEstat.

Os procedimentos experimentais que envolveram manipulação dos animais foram realizados de acordo com normas éticas.

Resultados e Discussão

A análise dos resultados revelou diferença significativa no escore ($4,07 \pm 1,39$ no grupo Doente contra $2,87 \pm 0,64$ no Controle; $P = 0,0014$); onde este aumento, no grupo doente, provavelmente se deve ao aumento da celularidade e da presença de secreções. O valor no grupo Controle estava abaixo do que já foi previamente relatado para cavalos de corrida²¹. Esta divergência pode estar relacionada ao fato desses autores terem trabalhado com animais sem aparentes problemas de desempenho, mas que apresentaram Hemorragia Pulmonar Induzida por Esforço e algum

grau de inflamação pulmonar. Por outro lado, ficou acima do valor de 0,48 encontrado para animais hípidos¹⁷, fato esse que pode ser devido a diferenças de celularidade nos lavados. Em animais normais, o LBA é discretamente turvo²², fato que também foi verificado neste trabalho.

Os valores relativos das contagens diferenciais dos tipos celulares estão apresentados na tabela 4, havendo diferença significativa para: neutrófilos ($P < 0,0001$), macrófagos espumosos ($P < 0,0001$), células epiteliais ($P = 0,0048$) e macrófagos totais ($P = 0,0001$), sendo que apenas o valor deste último tipo celular foi maior no grupo controle.

Valores de neutrófilos abaixo e acima da média encontrada nesse trabalho, para animais sadios, já foram descritos na literatura^{23,24}. Isto pode ser explicado pelo efeito da infusão e, por conseguinte, da recuperação de diferentes volumes sobre a composição celular do LBA. Uma maior percentagem de neutrófilos e menor de mastócitos foram verificadas quando comparados volumes infundidos de 50 e 350 mL de solução fisiológica 0,9%, sendo o volume médio recuperado respectivamente de $15,9 \pm 4,6$ mL e $252,3 \pm 31,5$ mL²⁵.

À semelhança do que ocorreu com os linfócitos, a redução no percentual de macrófagos no grupo Doente, mesmo tendo sido significativa ($P = 0,0001$) também pode ter sido em função de variações nas proporções das populações celulares, uma vez que os valores encontrados para ambos os grupos estão em conformi-

Tabela 4 – Resultados da contagem diferencial de células presentes no lavado broncoalveolar dos equinos dos grupos experimentais expressos em valores percentuais médios \pm 1 DP - Rio de Janeiro - 2001

	Neutrófilo	Linfócito	Total de Macrófagos	Hemossiderófagos*	Macrófagos espumosos*	Célula Gigante	Eosinófilo	Mastócito	Célula Epitelial
Controle (n = 15)	2,35 \pm 1,20 ^a	41,33 \pm 9,60 ^a	53,11 \pm 7,85 ^a	1,69 \pm 4,23 ^a	6,00 \pm 7,15 ^a	0,21 \pm 0,37 ^a	0,42 \pm 1,02 ^a	2,43 \pm 2,30 ^a	0,23 \pm 0,43 ^a
Doente (n = 17)	15,08 \pm 8,59 ^b	35,91 \pm 10,43 ^a	41,14 \pm 7,45 ^b	1,01 \pm 2,00 ^a	25,06 \pm 13,94 ^b	0,48 \pm 0,58 ^a	1,19 \pm 1,85 ^a	3,19 \pm 2,28 ^a	2,98 \pm 3,46 ^b
	p < 0,0001	p = 0,1378	p = 0,0001	p = 0,5573	p < 0,0001	p = 0,1346	p = 0,1601	p = 0,3599	p = 0,0048

Letras diferentes em cada coluna representam diferenças estatisticamente significativas (ANOVA; $p < 0,05$). * Porcentagem em relação ao total de macrófagos.

dade com a literatura consultada²⁶. Porém, em cavalos utilizados em competições de trote apresentando má performance e DIVA assintomática foram descritos perfis celulares com aumentos de neutrófilos, linfócitos e macrófagos em associação ou não²⁷.

Macrófagos alveolares de animais sadios apresentam uma discreta vacuolização citoplasmática²⁸. Uma vez que macrófagos espumosos são compatíveis com estados de ativação e estão presentes em processos inflamatórios alérgicos pulmonares²⁹, assim como em animais com DIVA²¹, o aumento destas células no grupo Doente corrobora com as informações acima e indica que realmente existe discreto processo inflamatório no trato respiratório posterior.

Células multinucleadas podem aparecer em resposta a uma irritação não específica e sugerem um processo granulomatoso ou inflamatório crônico³⁰. A presença de tais células em animais sadios já foi assinalada^{22,31} e o aumento na contagem destas é considerado evidência de DIVA⁹. Ainda que o valor para o grupo Doente tenha sido maior (Tabela 4) a ausência de diferença significativa ($P = 0,1346$) pode ser justificada pelo fato da inflamação não ter sido tão intensa a ponto de haver necessidade de fusão de células para o combate aos agentes agressores.

Mesmo não havendo diferença significativa ($P = 0,1601$), os valores relativos para eosinófilos no grupo Doente foram praticamente o triplo do valor para o grupo Controle. Este quadro citológico também foi descrito por outros autores^{26,29} quando avaliaram animais com DIVA. Nos processos inflamatórios alérgicos, o infiltrado eosinofílico é tardio em relação ao de mastócitos, dessa forma o aumento de eosinófilos nesses animais pode ser justificado em função da idade (animais maduros) e, por conseguinte, do longo tempo de exposição aos agentes etiológicos da DIVA.

O aumento significativo na contagem de células epiteliais ($P = 0,0048$) pode estar relacionado ao trauma de coleta ou às infecções virais, mas também ocorrem em casos de ORVA ou DIVA³². Este aumento pode

estar relacionado a aumento na taxa de renovação celular do epitélio respiratório, decorrente do processo inflamatório instalado.

Ainda que as diferenças encontradas possam ter ocorrido em função dos locais onde os animais foram mantidos (Regimento de Cavalaria de Guardas *versus* Regimento de Polícia Montada), a semelhança no manejo, no padrão racial (mestiços) e na idade; além da proximidade geográfica dos quartéis, e por conseguinte mesma condição climática atmosférica, minimiza esta possibilidade. Além disso, como já foram previamente encontrados altos percentuais de animais apresentando quadros citopatológicos compatíveis com processos inflamatórios pulmonares nessa população^{1,7}, optou-se por utilizar os animais do RCGd para compor o grupo controle.

O exercício físico facilita a detecção das manifestações clínicas importantes para o direcionamento do diagnóstico. No policiamento urbano geralmente os animais não são exigidos fisicamente, portanto, mesmo que apresentem quadros inflamatórios como os aqui diagnosticados, esses podem não demonstrar manifestações clínicas. Esta situação é semelhante ao que foi verificado para animais de passeio, onde um grau relativamente moderado de inflamação não foi clinicamente detectável³³.

A intensa exposição a poluentes atmosféricos, durante o policiamento urbano, é provavelmente um importante fator de risco para a enfermidade aqui diagnosticada. Diferentemente do que foi observado por Costa e Macoris⁸, que não encontram diferenças entre os animais de ronda e os baixados, este fato pode estar relacionado às melhores condições ambientais do Distrito Federal e/ou a metodologia de coleta empregada, uma vez que os valores encontrados pelos autores diferem inclusive dos internacionalmente aceitos para cavalos sadios⁵.

Os trabalhos de pesquisa já desenvolvidos no Brasil^{1,3,7,8,31} reforçam observações prévias sobre a sensibilidade do LBA para o diagnóstico de enfermidades

das vias aéreas posteriores de equinos⁶. Estes fatos representam um avanço na abordagem diagnóstica dentro da clínica médica de equinos em nosso País

Embora na maioria das vezes animais de policiamento não sejam exigidos fisicamente, algumas situações como controle de multidões em grandes eventos exige esforço físico do animal e nestas situações, uma plena condição respiratória é importante para o bom desempenho da atividade. Além disso, enfermidades inflamatórias pulmonares pré-existentes também podem agravar e prolongar o curso de quadros infecciosos. Estes fatos podem vir a provocar um descarte precoce e necessidade de reposição do animal. Portanto,

o tratamento é necessário não somente pela melhora na qualidade de vida dos animais, mas também para um melhor aproveitamento econômico do plantel.

Conclusão

Frente ao caráter assintomático da doença inflamatória das vias aéreas dos equinos de policiamento, a utilização do lavado broncoalveolar como método diagnóstico é fundamental, pois permite reconhecer, tratar e determinar uma utilização mais racional desses animais, de modo a melhorar a qualidade de vida e prolongar a utilização dos mesmos em serviço.

Referências

1. AMARAL, P. C.; GRAÇA, F. A. S.; VIANNA, L. F. C. G.; BORGES, J. R. J.; FERREIRA, A. M.; PIRES, N. R.; VOSS, C. Doença pulmonar obstrutiva crônica em equinos da Polícia Militar do Estado do Rio de Janeiro. *Revista Brasileira de Ciência Veterinária*, v. 6, n. 2, p. 77-83, 1999.
2. HODGSON, J. L.; HODGSON, D. R. Inflammatory airway disease. In: LEKEUX, P. **Equine respiratory disease**. Ithaca: International Veterinary Information Service, 2002. Disponível em: <http://www.ivis.org/special_books/Lekeux/hodgson/chapter_frm.asp?LA=1>. Acesso em: 11 set. 2003.
3. LESSA, D. A. B. **Doença inflamatória das vias aéreas (DIVA) em equinos de policiamento na cidade do Rio de Janeiro, RJ**: estudo clínico e da atividade macrofágica alveolar. 2003. 102 f. Tese (Doutorado em Clínica Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2003.
4. ROBINSON, N. E. Inflammatory airway disease: defining the syndrome. Conclusions of the Havemeyer workshop. *Equine Veterinary Education*, v. 15, n. 2, p. 61-63, 2003.
5. ROBINSON, N. E. International workshop on equine chronic airway disease. *Equine Veterinary Journal*, v. 33, n. 1, p. 5-19, 2001.
6. COUËTIL, L. L.; ROSENTHAL, F. S.; DENICOLA, D. B.; CHILCOAT, C. D. Clinical signs, evaluation of bronchoalveolar lavage fluid, and assessment of pulmonary function in horses with inflammatory respiratory disease. *American Journal of Veterinary Research*, v. 62, n. 4, p. 538-546, 2001.
7. LESSA, D. A. B.; VIANA, E. B.; ABRAMOVITC, G.; PAIVA, V. S.; FERNANDES, W. R. Aspectos citológicos do lavado broncoalveolar de equinos da Polícia Militar do Estado do Rio de Janeiro. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 29., 2002, Gramado. *Anais... Porto Alegre: Sociedade de Veterinária do Rio Grande do Sul*, 2002. CD-ROM.
8. COSTA N. S.; MACORIS, D. G. Citologia do lavado broncoalveolar de equinos da Polícia Militar do Distrito Federal. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, v. 44, n. 4, p.268-274, 2007.
9. HOFFMAN, A. M. Bronchoalveolar lavage: sampling technique and guidelines for cytologic preparation and interpretation. *Veterinary Clinics Equine Practice*, v. 24, p. 423-435, 2008.
10. TYLER, R. D.; COWELL, R. L.; CLINKENBEARD, K. D.; MACALLISTER, C. G. Hematologic values in horses and interpretation of hematologic data. *The Veterinary Clinics of North America Equine Practice*, v. 3, n. 3, p. 461-484, 1987.
11. HOUSTON, D. M.; RADOSTITS, O. M. O exame clínico. In: RADOSTITS, O. M.; MAYHEW, I. G. J.; HOUSTON, D. M. **Exame clínico e diagnóstico em veterinária**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002. p. 81.
12. MCGORUM, B. C.; DIXON, P. M.; RADOSTITS, O. M.; ABBOTT, J. A. Exame clínico do trato respiratório. In: RADOSTITS, O. M.; MAYHEW, I. G. J.; HOUSTON, D. M. **Exame clínico e diagnóstico em veterinária**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002. p. 231-269.
13. DIXON, P. M. Ancillary diagnostic techniques for the investigation of equine pulmonary disease. *Equine Veterinary Education*, v. 9, n. 2, p. 72-80, 1997.
14. DEEGEN, E.; KLEIN, H. K. Intrapleural pressure measurement and bronchial spasmolysis tests in the horse performed with a transportable oesophageal pressure measuring instrument. *Pferdeheilkunde*, v. 3, n. 4, p.213-221, 1987.
15. SANCHES, A. **Avaliação citológica do lavado traqueobrônquico de equinos clinicamente sadios e daqueles portadores de afecções do sistema respiratório**. 1998. 148 f. Dissertação (Mestrado em Clínica Veterinária) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1998.
16. HOFFMAN, A. M.; VIEL, L. Techniques for sampling the respiratory tract of horses. *The Veterinary Clinics of North America Equine Practice*, v. 13, n. 3, p. 463-475, 1997.
17. MORI, E. **Avaliação da função dos macrófagos alveolares após infecção experimental em cavalos (*Equus caballus* - L.) por herpesvírus equino tipo 1 (HVE-1)**. 2000. 98 f. Dissertação (Mestrado em Clínica Veterinária) - Faculdade de

- Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2000.
18. ROSENFELD, G. Corante pancrômico para hematologia e citologia clínica. Nova combinação dos componentes do May-Grunwald e do Giemsa num só corante de emprego rápido. **Memórias do Instituto Butantã**, v. 20, p. 329-335, 1947.
 19. MCGORUM, B. C.; DIXON, P. M.; HALLIWELL, R. E. W.; IRVING, P. Comparison of cellular and molecular components of bronchoalveolar lavage fluid harvested from different segments of the equine lung. **Research in Veterinary Science**, v. 55, n. 1, p. 57-59, 1993.
 20. HOFFMAN, A. M. Inflammatory airway diseases: definitions and diagnosis in the performance horse. In: ROBINSON, N. E. **Current therapy in equine medicine**. 5. ed. Missouri: Saunders, 2003. p. 412-416.
 21. MCKANE, S. A.; CANFIELD, P. J.; ROSE, R. J. Equine bronchoalveolar lavage cytology: survey of thoroughbred racehorses in training. **Australian Veterinary Journal**, v. 70, n. 11, p. 401-404, 1993.
 22. MCGORUM, B. C.; DIXON, P. M. The analysis and interpretation of equine bronchoalveolar lavage fluid (BALF) cytology. **Equine Veterinary Education**, v. 6, n. 4, p. 203-209, 1994.
 23. COUËTIL, L. L.; DENICOLA, D. B. Blood gas, plasma lactate and bronchoalveolar lavage cytology analyses in racehorses with respiratory disease. **Equine Veterinary Journal**, v. 31, n. 530, p. 77-82, 1999. Supplement.
 24. 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.
 25. 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.
 26. FERRO, E.; FERRUCCI, F.; ZUCCA, E.; DI FABIO, V.; CASTOLDI, S. Arterial blood gas analysis in 53 racehorses with diagnosis of small airway inflammatory disease (SAID). **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 22, n. 4, p. 165-168, 2002.
 27. PIRRONE, F.; ALBERTINI, M.; CLEMENT, M. G.; LAFORTUNA, C. L. Respiratory mechanics in standardbred horses with sub-clinical inflammatory airway disease and poor athletic performance. **The Veterinary Journal**, v. 173, n. 1, p. 144-150, 2007.
 28. MOORE, B. R. Lower respiratory tract disease. **The Veterinary Clinics of North America Equine Practice**, v. 12, n. 3, p. 457-472, 1996.
 29. FREEMAN, K. P.; ROSZEL, J. F. Equine cytology patterns in respiratory conditions of noninfectious or unknown origin. **The Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian**, v. 19, n. 6, p. 755-763, 1997.
 30. BEECH, J. Cytology of tracheobronchial aspirates in horses. **Veterinary Pathology**, v. 12, n. 3, p. 157-164, 1975.
 31. FERNANDES, W. R.; MORI, E.; SANCHES, A. Avaliação citológica de lavados traqueobrônquico e broncoalveolar em cavalos clinicamente sadios pelo método de coloração de Rosenfeld. **Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 52, n. 6, p. 604-609, 2000.
 32. HEWSON, J.; VIEL, L. Sampling and cytology of the respiratory tract. In: LEKEUX, P. **Equine respiratory disease**. Ithaca: International Veterinary Information Service, 2002. Disponível em: <http://www.ivis.org/special_books/Lekeux/viel/chapter_frm.asp?LA=1>. Acesso em: 11 set. 2003.
 33. HOLCOMBE, S. J.; JACKSON, C.; GERBER, V.; JEFCOAT, A.; BERNEY, C.; EBERHARDT, S.; ROBINSON, N. E. Stabling is associated with airway inflammation in young Arabian horses. **Equine Veterinary Journal**, v. 33, n. 3, p. 244-249, 2001.