DAYANE AMORIM DE OLIVEIRA ARAUJO

**Biópsia retal: avaliação da técnica e dos achados histopatológicos
em equinos clinicamente saudáveis ou com alterações do trato
gastrointestinal**

São Paulo

2014

DAYANE AMORIM DE OLIVEIRA ARAUJO

**Biópsia retal: avaliação da técnica e dos achados histopatológicos
em equinos clinicamente saudáveis ou com alterações do trato
gastrintestinal**

Dissertação apresentada ao Programa de
Pós-graduação em Clínica Veterinária da
Faculdade de Medicina Veterinária e
Zootecnia da Universidade de São Paulo
para obtenção do título de Mestre em
Ciências

Departamento:

Clínica Médica

Área de concentração:

Clínica Veterinária

Orientador:

Prof^a. Dr^a. Carla Bargi Belli

São Paulo

2014

Autorizo a reprodução parcial ou total desta obra, para fins acadêmicos, desde que citada a fonte.

BIBLIOTECA VIRGINIE BUFF D'ÁPICE
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA
E ZOOTECNIA DA USP
28/12/14

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO-NA-PUBLICAÇÃO

(Biblioteca Virginie Buff D'Ápice da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da
Universidade de São Paulo)

T.2951
FMVZ

Araujo, Dayane Amorim de Oliveira

Biópsia retal: avaliação da técnica e dos achados histopatológicos em equinos clinicamente saudáveis ou com alterações do trato gastrointestinal / Dayane Amorim de Oliveira Araujo. -- 2014.

107 f. : il.

Dissertação (Mestrado) - Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Departamento de Clínica Médica, São Paulo, 2014.

Programa de Pós-Graduação: Clínica Veterinária.

Área de concentração: Clínica Veterinária.

Orientador: Profa. Dra. Carla Bargi Belli.

1. Biópsia retal. 2. Histopatologia. 3. Diarreia. 4. Emagrecimento progressivo. 5. Linfoma.
I. Título.

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

Comissão de Ética no Uso de Animais

CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto intitulado "Biópsia retal: avaliação da técnica e dos achados histopatológicos em equinos clinicamente saudáveis ou com alterações do trato gastrointestinal", protocolado sob o nº 2276/2011, utilizando 70 (setenta) cavalos, sob a responsabilidade do(a) Profa. Dra. Carla Bargi Belli, está de acordo com os princípios éticos de experimentação animal da "Comissão de Ética no uso de animais" da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo e foi aprovado em reunião de 17/8/2011.

We certify that the Research "Evaluation of rectal biopsy in horses and its the diagnosis of gastrointestinal diseases", protocol number 2276/2011, utilizing 70 (seventy) horses, under the responsibility Profa. Dra. Carla Bargi Belli, agree with Ethical Principles in Animal Research adopted by "Ethic Committee in the use of animals" of the School of Veterinary Medicine and Animal Science of University of São Paulo and was approved in the meeting of day 8/17/2011.

São Paulo, 26 de fevereiro de 2014.

Denise Tabacchi Fantoni
Presidente

FOLHA DE AVALIAÇÃO

Autor: ARAUJO, Dayane Amorim de Oliveira

Título: Biópsia retal: avaliação da técnica e dos achados histopatológicos em equinos clinicamente saudáveis ou com alterações do trato gastrointestinal

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Clínica Veterinária da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências

Data: ____ / ____ / ____

Banca examinadora

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Dedico a um grande homem, meu avô, Salvador Amorim (in memoriam), desbravador, amigo, companheiro, sincero e que constituiu uma família da qual tenho muito orgulho de fazer parte. O meu mais profundo respeito e o meu amor a um grande homem, um grande patriarca, da qual, sinto uma imensa e profunda saudade.

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, agradeço a Deus que me fortaleceu e me guiou durante esta longa caminhada, e que colocou pessoas tão especiais ao meu lado. Obrigada Senhor por todas as bênçãos derramadas sobre a minha vida.

Aos meus pais, por me terem dado educação, valores e me ensinado a caminhar. Ao meu pai, Pedro, pela força, coragem e luta para nos dar sempre o melhor, pelas gratas surpresas que sempre me proporcionou e pelo amor, carinho e respeito. À minha mãe, Nerli, pela dedicação completa às filhas em todo tempo, sempre disposta a tudo para nos ajudar, pelo cuidado e amor incondicional. Meu infinito agradecimento.

Ao meu marido Nickolas, meu companheiro e amigo, por ser tão importante na minha vida, por ter suportando tantos momentos de distância, pela paciência, compreensão e amor. Obrigada por nesta fase final, quando as minhas forças estavam no fim, ter ficado ao meu lado, me pondo para cima e fazendo acreditar que podia conseguir.

As minhas queridas irmãs Brunna e Alessandra, vocês são a minha metade, obrigada pelas incansáveis conversas noite afora, pelo carinho, preocupação e amor. Apesar de distantes e cada uma em um lugar diferente, isto só tem fortalecido mais a união entre nós.

A minha segunda mãe, Sandrinha, por ter dedicado a sua vida inteira para cuidar de mim e das minhas irmãs, muito do que eu aprendi foi com você e não tenho como te agradecer por tudo sempre.

A todos os meus familiares, vocês são a minha base, minha alegria, obrigada por serem tão amorosos... Em especial a minha Vó Alenir, mulher guerreira e batalhadora, pelos momentos de descontração proporcionados e pelas comidinhas que só você sabe fazer.

Aos meus queridos sogros, Osório e Sonilda por todo carinho e torcida.

À minha amiga de sempre, Lilian Dias, por só querer o meu bem e me valorizar tanto como pessoa. Obrigada pela amizade!

A minha orientadora, Profa. Carla Bargi Belli por ter aceitado me orientar, mesmo não me conhecendo, por confiar na minha capacidade, pelos ensinamentos e pela compreensão nos momentos difíceis pelos quais passei.

A Profa. Lilian Rose Marques de Sá pelo apoio e sabedoria, pelo conhecimento transmitido e pela colaboração que foi fundamental para a realização deste trabalho.

A todos os professores da FMVZ/USP que fizeram parte da minha caminhada até aqui (Profa. Raquel Y. A. Baccarin, Prof. Luis Claudio L. C. Silva, Prof. Stefano Hagen, Profa. Denise Fantoni e a Profa. Maria Claudia Araripe Sucupira), obrigada por tantos ensinamentos. Em especial, ao Prof. Wilson Roberto Fernandes, pela acolhida e carinho dispensados a mim desde que cheguei a esta faculdade, pela convivência e pelo exemplo de pessoa e profissional que é.

Ao Departamento de Reprodução (VRA) em nome da Profa. Eneiva Carla Carvalho Celeghini e a Profa. Claudia Barbosa Fernandes pelo empréstimo da pinça de biópsia para a realização do projeto.

A todos os residentes do Hospital Veterinário de Equinos com os quais convivi deste a época do estágio supervisionado em 2008, e depois durante os últimos quatro anos (2010, 2011, 2012 e 2013). Não vou citar nomes, pois são muitos; mas agradeço a todos pelos momentos de diversão, pelas companhias nos longos plantões noturnos e pela convivência.

Aos meus amigos, Carolina Bonomo, Patrícia Miyashiro e Paolo Soares, que conheci logo no início desta caminhada, que me ajudaram e me apoiaram antes do começo da pós-graduação. Obrigada pelo carinho e amizade.

Aos meus amigos de pós-graduação, dos quais, desde já sinto falta pelas conversas, companheirismo, ajudas, pelos momentos tristes e alegres: Ana Paula Moraes, Juliana Junqueira, Tiago Oliveira, Cristina Mantovani, Maria Letícia Piffer, Paulo Bogossian, Talissa Rezende, Daniela Lima, Marilene Machado, Fernanda Stievani, Kaio, Dácio Dias e Joice Fulber. Saibam que vocês foram essenciais em todo este processo, não tenho como agradecer tanto carinho e amizade.

Um OBRIGADA especial, aos que me acolheram durante estes setes meses, nas suas casas (Maria Letícia, Ana e Tiago, Talissa, Paulinho e Fernanda, Marilene e Juliana), praticamente cada mês em uma, não tenho palavras para agradecer o quanto isto me ajudou na conclusão deste projeto, não apenas me motivando para terminá-lo como também alegrando os meus duros dias em São Paulo. Vocês são ótimos!!!!

Aos funcionários do hospital de equinos, Gervázio, Rosendo, Cícero, Henrique e Marcos.

A todos os equinos que participaram deste projeto. E aos que me fizeram querer aprender mais e mais dentro da medicina veterinária; Wanessa, Billy e Rudolph, que foram e sempre serão animais mais que especiais.

Agradeço a CAPES pela bolsa concedida,

Finalmente, gostaria de agradecer à Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da USP e ao departamento de Clínica Médica por abrirem as portas para que eu pudesse realizar este sonho. Proporcionaram-me mais que a busca de conhecimento técnico e científico, mas uma LIÇÃO DE VIDA.

Me perdoe se esqueci de mencionar alguém,
Mas a todos, enfim, reitero o meu apreço e a minha eterna gratidão.

Não to mandei eu?
Esforça-te, e tem bom ânimo; não temas, nem te espantes;
porque o Senhor teu Deus é contigo,
por onde quer que andares.

Josué 1:3-9

RESUMO

ARAUJO, D. A. O. **Biópsia retal:** avaliação da técnica e dos achados histopatológicos em equinos clinicamente saudáveis ou com alterações do trato gastrointestinal. [Rectal biopsy: technique assessment and histopathologic findings in clinically healthy horses or with clinical signs of intestinal disorders]. 2014. 107 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2014.

O objetivo do trabalho foi avaliar a técnica de biópsia retal em equinos e as alterações histopatológicas encontradas na mucosa retal em animais clinicamente saudáveis e em animais com alterações do trato gastrointestinal. Foram utilizados 32 equinos divididos em três grupos: 10 animais clinicamente saudáveis (grupo 1), sete animais com alterações do trato gastrointestinal com diagnóstico estabelecido (grupo 2) e 15 animais com manifestações clínicas inespecíficas do trato gastrointestinal (grupo 3). Os equinos do grupo 1 foram biopsiados duas vezes, a segunda biópsia sendo realizada 48 horas após a primeira. As biópsias retais foram realizadas com os animais em estação, utilizando-se pinça de biópsia tipo jacaré. As amostras de mucosa retal foram coradas por hematoxilina-eosina (HE), azul de alciano com ácido periódico de Schiff a 2,5% e azul de toluidina. No grupo 1, não foram observadas diferenças significativas entre a primeira e a segunda biópsia, mas três equinos apresentaram pequenas alterações que podem ser decorrentes da palpação retal. Na primeira avaliação, sete animais desse grupo apresentaram padrão semelhante, permitindo estabelecer um padrão de normalidade histológica para a mucosa retal: epitélio superficial preservado; criptas uniformes e alinhadas perpendicularmente à superfície com grande número de células caliciformes com mucinas ácidas em maior quantidade; linfócitos intra-epiteliais na superfície do epitélio em número de até 15 linfócitos para cada 100 colonócitos; pequeno número de linfócitos, plasmócitos e eosinófilos infiltrando a lâmina própria e a submucosa. Os outros três equinos deste grupo apresentaram um aumento na intensidade das células inflamatórias (discreto a moderado na intensidade de linfócitos e plasmócitos na lâmina própria e submucosa, e moderado na intensidade dos eosinófilos na submucosa). Os equinos do grupo 2, todos com síndrome cólica, apresentaram as seguintes alterações histopatológicas: proctite linfoplasmocítica simples (4/7) e proctite eosinofílica (1/7). No grupo 3 (12 equinos com diarreia crônica e três com emagrecimento progressivo), apenas um animal apresentou mucosa retal com padrão de

normalidade. Nos outros animais foram observadas: proctite linfoplasmocítica simples (6/15), proctite erosiva (3/15), proctite linfoplasmocítica com aumento de neutrófilos (2/15), proctite eosinofílica (2/15), proctite linfoplasmocítica com aumento de neutrófilos e eosinófilos (1/15) e infiltração por linfócitos atípicos/linfoma (1/15). Concluiu-se que: a técnica de biópsia retal avaliada é de fácil execução e segura; embora algumas alterações histológicas possam ser observadas na mucosa retal de equinos clinicamente saudáveis, causadas ou não por palpação retal, há um padrão de normalidade que deve ser usado para a avaliação de equinos com alterações gastrintestinais; apenas em alguns casos as alterações histológicas encontradas na mucosa retal em equinos permitem um diagnóstico definitivo, mas elas podem direcionar o raciocínio diagnóstico em outros, sendo este um importante exame complementar a ser indicado em casos de equinos com alterações gastrintestinais inespecíficas.

Palavras-chave: Biópsia retal. Histopatologia. Diarreia. Emagrecimento progressivo.
Linfoma

ABSTRACT

ARAUJO, D. A. O. **Rectal biopsy:** technique assessment and histopathologic findings in clinically healthy horses or with clinical signs of intestinal disorders. [Biópsia retal: avaliação da técnica e dos achados histopatológicos em equinos clinicamente saudáveis ou com alterações do trato gastrointestinal]. 2014. 107 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2014.

The purpose of this study was to assess the rectal biopsy technique in horses and the histopathological changes found in the rectal mucosa in clinically healthy animals and in animals with clinical signs of intestinal disorders. 32 horses were divided into three groups: 10 animals clinically healthy (group 1), seven animals with gastrointestinal disorders with an established diagnosis (group 2) and 15 animals with nonspecific clinical manifestations of the gastrointestinal tract (group 3). The horses in group 1 had two biopsies, the second biopsy was performed 48 hours after the first. Rectal biopsies were performed on the animals station, using alligator biopsy forceps. The samples of rectal mucosa were stained with hematoxylin and eosin (HE), alcian blue PAS pH 2.5% and toluidine blue. In group 1, no significant differences between the first and second biopsy were observed, but three horses showed small changes that may result from rectal palpation. In the first evaluation, seven animals of this group showed a similar pattern, establishing a standard of normality for histological rectal mucosa: Surface epithelial preserved; crypts of uniform length, diameter and perpendicular arrangement to the surface with acid mucins strongly dominated over neutral mucins in the goblet cell population; intraepithelial lymphocytes in the surface of the epithelium with sparse population of approximately 15 cells per stretch of 100 epithelial cells; sparse individual lymphocytes, plasma cells and eosinophils infiltrating the lamina propria and submucosa. The other three horses in this group had an increase in the intensity of inflammatory cells (mild to moderate in intensity of lymphocytes and plasma cells in the lamina propria and submucosa, and moderate intensity of eosinophils in the submucosa). The horses in group 2, all with colic syndrome, showed the following pathological changes: simple lymphocytic-plasmacytic proctitis (4/7) and eosinophilic proctitis (1/7). In group 3 (12 horses with chronic diarrhea and three with progressive weight loss), only one animal showed rectal mucosa with normal histology. It was observed in the other animals: simple lymphocytic-plasmacytic proctitis (6/15), erosive proctitis (3/15), lymphocytic-

plasmacytic proctitis with increased neutrophils (2/15), eosinophilic proctitis (2/15), lymphocytic-plasmacytic proctitis with increased neutrophils and eosinophils (1/15) and atypical lymphocytes infiltration/lymphoma (1/15). It was concluded that: the rectal biopsy technique evaluated is effective and safe; although some histological changes can be observed in the rectal mucosa of clinically healthy horses, whether or not caused by rectal palpation, there is a normal range that should be used to the evaluation of horses with gastrointestinal disorders; only in some cases the histological changes found in the rectal mucosa in horses allow a definitive diagnosis, but they can lead to a diagnostic logic in others, which is an important complementary test to be indicated in cases of horses with nonspecific gastrointestinal disturbances.

Keywords: Rectal Biopsy. Histopathology. Diarrhea. Weight loss. Lymphoma.

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 -	Diagnósticos histopatológicos da primeira e segunda biópsia retal dos equinos clinicamente saudáveis (Grupo 1)	46
Quadro 2 -	Diagnósticos histopatológicos da biópsia retal dos equinos com alterações do trato gastrintestinal (Grupo 2)	51
Quadro 3 -	Diagnósticos histopatológicos da biópsia retal dos equinos com manifestações clínicas de doenças do TGI (Grupo 3)	56
Quadro 4 -	Exames complementares realizados nos animais do Grupo 3 e sua relação com o diagnóstico	59

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Fotomicrografia da mucosa retal do equino 2A (1ª biópsia) do Grupo 1.(histologia retal normal).....	60
Figura 2 -	Fotomicrografia da mucosa retal do equino 8A (1ª biópsia) Grupo 1 com diagnóstico de Proctite linfoplasmocítica com aumento de eosinófilos.....	60
Figura 3 -	Fotomicrografia da mucosa retal do equino 8A (1ª biópsia) Grupo 1 com diagnóstico de Proctite linfoplasmocítica com aumento de eosinófilos.....	61
Figura 4 -	Fotomicrografia da mucosa retal do equino 1 (1ª biópsia e 2ª biópsia) do Grupo 1.....	61
Figura 5 -	Fotomicrografia da mucosa retal do equino 4B (2ª biópsia) Grupo 1 com diagnóstico de proctite linfoplasmocítica com aumento de neutrófilos.....	62
Figura 6 -	Fotomicrografia da mucosa retal do equino B1 (Grupo 2) com diagnóstico de proctite linfoplasmocítica e peritonite fibrinoneutrofílica bacteriana.....	62
Figura 7 -	Fotomicrografia da mucosa retal do equino B2 (Grupo 2) com diagnóstico de proctite eosinofílica.....	63
Figura 8 -	Fotomicrografia da mucosa retal do equino C5 (Grupo 3) com diagnóstico de proctite linfoplasmocítica simples.....	63
Figura 9 -	Figura 9 – Fotomicrografia da mucosa retal do equino C10a (1ª biópsia) do Grupo 3 com diagnóstico de proctite erosiva.....	64
Figura 10 -	Fotomicrografia da mucosa retal do equino C10b (2ª biópsia) do Grupo 3 com diagnóstico de proctite linfoplasmocítica simples.....	64
Figura 11 -	Fotomicrografia da mucosa retal do equino C8 (Grupo 3) com diagnóstico de linfoma.....	65

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

TGI	trato gastrintestinal
DII	doença inflamatória intestinal
ELP	enterite linfoplasmocítica
EG	enterite granulomatosa
EE	enterite eosinofílica
MEED	doença epiteliotrópica eosinofílica multissistêmica
LIE	linfócitos intra-epiteliais
HE	Hematoxilina eosina
LP	lâmina própria

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	19
2	REVISÃO DE LITERATURA	21
2.1	DOENÇA INFLAMATÓRIA INTESTINAL	21
2.1.1	Enterite linfoplasmocítica	22
2.1.2	Enterite granulomatosa	23
2.1.3	Enterite eosinofílica	26
2.1.4	Doença epiteliotrópica eosinofílica multissistêmica	27
2.2	LINFOMA	29
2.2.1	Linfoma alimentar	30
2.3	CIATOSTOMÍASE	33
3	OBJETIVOS	37
3.1	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	37
4	MATERIAL E MÉTODOS	38
4.1	ANIMAIS	38
4.2	PROCEDIMENTO PARA A REALIZAÇÃO DA BIÓPSIA RETAL	38
4.3	PROCESSAMENTO HISTOLÓGICO	39
4.4	AVALIAÇÃO HISTOPATOLÓGICA	40
4.5	DELINEAMENTO EXPERIMENTAL	42
4.5.1	Animais clinicamente saudáveis: Grupo 1	42
4.5.2	Animais com alterações do trato gastrintestinal: Grupo 2	43
4.5.3	Animais com manifestações clínicas inespecíficas do TGI: Grupo 3	44
4.6	AVALIAÇÃO DOS RESULTADOS	44
5	RESULTADOS	45

5.1	ANIMAIS CLINICAMENTE SAUDÁVEIS: Grupo 1	45
5.1.1	Resultados histopatológicos	45
5.2	ANIMAIS COM ALTERAÇÕES DO TRATO GASTRINTESTINAL: Grupo 2	48
5.2.1	Resultados histopatológicos	50
5.3	ANIMAIS COM MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS INESPECÍFICAS DO TGI: Grupo 3	52
5.3.1	Resultados histopatológicos	55
6	DISCUSSÃO	66
6.1	AVALIAÇÃO DA TÉCNICA DE BIÓPSIA RETAL	66
6.2	ANIMAIS CLINICAMENTE SAUDÁVEIS: Grupo1	67
6.3	ANIMAIS COM ALTERAÇÕES DO TRATO GASTRINTESTINAL: Grupo 2	72
6.4	ANIMAIS COM MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS INESPECÍFICAS DO TGI: Grupo 3	74
7	CONCLUSÃO	89
	REFERÊNCIAS	90
	APÊNDICES	100

1 INTRODUÇÃO

Algumas manifestações clínicas inespecíficas tais como emagrecimento progressivo, cólicas recorrentes, diarreia crônica, letargia e inapetência representam ao médico veterinário de equinos um desafio na obtenção de um diagnóstico definitivo. Diversos fatores podem estar envolvidos, tais como processos inflamatórios, infecciosos, parasitários e neoplásicos, isoladamente ou em associação (ROBERTS; 2000; TAMZALI, 2006).

Informações referentes ao histórico do animal, manifestações clínicas, dados obtidos durante o exame físico e análises de diversos exames laboratoriais são usados em busca de um diagnóstico. Entre eles pode-se citar: hemograma, bioquímica sérica, coproparasitológico, cultura de fezes, avaliação do líquido peritoneal, ultrassonografia abdominal, gastroscopia, testes de absorção intestinal, laparoscopia, biópsias intestinais e laparotomia exploratória. No entanto, em muitos casos, apesar de investigações completas e detalhadas, o diagnóstico final não é estabelecido, ocorrendo somente durante o exame *post mortem*.

Após estudos publicados por Merritt, Cimprich e Beech (1976) e Traver e Thacker (1979) passaram a ser utilizados exames histopatológicos da mucosa retal dos equinos, obtidos por meio de biópsia, como um auxílio no diagnóstico de doenças gastrintestinais com manifestações clínicas inespecíficas (LINDBERG; NYGREN; PEASSON, 1996; PEARSON; REIDEL, 1998). A experiência destes trabalhos confirmou que a biópsia retal é segura, não invasiva e de baixo custo.

O estudo realizado por Lindberg, Nygren e Peasson (1996), avaliando biópsias da mucosa retal de equinos com doenças gastrintestinais, mostrou que alterações histopatológicas podem ser encontradas e que as informações obtidas podem ser relevantes para a avaliação do trato gastrintestinal (TGI) como um todo. Neste estudo, as biópsias retais de 116 equinos com manifestações clínicas de distúrbios gastrintestinais mostraram mudanças histopatológicas em 60 amostras, aproximadamente 50% dos casos, sendo que alterações semelhantes não foram observadas durante os exames dos tecidos retais de 30 equinos clinicamente saudáveis.

As alterações histopatológicas na mucosa retal com a presença de um infiltrado celular inflamatório podem consistir de distintas populações celulares, ou

pode haver um predomínio de células específicas. A questão que frequentemente se coloca é quais variações podem ser consideradas normais (KALCK, 2009).

Os diagnósticos obtidos através da biópsia retal incluem: doença inflamatória intestinal (DII), ciatostomíase e linfoma (LINDBERG; NYGREN; PEASSON, 1996; KALCK, 2009). Vários autores têm citado a biópsia da mucosa retal como um importante exame a ser utilizado na prática clínica, pois as manifestações clínicas destas enfermidades são similares, tais como emagrecimento progressivo, cólica recorrente e diarreia crônica.

Mesmo com a possibilidade de resultados falso negativos, a utilização do exame histopatológico da biópsia retal como meio de diagnóstico nestas situações pode ser promissora, pois é uma técnica de baixo custo quando comparada à laparotomia exploratória para a realização de biópsia intestinal, além de ser um procedimento menos invasivo. Além disso, nenhum relato ou experimento com biópsias retais em equinos evidenciou complicações com o procedimento.

No entanto, a biópsia retal em equinos é um procedimento pouco utilizado na rotina clínica em nosso país, sendo necessária a realização de mais estudos para avaliar as alterações histopatológicas que podem ser encontradas tanto em animais saudáveis como nos com doenças gastrintestinais, e sua importância no diagnóstico dessas doenças que apresentam manifestações clínicas inespecíficas.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 DOENÇA INFLAMATÓRIA INTESTINAL

A doença inflamatória intestinal (DII) constitui um grupo de distúrbios idiopáticos crônicos do trato gastrointestinal, caracterizados pela infiltração da lâmina própria e submucosa por células inflamatórias. O infiltrado celular pode ser de linfócitos, plasmócitos, eosinófilos, neutrófilos ou macrófagos (SCHUMACHER; EDWARDS; COHEN, 2000; MAIR; PEARSON; DIVERS, 2006).

Essa doença não é bem definida nos equinos, e sua etiologia é geralmente desconhecida. Mas suspeita-se que o processo seja oriundo da resposta imune exacerbada a um estímulo bacteriano, viral, parasitário ou relacionado com a dieta (SCHUMACHER; EDWARDS; COHEN, 2000; KALCK, 2009).

As manifestações clínicas da DII incluem emagrecimento progressivo, diarreia, dor abdominal, edema (usualmente associado à enteropatia com perdas de proteínas) e má absorção de nutrientes (SCHUMACHER; EDWARDS; COHEN, 2000).

No Brasil existem poucos relatos de doenças infiltrativas intestinais na espécie equina. Menarim et al. (2007) relataram dois casos de enterocolite linfoplasmocítica equina, sendo duas éguas quarto de milha que apresentavam perda de peso progressiva, diarreia crônica de intensidade variada, letargia, edema de regiões ventrais e hipoproteinemia. O diagnóstico foi realizado através da avaliação histopatológica de biópsia proveniente da mucosa retal no *post mortem*. Entretanto, nos Estados Unidos, a julgar pelos relatos, existe uma incidência maior de casos de doença inflamatória intestinal (SCOTT et al., 1999; SCHUMACHER; EDWARDS; COHEN, 2000).

A doença inflamatória intestinal pode ser dividida em quatro grupos: enterite linfoplasmocítica, enterite granulomatosa, enterite eosinofílica e doença multissistêmica eosinofílica epiteliotrópica (SCHUMACHER; EDWARDS; COHEN, 2000).

Geralmente as manifestações clínicas e alterações macroscópicas destas enfermidades são similares, portanto o diagnóstico final é baseado no resultado do

exame histopatológico de tecidos do trato gastrointestinal. A avaliação da biópsia da mucosa retal pode auxiliar no diagnóstico *ante mortem* destas doenças infiltrativas intestinais (LINDBERG; NYGREN; PEASSON, 1996; SCHUMACHER; EDWARDS; COHEN, 2000; KALCK, 2009). Cerca de 33% dos equinos com DII tem alterações histopatológicas nas amostras de biópsia retal, permitindo obter um diagnóstico e sendo útil na eliminação de possíveis diagnósticos diferenciais (BARR, 2006).

2.1.1 Enterite linfoplasmocítica

Enterite linfoplasmocítica (ELP) é caracterizada pelo aumento da infiltração de linfócitos e plasmócitos na mucosa intestinal, e na ausência de alterações granulomatosas (MACALLISTER et al., 1990; KEMPER et al., 2000).

Não há predisposição de idade, raça ou sexo nesta forma de DII, apesar de existirem poucos casos na literatura para uma conclusão definitiva a esse respeito (KEMPER et al., 2000; SCHUMACHER, 2003). Um estudo realizado descreve que em 14 animais que desenvolveram ELP a idade média foi de 13 anos (KEMPER et al., 2000).

A etiologia da doença permanece desconhecida. Clinicamente, a manifestação mais comum nos animais afetados é o emagrecimento progressivo (KEMPER et al., 2000), porém os animais podem apresentar diarreia e cólicas recorrentes (SCHUMACHER, 2003; MAIR; PEARSON; DIVERS, 2006).

Em outras espécies, tais como a canina, a etiologia da ELP também continua desconhecida, suspeitando-se que pode ser uma resposta imune intestinal inespecífica a uma variedade de agentes etiológicos que causam dano intestinal (SCHUMACHER; EDWARDS; COHEN, 2000; MAIR; PEARSON; DIVERS, 2006).

Exames laboratoriais podem revelar anemia e hipoalbuminemia. Na biópsia retal é necessário considerar que a presença de infiltrados de linfócitos e plasmócitos também podem ocorrer em outras doenças gastrintestinais, como é o caso da doença granulomatosa, ciatostomíase e linfoma. Portanto, uma proctite linfoplasmocítica discreta ou moderada pode não justificar o diagnóstico de ELP (LINDBERG; NYGREN; PEASSON, 1996; SCHUMACHER, 2003).

Em casos de enterite linfoplasmocítica marcante, a diferenciação com linfoma gastrointestinal em cães é difícil, pois muitos cães com linfoma também apresentam no exame histopatológico da mucosa intestinal um extenso infiltrado linfoplasmocítico. Portanto, esta forma de DII pode representar uma fase inicial do desenvolvimento tumoral. Até o momento não foi documentado que uma progressão similar possa ocorrer em equinos (SCHUMACHER, 2003; MAIR; PEARSON; DIVERS, 2006).

Um aumento de células inflamatórias na lâmina própria da mucosa intestinal pode provocar má absorção através da redução do número de células intestinais capazes de absorver os nutrientes, perda dos mecanismos de transporte celulares, bem como uma alteração do transporte de nutrientes para a corrente sanguínea (GERMAN; HALL; DAY, 2001). O teste de tolerância oral à glicose tem como objetivo avaliar a função de absorção do intestino delgado. Aproximadamente 75% dos animais com enterite linfoplasmocítica apresentaram alterações neste exame, sendo de importante valor diagnóstico nos casos de suspeita clínica de DII (KEMPER et al., 2000).

O tratamento de equinos com ELP não é bem sucedido e o prognóstico destes animais é reservado dada a avançada progressão da doença no momento do diagnóstico (SCHUMACHER, 2003). Alguns animais podem responder ao tratamento com a utilização de corticosteroides, principalmente na resolução da diarreia (KEMPER et al., 2000). Mas em todos os artigos publicados de ELP em equinos, os animais foram eutanasiados devido à falta de resposta ao tratamento e ao prognóstico reservado (MACALLISTER et al., 1990; KEMPER et al., 2000).

2.1.2 Enterite granulomatosa

Enterite granulomatosa (EG) é caracterizada por lesões granulomatosas e/ou granulomas circunscritos na mucosa e submucosa infiltrados por linfócitos, macrófagos e células epitelióides, sendo que também podem estar presentes, em número variável, plasmócitos e células gigantes inflamatórias (CIMPRICH, 1974; MEUTEN et al., 1978; LINDBERG, 1984). Pode ocorrer também atrofia das vilosidades intestinais (LINDBERG, 1984).

Tal como com as outras formas de DII, a causa é desconhecida (SWEENEY et al., 1986; MAIR; PEARSON; DIVERS, 2006; KALCK, 2009). Nenhum agente etiológico foi identificado nas enterites granulomatosas, e tem sido considerado que a doença esteja relacionada a uma reação inflamatória anormal do hospedeiro às bactérias da microbiota intestinal ou aos componentes da dieta (MAIR; PEARSON; DIVERS; 2006).

Esta condição possui algumas semelhanças com a doença de Crohn em humanos e a doença de Johne em ruminantes domésticos. A doença de Johnes é uma enterite granulomatosa causada pelo *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis*. Esta micobactéria também foi sugerida como um dos possíveis agentes etiológicos da doença de Crohn, porém ainda existem muitas controvérsias entre os pesquisadores (CUNHA; BALLUS, 2009).

Em humanos a doença de Crohn, um processo crônico inflamatório que acomete a porção terminal do íleo, ocorre devido a ativação excessiva de células T na mucosa intestinal causando uma inflamação transmural. Esta inflamação é depois amplificada e perpetuada pela liberação de citocinas pró-inflamatórias e mediadores solúveis (FIOCCHI, 1998). Mecanismos semelhantes parecem ocorrer também em equinos com enterite granulomatosa (MAIR; PEARSON; DIVERS; 2006).

Infecção experimental de equinos com *Mycobacterium paratuberculosis* resultou em lesões granulomatosas microscopicamente similares às observadas na doença de Crohn. No entanto, organismos álcool-ácido resistentes são raramente identificados na coloração de Ziehl-Neelsen em equinos afetados (MAIR; PEARSON; DIVERS; 2006).

Não há predisposição racial, sexual ou etária para o desenvolvimento de EG, no entanto esta doença é mais comum em animais jovens, entre um e cinco anos de idade (SCHUMACHER; EDWARDS; COHEN, 2000). Os animais da raça Standardbreds são os mais acometidos por EG, podendo existir uma predisposição racial no desenvolvimento da doença (SWEENEY et al., 1986; MAIR; PEARSON; DIVERS; 2006). Um estudo mostrou que mais de 80% dos casos de enterite granulomatosa ocorre em equinos Standardbreds, e cerca de 90% destes animais tinha entre um e cinco anos de idade (LINDBERG, 1984).

A maior parte dos equinos com enterite granulomatosa apresenta manifestações clínicas de emagrecimento progressivo e anorexia. Estes animais

raramente mostram outros sintomas de doença gastrointestinal, como diarreia ou dor abdominal (MAIR; PEARSON; DIVERS; 2006). Alterações dermatológicas são frequentes em animais com EG, sendo as lesões localizadas na cabeça, membros e na banda coronária do casco (MERRIT; CIMPRICH; BEECH, 1976; LINDBERG et al., 1985; SCHUMACHER; EDWARDS; COHEN, 2000).

Com relação às alterações laboratoriais encontradas, a hipoalbuminemia está presente na maior parte dos casos durante a realização do exame bioquímico sanguíneo (MERRIT; CIMPRICH; BEECH, 1976; SCHUMACHER; EDWARDS; COHEN, 2000). Testes de absorção intestinal de glicose e xilose em equinos com EG demonstrou má absorção, que ocorre devido a uma severa atrofia das vilosidades do intestino delgado, a qual reduz a área de absorção e a atividade enzimática das células (LINDBERG et al., 1985). Porém, caso a lesão não seja suficiente para provocar alteração da capacidade de absorção das vilosidades, ou em caso de lesões focais, estes testes podem não acusar alterações (SCHUMACHER, 2003).

A avaliação histopatológica da biópsia retal contribui para o diagnóstico da EG (MERRIT; CIMPRICH; BEECH, 1976; SWEENEY et al., 1986; LINDBERG; NYGREN; PEASSON, 1996). A biópsia retal pode caracterizar-se por infiltrados de macrófagos, células epitelióides e granulomas circunscritos na mucosa e submucosa intestinal. Estas alterações podem também ser detectadas nas biópsias do intestino delgado, obtidas através de laparotomia exploratória, quando alterações histopatológicas não forem observadas na biópsia retal (LINDBERG; NYGREN; PEASSON, 1996).

O tratamento de cavalos com EG inclui corticoterapia, anti-helmínticos com atividade larvicida, vitaminas, antibióticos, iodoclorohidroquina, salicilato sulfapiridina e metilsulfonilmetano (SCHUMACHER, 2003). A utilização de dexametasona por um longo período causou a remissão das manifestações clínicas em um equino com EG (DURYEA et al., 1997). Outra opção de tratamento consiste em realizar ressecção cirúrgica do segmento intestinal afetado, sendo que, em um relato, dois animais responderam bem a ressecção cirúrgica da porção terminal do intestino delgado macroscopicamente alterado (SCHUMACHER et al., 1990).

No entanto, com poucas exceções, animais com EG são eutanasiados devido ao prognóstico reservado e à falta de resposta ao tratamento (SCHUMACHER; EDWARDS; COHEN, 2000).

2.1.3 Enterite eosinofílica

A enterite eosinofílica idiopática (EE) é uma condição rara, caracterizada por uma inflamação na mucosa intestinal com predomínio de eosinófilos, envolvendo apenas segmentos do trato gastrintestinal (SCHUMACHER; EDWARDS; COHEN, 2000; SCHUMACHER, 2003; BARTON, 2005; BARR, 2006).

Esta condição pode apresentar-se sob a forma de uma doença inflamatória difusa ou focal localizada no intestino delgado, no intestino grosso ou em ambos (SCOTT et al., 1999; EDWARDS; KELLY; PROUDMAN, 2000; SOUTHWOOD et al., 2000; STANAR et al., 2002; ARCHER et al., 2006; MAIR; PEARSON; DIVERS, 2006).

A causa da enterite ou colite eosinofílica é desconhecida. Os eosinófilos são geralmente associados com uma reação de hipersensibilidade imediata, e podem infiltrar o lúmen intestinal em resposta à presença de grande variedade de antígenos como, por exemplo, migração parasitária de helmintos e reações alérgicas (SOUTHWOOD et al., 2000; PEREZ OLMOS et al., 2006).

Alguns estudos sugerem possíveis agentes etiológicos tais como: parasitas nematóides (*Strongylus edentatus*), fungos (*Pythium* sp) e protozoários (*Eimeria leukarti*); entretanto nenhum agente foi confirmado como sendo a causa destas lesões em equinos (MORTON et al., 1991; COHEN et al., 1992; SCOTT et al., 1999). Fatores dietéticos relacionados com alergias alimentares também podem ser considerados (PASS; BOLTON, 1982).

Equinos afetados com enterite ou colite eosinofílica geralmente apresentam quadros de dor abdominal aguda, que pode variar entre leve a severa, ou cólicas recorrentes (BASSAGE et al., 1997; SOUTHWOOD et al., 2000; PEREZ OLMOS et al., 2006).

O infiltrado de eosinófilos na mucosa intestinal pode dar origem a bandas murais circunferenciais que podem provocar uma obstrução parcial do lúmen intestinal, dando origem a manifestações clínicas de cólica (SCOTT et al., 1999; SOUTHWOOD et al., 2000; PEREZ-OLMOS et al., 2006). Essas bandas surgem provavelmente pela fibrose mural estimulada por enzimas liberadas pelos eosinófilos (PEREZ-OLMOS et al., 2006).

A obstrução da ingesta na região de lesão do intestino pode ser resultado de uma combinação de fatores físicos e fisiológicos tais como: a presença de edema, alterações nas fibras musculares lisas e na atividade nervosa resultante do processo inflamatório. Estas alterações provocam também uma diminuição da motilidade intestinal na região afetada, o que contribui para a obstrução (ARCHER et al., 2006).

Durante o exame de palpação retal, na maioria dos casos relatados de enterite eosinofílica foi possível verificar graus variados de distensão e compactação de segmentos do intestino (ARCHER et al., 2006).

Geralmente a laparotomia exploratória é realizada nos casos de dor que não diminui com a administração de analgésicos e com base na presença de alterações encontradas durante a palpação retal (ARCHER et al., 2006). O diagnóstico final é estabelecido pelo exame histopatológico da mucosa intestinal de amostras coletadas durante a cirurgia exploratória ou no *post mortem* (PEREZ OLMOS et al., 2006).

Uma vez que a EE pode estar associada a uma reação de hipersensibilidade do tipo I, a eliminação dos possíveis antígenos é parte fundamental do tratamento. Alterações na dieta, anti-helmínticos e corticosteroides podem ser utilizadas no tratamento (KALCK, 2009).

A ressecção cirúrgica do segmento intestinal afetado é uma das principais opções terapêuticas nestes casos (SCHUMACHER; EDWARDS; COHEN, 2000). Equinos que apresentam lesões focais no intestino, passível de ressecção, e sem doença sistêmica associada, apresentam um bom prognóstico (SOUTHWOOD et al., 2000). Um estudo descreve que, de 18 casos de colite eosinofílica submetidos à ressecção intestinal, 16 sobreviveram sem história de cólica ou outras manifestações clínicas após a cirurgia (EDWARDS; KELLY; PROUDMAN, 2000).

2.1.4 Doença epiteliotrópica eosinofílica multissistêmica

Doença epiteliotrópica eosinofílica multissistêmica (MEED) é uma enfermidade de caráter crônico, progressivo, multifocal que, além do trato gastrointestinal, pode afetar outros órgãos (HENSON; MILNER; SHELDON, 2002). A MEED caracteriza-se pela presença de infiltração na mucosa intestinal por

eosinófilos e linfócitos, mas em alguns casos, os basófilos podem ser o infiltrado inflamatório primário (MAIR; PEARSON; DIVERS, 2006).

Entre os órgãos e tecidos afetados pela MEED podemos incluir: pele, trato gastrointestinal, fígado, pâncreas, cavidade oral, esôfago, pulmões e linfonodos mesentéricos (NIMMO WILKIE et al., 1985; SCHUMACHER; EDWARDS; COHEN, 2000; BARTON, 2005).

A etiologia da MEED é desconhecida, mas alguns relatos sugerem que episódios recorrentes de hipersensibilidade do tipo I como resposta a antígenos inalados das dietas ou uma resposta do organismo a infestação parasitária estão frequentemente relacionados como causas (HILLYER; MAIR, 1992; SCHUMACHER; EDWARDS; COHEN, 2000; MAIR; PEARSON; DIVERS, 2006).

Vários fatores podem estar envolvidos na estimulação e quimiotaxia dos eosinófilos, levando a uma infiltração multissistêmica. O papel das células inflamatórias e citocinas na coordenação da resposta a um fator desconhecido não foi estabelecido, embora em humanos tenham sido relatadas populações anormais de linfócitos T monoclonais secretando grandes quantidades de IL-5 em síndromes hipereosinofílicas (LA PERLE et al., 1998).

Equinos de qualquer raça, sexo ou idade podem apresentar a doença, porém a maioria dos estudos envolvem equinos jovens de dois a quatro anos de idade, especialmente na raça Standardbred (SCHUMACHER, 2003).

No estudo de Schumacher, Edwards e Cohen (2000) os problemas de pele ocorreram em 63% dos casos de MEED, sendo caracterizadas por uma dermatite grave semelhante ao pênfigo foliáceo, com lesões na face, membros e abdômen ventral, acompanhada por alopecia, hiperqueratose e liquenificação (SCHUMACHER; EDWARDS; COHEN, 2000; MAIR; PEARSON; DIVERS, 2006). Ulceração na coroa dos cascos associada à perda da castanha (tórus cárpico ou társico) e ulceração da mucosa oral também pode estar presente (PASS; BOLTON, 1982; HILLYER; MAIR, 1992).

Nos exames laboratoriais, equinos afetados podem apresentar eosinofilia. No estudo citado anteriormente (SCHUMACHER; EDWARDS; COHEN, 2000), isto ocorreu em 12% dos casos e não pode ser considerado como indicador da doença.

Equinos com MEED geralmente apresentam lesões hepáticas e/ou pancreáticas que resultam em aumento das enzimas do fígado, entre elas a gama glutamil transferase e a fosfatase alcalina (MAIR; PEARSON; DIVERS, 2006).

O diagnóstico pode ser realizado por biópsia de pele, reto e/ou fígado. Na biópsia retal, equinos normais podem apresentar infiltrados de eosinófilos em intensidade maior na mucosa, mas granulomas eosinofílicos associados com vasculite e necrose fibrinóide dos vasos intramurais são considerados patognomônicos de MEED (LINDBERG et al, 1985; LINDBERG; NYGREN; PEASSON, 1996).

Na biópsia hepática pode ser identificada fibrose hepática e proliferação do ducto biliar. Os granulomas eosinofílicos raramente são detectados neste tecido (HILLYER; MAIR, 1992; SCHUMACHER; EDWARDS; COHEN, 2000).

Um diagnóstico específico de MEED também pode ser realizado com biópsia de pele quando as lesões estiverem presentes (KALCK, 2009).

O tratamento de MEED engloba anti-helmínticos, antibióticos e corticosteroides (HILLYER; MAIR, 1992; CARMALT, 2004). Na maior parte dos casos o tratamento não é bem sucedido e só ocasionalmente alguns equinos respondem à terapia (KALCK, 2009).

2.2 LINFOMA

O linfoma é uma neoplasia maligna de origem hematopoiética e está entre as neoplasias mais frequentes em equinos. A prevalência de linfoma nas populações equinas é relativamente baixa, variando entre 0,2% a 3,0% com base em pesquisas realizadas durante necrópsias nos Estados Unidos (SCHNEIDER, 2003). No Brasil, em um estudo retrospectivo realizado em São Paulo – SP, 133 casos de um total de 6.669 (2%) equídeos atendidos no HOVET/USP foram diagnosticados com neoplasia e cerca de 4% destes casos eram de linfoma (BACCARIN et al., 2011).

Nenhum fator de risco foi estabelecido para a ocorrência de linfoma em equinos, e a etiologia é desconhecida (SCHNEIDER, 2003). Não há predisposição por sexo ou raça, e equinos de todas as idades podem ser afetados, porém a maioria dos casos reportados na literatura ocorre em equinos com idade entre quatro e dez anos (SCHNEIDER, 2003; TAINTOR; SCHLEIS, 2011). Entretanto, casos individuais de linfoma em feto, em equinos com idade inferior a um ano ou com mais de 20 anos têm sido descritos (HALEY; SPRAKER, 1983).

O linfoma é classificado anatomicamente em generalizado ou multicêntrico, alimentar ou intestinal, mediastinal ou tímico, cutâneo e solitário (SAVAGE, 1998; TAYLOR, 2006; TAINTOR; SCHLEIS, 2011).

As manifestações clínicas geralmente são inespecíficas, pois variam de acordo com a função dos órgãos envolvidos, o grau de comprometimento destes e o tempo de duração da doença no animal (SCHNEIDER, 2003; TAINTOR; SCHLEIS, 2011). Em geral, as manifestações clínicas mais comuns são anorexia, depressão, perda de peso, febre, linfadenopatia, edema nas porções ventral do abdômen e distal dos membros (SCHNEIDER, 2003; MEYER; DELAY; BIENZLE, 2006; MUNOZ et al., 2009; TAINTOR; SCHLEIS, 2011).

No estudo realizado por Meyer, Delay e Bienzle (2006) foi realizada uma avaliação abrangente de 37 equinos com linfoma. As manifestações clínicas mais comuns foram emagrecimento progressivo, edema e doença respiratória. Dos 34 animais que realizaram exames laboratoriais, alterações foram identificadas em 23 animais, consistindo de anemia, trombocitopenia e neutropenia, ou a combinação destas condições. A maior parte dos linfomas foi classificada como multicêntrica, envolvendo tecidos linfoides torácicos e abdominais, fígado, baço e intestino.

Infelizmente, o diagnóstico de linfoma na maioria dos casos é tardio devido à natureza insidiosa da neoplasia e à falta de manifestações patognomônicas (TAINTOR; SCHLEIS, 2011).

2.2.1 Linfoma alimentar

O linfoma alimentar corresponde a aproximadamente 19% dos casos de linfomas em equinos (TAYLOR et al., 2006). Geralmente a média de idade de equinos afetados com a doença é de quatro a dez anos, porém em dois estudos retrospectivos, um realizado por Taylor et al. (2006) e outro realizado por Mair e Hillyer (1992), a média de idade dos animais foi de 16 e 20 anos, respectivamente, sugerindo que a forma alimentar do linfoma ocorre em equinos mais velhos quando comparados com as outras formas.

Importante lembrar que o trato gastrointestinal pode ser afetado pelo linfoma como doença neoplásica primária (que é o verdadeiro linfoma alimentar),

representar parte de um distúrbio multicêntrico ou ser resultante de uma disseminação metastática a partir de outro foco primário (MAIR; HILLYER, 1992).

O trato gastrointestinal é protegido por acúmulos difusos de tecido linfático que constituem os tecidos linfoides associados ao intestino. Os linfomas alimentares primários provavelmente se originam destes tecidos linfoides (PLATT, 1987).

O intestino delgado é o órgão mais comumente envolvido nesta forma de linfoma, seguido do intestino grosso, mas múltiplos segmentos de ambos os intestinos podem ser afetados e levar ao envolvimento de outros órgãos e/ou linfonodos (TAYLOR et al., 2006). A forma focal do linfoma alimentar é frequentemente observada em equinos idosos (acima de 10 anos) enquanto que a forma difusa é encontrada em animais mais jovens (TAYLOR et al., 2006; MUNOZ et al., 2009).

Equinos com linfoma de origem alimentar geralmente apresentam manifestações clínicas tais como depressão, anorexia, emagrecimento progressivo, dor abdominal, diarreia e enteropatia com perda de proteínas (MAIR; HILLYER, 1992; LA PERLE et al., 1998; SCHNEIDER, 2003). O emagrecimento progressivo é a mais comum, e isto ocorre provavelmente por causa da má absorção de nutrientes secundária à infiltração da mucosa do intestino delgado com células neoplásicas e à atrofia das suas vilosidades. A anorexia também pode contribuir para a perda de peso (TAYLOR et al., 2006).

Diarreia pode ocorrer quando o linfoma se localizar no intestino grosso ou também devido à má absorção intestinal (MUNOZ et al., 2009). A presença de massas no lúmen intestinal pode levar a obstruções parciais ou completas do intestino delgado ou grosso, causando quadros de cólicas recorrentes (MUNOZ et al., 2009).

Alterações hematológicas são comuns podendo ocorrer anemia, mais frequentemente devido à inflamação crônica. Trombocitopenia, leucocitose por neutrofilia e linfócitos atípicos estão presentes em poucos casos (PLATT, 1987; TAYLOR et al., 2006). Hipoproteinemia e hipoalbuminemia são alterações bioquímicas comuns, sendo que a hipoalbuminemia geralmente está relacionada com a enteropatia com perda de proteína (VAN DEN HOVEN; FRANKEN, 1983; MAIR; HILLYER, 1992; MEYER; DELAY; BIENZLE, 2006; TAYLOR et al., 2006).

Uma vez que as características morfológicas dos linfomas variam muito, é geralmente difícil detectar células neoplásicas nos líquidos cavitários. Porém em um

estudo realizado por Zicker, Wilson e Medearis (1990) foi possível o diagnóstico de neoplasia através da avaliação citológica do líquido peritoneal em 44% (11/25) dos equinos. Análise do líquido peritoneal contribuiu para o diagnóstico de neoplasia intestinal em 21% dos casos de linfoma alimentar em outro estudo mais recente (TAYLOR et al., 2006).

O exame ultrassonográfico parcial do abdômen identificou anormalidades nos órgãos em 82% dos casos, sugerindo ser uma ferramenta sensível de diagnóstico, além de auxiliar na localização de massas tumorais para biópsias guiadas, avaliar a extensão da lesão e o grau de comprometimento dos órgãos ou linfonodos acometidos (TAYLOR et al., 2006).

Biópsia de linfonodos ou formações é o ideal para o diagnóstico, mas pode ser difícil quando estão localizadas dentro da cavidade abdominal (TAINTOR; SCHLEIS, 2011).

Em um estudo realizado por Taylor et al. (2006) avaliando retrospectivamente 34 equinos com diagnóstico de neoplasias, foram realizadas biópsias retais em seis (18%) animais. Em todos os casos foi possível identificar alterações histopatológicas, sendo que três equinos apresentaram proctite e três linfoma. Os três animais com proctite moderada foram, posteriormente, diagnosticados com linfoma em dois dos três casos e adenocarcinoma intestinal no outro caso.

O diagnóstico definitivo é estabelecido após biópsia por laparoscopia ou laparotomia exploratória. No entanto, na maioria dos casos, devido ao prognóstico reservado da doença, o diagnóstico final ocorre durante o exame *post mortem* após a eutanásia ou óbito (MAIR; HILLYER, 1992; TAYLOR et al., 2006)

A ressecção cirúrgica pode prolongar a sobrevivência, caso não haja evidências de linfoma multicêntrico ou metástase (TAINTOR; SCHLEIS, 2011).

2.3 CIATOSTOMÍASE

A ciatostomíase larval é uma infecção parasitária causada pelos estágios larvais de nematóides conhecidos como pequenos estrôngilos ou ciatostomíneos (LYONS; DRUGBE; TOLLIVER, 2000).

Estes parasitas nematóides pertencem à família *Strongylidae*, designados comumente por estrôngilídeos, e divididos em duas subfamílias chamadas de *Strongylinae* e *Cyathostominae*. São conhecidas mais de 50 espécies de ciatostomíneos, das quais 10 têm sido reportadas como as mais prevalentes (LYONS; TOLLIVER; DRUGBE, 1999; CORNING, 2009). No Brasil, Anjos e Rodrigues (2006) identificaram 21 espécies de ciatostomíneos recuperados do cólon menor de 31 equinos necropsiados oriundos da região metropolitana do Rio de Janeiro. Destes, os dez mais prevalentes foram: *Cyathostomum tetracanthum*, *Cylicocyclus nassatus*, *Cylicostephanus minutus*, *Cylicostephanus longibursatus*, *Cylicocyclus leptostomus*, *Cylicostephanus calicatus*, *Cylicostephanus goldi*, *Cyathostomum pateratum*, *Coronocyclus labiatus* e *Coronocyclus coronatus*, todos com prevalência acima de 45%.

Geralmente as infecções são mistas, ou seja, provocadas pela ocorrência de diferentes espécies de forma simultânea. Existem poucos estudos referentes à patogenicidade de cada espécie ou sobre quais os fatores que determinam o equilíbrio entre as espécies em uma população mista (CORNING, 2009).

Os ciatostomíneos possuem ciclo de vida direto, sem hospedeiro intermediário. Os equinos se infectam após ingestão de larvas de terceiro estágio (L3), que alcançam o intestino, local onde vão completar o seu desenvolvimento, com capacidade de encistar-se na mucosa e submucosa intestinal formando uma cápsula fibrosa (CORNING, 2009).

Duas situações distintas podem ocorrer a partir deste momento, as larvas encistadas (L3) entram em hipobiose por períodos longos, ou seja, ocorre uma inibição do seu desenvolvimento. Cerca de 90% das larvas que encistam a parede intestinal podem entrar em hipobiose, permanecendo dentro da parede por um período de quatro meses até dois anos (CORNING, 2009).

Na outra situação, as larvas de terceiro estágio (L3) evoluem para L4 e L5, em um rápido ciclo de vida, emergindo para o lúmen intestinal, aonde chegam à fase

adulta, começando a produzir ovos que serão eliminados pelas fezes para a pastagem dentro de cinco a seis semanas após a infecção (OGBOURNE, 1976; CORNING, 2009). No ambiente, os ovos se desenvolvem passando por dois estágios larvais intermediários (L1 – L2) até atingir a fase infectante (L3), sendo que a taxa de desenvolvimento é diretamente influenciada pela temperatura (CORNING, 2009). Geralmente o clima quente e úmido favorece o desenvolvimento desses estágios, enquanto que calor e frio extremo são prejudiciais (LYONS; DRUGBE; TOLLIVER, 2000).

Na região sudeste do Brasil, em condições de clima tropical foi observada a sobrevivência de L3 por períodos de até 15 semanas nas fezes e 12 semanas nas gramíneas durante o período seco e de nove semanas nas fezes e oito semanas no pasto durante o período chuvoso (COUTO et al., 2009).

A presença de um grande número de parasitas nematoides no intestino pode causar uma variedade de manifestações clínicas, incluindo letargia, diarreia, emagrecimento progressivo e cólica (CORNING, 2009).

Atualmente, duas formas de ciatostomíase são conhecidas. A mais grave ocorre quando milhares de larvas que estavam encistadas na mucosa e submucosa intestinal, emergem para o lúmen simultaneamente, causando uma enteropatia inflamatória significativa no ceco e cólon, resultando em quadros de diarreia (aguda ou crônica) e cólica. Nestes casos a taxa de mortalidade é alta, em torno de 50% (GILES et al., 1985; LOVE; MURPHY; MELLOR, 1999; LYONS; DRUGBE; TOLLIVER, 2000; CORNING, 2009).

Outra forma de ciatostomíase menos aguda também pode ocorrer resultante da penetração de um grande número de larvas (L3) na mucosa intestinal (MURPHY; LOVE, 1997). Manifestações clínicas como emagrecimento progressivo e diarreia intermitente provocam atrasos no crescimento de potros, mesmo com acesso a boas pastagens e suplementação. Isto ocorre devido à presença de larvas encistadas na mucosa (hipobiose) e adultos no lúmen do intestino grosso, ocasionando espessamento da mucosa e consequentemente má absorção de nutrientes (MURPHY et al., 1997).

A patogênese da ciatostomíase ainda é pouco compreendida. Geralmente tudo o que se tem conhecimento é baseado nas alterações histopatológicas dos casos fatais da doença. Os fatores que desencadeiam ou incitam os mecanismos

para um encistamento maciço de larvas ainda permanece desconhecido (LYONS; DRUGBE; TOLLIVER, 2000).

Normalmente ocorre em animais jovens, mas todos os equinos, até mesmo aqueles que possuem um programa de controle parasitário regular, estão susceptíveis à infecção parasitária por ciatostomíneos (LOVE; MURPHY; MELLOR, 1999).

Colite granulomatosa também tem sido descrita associada a larvas de pequenos estrôngilos (LOVE; MURPHY; MELLOR, 1999). Casos de intussuscepção cecóclica e cecocecal foram encontrados em dois equinos, sendo que ambos possuíam diagnóstico confirmado de ciatostomíase (BODECEK et al., 2010). A mesma associação foi relatada por Mair, Sutton e Love (2000) avaliando quatro casos de intussuscepção, porém esta hipótese de associação ainda não foi confirmada.

Os exames clínicos e laboratoriais são inespecíficos, tornando o diagnóstico um desafio ao médico veterinário. Na maioria dos casos o diagnóstico final ocorre durante a realização do exame *post mortem*.

Nos exames laboratoriais podem ocorrer hipoalbuminemia e hipoproteïnemia (LOVE; MAIR; HILLYER, 1992; PEREGRINE et al., 2006; BODECEK et al., 2010). Outros achados incluem anemia, eosinofilia e aumento da fosfatase alcalina (MURPHY et al., 1997). No estudo de Bocecek et al. (2010) 66% dos casos apresentaram leucocitose por neutrofilia.

Os exames histopatológicos realizados após necrópsia demonstram inflamação do cólon e/ou ceco, sendo que no estágio agudo pode ocorrer uma marcada hiperemia da mucosa, hemorragia, congestão, ulceração ou necrose. Em casos mais crônicos pode haver apenas um espessamento da mucosa devido ao edema e áreas irregulares de congestão. Numerosas larvas de pequenos estrôngilos podem ser visualizadas na mucosa com uma inspeção cuidadosa (ABBOTT, 1998). Uma resposta celular inflamatória também está presente com populações mistas de células mononucleares, eosinófilos e células epiteliais. A resposta pode concentrar-se em torno das larvas na submucosa, ou pode ser mais difusa envolvendo a lâmina própria da mucosa bem como a submucosa (OGBOURNE, 1976).

Para estabelecer um diagnóstico adequado é necessário comprovar a presença de larvas dos ciatostomíneos no trato gastrointestinal, o que pode ser realizado através de exames de fezes, biópsia intestinal ou durante a necrópsia

(LOVE; MURPHY; MELLOR, 1999; LYONS; DRUGBE; TOLLIVER, 2000). No entanto, a eliminação dos ovos de ciatostomíneos através das fezes pode ser nula e sua ausência não exclui necessariamente o quadro (SMETS et al., 1999; CORNING, 2009)

Espessamento nas paredes do intestino delgado pode, às vezes, ser observado em ultrassonografia abdominal, embora isto possa ocorrer devido ao edema em vez da inflamação (MAIR; PEARSON; DIVERS, 2006).

Importante observar que os relatos indicam um aumento dos casos desta doença nos últimos anos. Bodecek et al. (2010) relataram sete casos no período de 1999 a 2007, porém apenas no ano de 2008 foram registrados cinco casos. Um aumento semelhante na incidência foi observado por Peregrine et al. (2006) descrevendo 24 casos de ciatostomíase nos anos 1991 a 2003, 15 deles durante o período 2001 a 2003.

3 OBJETIVOS

O presente trabalho tem como objetivo avaliar a segurança e a viabilidade da técnica de biópsia retal em equinos e identificar as alterações histopatológicas encontradas na mucosa retal em animais clinicamente saudáveis e em animais com alterações do trato gastrintestinal.

3.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Analisar a segurança e a viabilidade da técnica de biópsia retal em equinos.
2. Avaliar os achados histopatológicos da mucosa do reto logo após palpação retal, e depois de 48 horas, em equinos clinicamente saudáveis.
3. Avaliar os achados histopatológicos da mucosa retal em animais com alterações do trato gastrintestinal com diagnóstico estabelecido.
4. Avaliar os achados histopatológicos da mucosa retal em animais com manifestações clínicas inespecíficas do trato gastrintestinal tais como: emagrecimento progressivo, diarreia e cólicas recorrentes.

4 MATERIAL E MÉTODOS

O presente estudo foi aprovado pela Comissão de Ética no uso de animais da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (FMVZ/USP), protocolo nº 2276/2011.

4.1 ANIMAIS

Foram utilizados 32 equinos, sendo 10 animais clinicamente saudáveis utilizados como grupo controle e 22 animais atendidos no Serviço de Clínica Médica de Equinos do Hospital Veterinário da FMVZ/USP e em propriedades particulares durante o período de agosto de 2011 a agosto de 2013. Os animais foram divididos em três grupos:

- 1) Animais clinicamente saudáveis
- 2) Animais com alterações do trato gastrointestinal com diagnóstico estabelecido
- 3) Animais com manifestações clínicas inespecíficas do trato gastrointestinal tais como: emagrecimento progressivo, diarreia e cólicas recorrentes

4.2 PROCEDIMENTO PARA REALIZAÇÃO DA BIÓPSIA RETAL

As biópsias foram realizadas com o animal em estação, posicionados em um tronco de contenção. O instrumento utilizado para a obtenção das amostras foi uma pinça de biópsia do tipo jacaré (Pinça de biópsia uterina – Botupharma, Botucatu - SP). Quando necessário, os equinos foram submetidos a um jejum de 12 horas e sedação com acepromazina 1,0% (KALCK, 2009).

Primeiramente foi realizada a remoção manual das fezes da ampola retal, utilizando-se luva de palpação retal lubrificada com gel de carboximetilcelulose. Após este procedimento, uma nova luva foi utilizada, agora com gel de lidocaína 2% na ponta dos dedos e na palma da mão, com o intuito de anestesiá-la a mucosa retal

no local de realização da biópsia. O procedimento realizado foi baseado no protocolo de Schumacher e Moll (2007), com modificações apenas na utilização do gel de lidocaína.

Na sequência, a pinça com a garra protegida dentro da mão enluvada e fechada foi inserida até a profundidade de 15 cm proximal ao esfíncter anal. A pinça foi aberta e a mucosa da região retal correspondente à posição de 10h ou 2h do relógio foi apreendida entre o polegar e o indicador e puxada para dentro das garras da pinça. A amostra foi retirada por apreensão, seguida de tração e esgarçamento da mucosa retal. O material resultante da biópsia foi colocado em solução de formol a 10%.

Durante a realização do procedimento foi avaliado o grau de dificuldade para a realização da técnica, sendo atribuído escore 0 (procedimento fácil) ou escore 1 (procedimento difícil). Posteriormente, as amostras de biópsia retal foram submetidas a exame macroscópico avaliando-se o tamanho dos fragmentos obtidos.

Em alguns animais, em virtude da necessidade urgente de cirurgia, do óbito ou eutanásia dos equinos, algumas amostras foram coletadas durante a laparotomia exploratória e/ou após a eutanásia ou óbito.

4.3 PROCESSAMENTO HISTOLÓGICO

As amostras de biópsia retal, após serem fixadas em formol 10%, foram encaminhadas para o Laboratório de Histologia do Departamento de Patologia da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo. No laboratório, estas amostras foram incluídas em parafina e, posteriormente, seccionadas em cortes de 5µm de espessura para a confecção de lâminas que foram coradas por hematoxilina-eosina (HE), azul de alciano com ácido periódico de Schiff a 2,5% e azul de toluidina.

4.4 AVALIAÇÃO HISTOPATOLÓGICA

A avaliação histopatológica dos fragmentos de biópsia foi realizada por dois observadores, sem acesso a qualquer informação sobre a identificação e características clínicas e laboratoriais de cada animal. Todas as lâminas foram avaliadas isoladamente pelos dois observadores e depois em conjunto, para um consenso sobre os resultados finais de cada um dos critérios histopatológicos analisados e para a uniformidade dos diagnósticos obtidos, sendo estes diagnósticos finais os utilizados para avaliação e discussão dos resultados.

O exame histopatológico das lâminas foi realizado em microscopia de luz, utilizando microscópio Zeiss, modelo Primo Star acoplado a câmara digital PowerShot G10, Canon e *software* zoomBrowser EX 6.2 para captura de imagens nos aumentos de 40, 100 e 400x.

Os cortes histológicos obtidos foram avaliados em relação à qualidade tecidual, sendo: escore 0 = qualidade ótima para análise histopatológica, escore 1 = qualidade boa e escore 2 = qualidade ruim. Foram considerados como qualidade ótima, cortes histológicos que apresentavam mucosa, muscular da mucosa e submucosa adequadas para análise.

Os parâmetros morfológicos foram analisados na lâmina própria (LP) e submucosa retal qualitativamente em relação a(s): integridade das células epiteliais superficiais; células caliciformes; qualidade das mucinas; distribuição e intensidade das células inflamatórias, incluindo número de leucócitos intra-epiteliais; criptas; alterações circulatórias e aos folículos linfóides.

A classificação das proctites foi baseada no estudo de Lindberg, Nygren e Persson (1996) e na caracterização da(s) célula inflamatória(s) predominante(s).

A intensidade do processo inflamatório foi graduado e interpretado segundo os escores: poucas células inflamatórias na lâmina própria entre as criptas, consideradas dentro do padrão de normalidade (escore 0); aumento discreto do número de células inflamatórias na LP sem distorcer as criptas, considerado discreta proctite (escore 1); aumento moderado do infiltrado inflamatório na LP com afastamento das criptas e discreta distorção, considerada proctite moderada (escore 2); aumento marcante do infiltrado inflamatório que ultrapassa a muscular da

mucosa e distorce as criptas com perda de área de criptas, considerada proctite marcante (escore 3).

A intensidade do infiltrado de mononucleares foi graduada e interpretada segundo os escores: raros e esparsos linfócitos e plasmócitos na LP e ausência na submucosa (escore 0); pequeno número de linfócitos e plasmócitos na LP e submucosa, de até 5 células entre as criptas (escore 1); aumento moderado do número de mononucleares na LP e na submucosa, número de até 10 células entre as criptas ou abaixo das criptas (escore 2); aumento marcante do número de mononucleares na LP e abaixo da linha de criptas, maior do que 20 células ou mais do que cinco camadas abaixo das criptas, que se estende pela submucosa (escore 3). O escore 0, foi considerado dentro do padrão de normalidade; o escore 1, discreto aumento da intensidade; escore 2, moderado aumento e escore 3, marcante aumento da intensidade.

A classificação da intensidade do infiltrado de eosinófilos e neutrófilos na mucosa retal foi realizada baseada na contagem destas células em cinco campos aleatórios no aumento de 400x.

Os resultados obtidos para os eosinófilos na lâmina própria foram interpretados da seguinte forma: até 10 eosinófilos/campo foi considerado como dentro do padrão de normalidade (escore 0); de 10 a 20 eosinófilos/campo, infiltrado de intensidade discreta (escore 1); de 20 a 30 eosinófilos/campo, infiltrado de intensidade moderada (escore 2); e mais de 30 eosinófilos/campo, infiltrado de intensidade marcante (escore 3). Na submucosa, a graduação utilizada para os eosinófilos foi: até 15 eosinófilos/campo foi considerado dentro do padrão de normalidade (escore 0); de 15 a 30 eosinófilos/campo, infiltrado de intensidade discreta (escore 1); de 30 a 45 eosinófilos/campo, infiltrado de intensidade moderada (escore 2); e mais de 45 eosinófilos/campo, infiltrado de intensidade marcante (escore 3).

Para os neutrófilos na lâmina própria, utilizou-se: ausência de neutrófilos foi considerada dentro do padrão de normalidade (escore 0); até 10 neutrófilos/campo, infiltrado de intensidade discreta (escore 1); de 10 a 20 neutrófilos/campo, infiltrado de intensidade moderada (escore 2), e acima de 20 neutrófilos/campo infiltrado de intensidade marcante (escore 3).

Os linfócitos intra-epiteliais (LIE) foram classificados utilizando-se a seguinte graduação: até 15 linfócitos para cada 100 colonócitos foi considerado dentro do

padrão de normalidade (escore 0); de 15 a 30 linfócitos/100 colonócitos, infiltrado de intensidade discreta (escore 1); de 30 a 40 linfócitos/100 colonócitos, infiltrado de intensidade moderada (escore 2); e acima de 40 linfócitos/100 colonócitos foi considerado infiltrado marcante (escore 3).

Os mastócitos na lâmina própria foram contados em cinco campos aleatórios no aumento de 400x, utilizando-se a coloração de azul de Toluidina, e foi usada a seguinte graduação: até 5 mastócitos/campo foi considerado dentro do padrão de normalidade (escore 0); de 6 a 10 mastócitos/campo foi considerado infiltrado discreto (escore 1); de 11 a 20 mastócitos/campo, infiltrado de intensidade moderada (escore 2) e acima de 20 mastócitos/ campo foi considerado de intensidade marcante (escore 3). Na submucosa, a graduação utilizada para os mastócitos foi: até 10 mastócitos/campo foi considerado dentro do padrão de normalidade (escore 0); de 10 a 20 mastócitos/campo, infiltrado de intensidade discreta (escore 1); de 20 a 30 mastócitos/campo, infiltrado de intensidade moderada (escore 2); acima de 30 mastócitos/campo, infiltrado de intensidade marcante (escore 3).

4.5 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

4.5.1 Animais clinicamente saudáveis (Grupo 1)

Foram utilizados dez equinos adultos clinicamente saudáveis, sendo 8 machos e duas fêmeas, de raças variadas, com idade média de 6 anos (variando entre cinco e 14 anos), vermifugados, pertencentes à Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo.

Todos os animais passaram por avaliação de sua condição de hígidez clínica. A avaliação física consistiu de mensuração das frequências cardíaca e respiratória, temperatura retal, auscultação abdominal e torácica, avaliação do tempo de preenchimento capilar e da coloração de mucosa.

Após a avaliação física, estes animais foram submetidos à palpação retal para avaliação do trato gastrintestinal por um período de 15 minutos. A palpação retal

neste grupo procurou mimetizar o que ocorre em situações reais do exame clínico nos equinos, onde a biópsia dificilmente é o primeiro procedimento a ser realizado no animal. Em seguida foi obtida uma amostra da mucosa retal na região dorsolateral correspondente às 10 horas, conforme procedimento detalhado anteriormente.

Após 48 horas estes animais foram novamente biopsiados, porém a biópsia da mucosa retal foi realizada na região dorsolateral correspondente às 2 horas, com o intuito de avaliar possíveis alterações histopatológicas decorrentes da palpação retal.

Durante os quatro dias subsequentes à realização da primeira biópsia foram mensurados os parâmetros clínicos anteriormente descritos, além de avaliação das características das fezes e eventual demonstração de dor, com o intuito de avaliar qualquer alteração clínica nestes animais após a biópsia retal.

4.5.2 Animais com alterações do trato gastrintestinal (Grupo 2)

Nesta etapa foram selecionados sete equinos. Estes animais foram atendidos no Hospital Veterinário da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (HOVET/USP) com alterações do trato gastrintestinal. Todos os animais selecionados apresentaram síndrome cólica com diagnóstico estabelecido.

Nesse grupo, as biópsias retais foram realizadas dentro do período de até 24 horas do início das manifestações clínicas quando, após os exames físicos e complementares, o tratamento clínico era estabelecido. Nos casos em que o tratamento cirúrgico foi realizado, as biópsias foram feitas dentro do período de 48 horas do início das manifestações clínicas.

Exames físicos e complementares, quando realizados, foram utilizados para comparação e correlação com os achados histopatológicos.

4.5.3 Animais com manifestações clínicas inespecíficas do trato gastrointestinal (G3)

Foram selecionados 15 equinos atendidos no HOVET/USP, apresentando manifestações clínicas inespecíficas de doenças do trato gastrointestinal (emagrecimento progressivo, diarreia crônica ou cólica recorrente), onde a biópsia retal poderia ser uma ferramenta diagnóstica indicada.

A diarreia foi considerada crônica quando presente há pelo menos 7 a 14 dias (MAIR, 2002). Os equinos com emagrecimento progressivo foram selecionados quando esta era a principal queixa clínica do proprietário ou veterinário, assim como os casos de cólicas recorrentes.

A biópsia retal nestes animais foi realizada após o término da investigação clínica, quando o diagnóstico não foi estabelecido, justificando a indicação de biópsia. As técnicas foram às mesmas descritas para os outros grupos.

Exames físicos e complementares, quando realizados, foram utilizados para comparação e correlação com os achados histopatológicos.

4.6 AVALIAÇÃO DOS RESULTADOS

Os parâmetros clínicos foram analisados de forma descritiva em frequência absoluta (n), frequência relativa (%) e/ou média.

Os resultados histopatológicos das biópsias retais foram apresentados de forma descritiva.

Os eventos quantitativos pareados foram analisados com o teste de Wilcoxon para comparação dos resultados obtidos na primeira e na segunda biópsia retal, utilizando o programa GraphPad Prism[®], com nível de significância de 5%.

5 RESULTADOS

5.1 ANIMAIS CLINICAMENTE SAUDÁVEIS: GRUPO 1 (n=10)

Nos 10 animais clinicamente saudáveis, tanto na primeira como na segunda biópsia, não foi observada a ocorrência de complicações. Nas 20 biópsias retais nenhuma dificuldade foi encontrada na realização do procedimento com relação à palpação retal, ao posicionamento e distância da pinça na mucosa retal sendo considerada de fácil execução em todos os equinos deste grupo.

Apenas nos primeiros quatro animais foi realizado jejum e sedação. Nos demais, a biópsia foi realizada sem sedação, apenas com contenção mínima e anestesia local com gel de lidocaína a 2%.

As amostras de mucosa retal obtidas tinham em média 11,5 mm de comprimento x 50 mm de largura x 33 mm de espessura. Com relação à qualidade tecidual dos 20 cortes histológicos obtidos, 16 apresentaram escore 0 (qualidade ótima) e quatro receberam escore 1 (qualidade boa).

Nenhuma alteração clínica foi encontrada nos animais deste grupo e, durante os quatro dias de experimento, todos os parâmetros avaliados estavam dentro da normalidade.

5.1.1 Resultados histopatológicos

No quadro 1 está apresentada a lista dos diagnósticos histopatológicos individuais da mucosa retal dos animais do grupo 1, considerando a primeira e a segunda biópsia. No apêndice C e D estão os resultados das análises histopatológicas por escore; e no apêndice G e H a média das contagens das células inflamatórias obtidas na primeira e segunda biópsia.

Quadro 1 – Diagnósticos histopatológicos da primeira e segunda biópsia retal dos equinos clinicamente saudáveis (Grupo 1)

ANIMAL	PRIMEIRA BIÓPSIA (A)	SEGUNDA BIÓPSIA (B)
1	Dentro do padrão de normalidade	Dentro do padrão de normalidade
2	Dentro do padrão de normalidade	Dentro do padrão de normalidade
3	Dentro do padrão de normalidade	Dentro do padrão de normalidade
4	Dentro do padrão de normalidade	Proctite linfoplasmocítica com aumento de neutrófilos focal
5	Dentro do padrão de normalidade	Dentro do padrão de normalidade
6	Dentro do padrão de normalidade	Proctite linfoplasmocítica com aumento de neutrófilos
7	Dentro do padrão de normalidade	Proctite linfoplasmocítica simples
8	Proctite linfoplasmocítica com aumento de eosinófilos	Proctite linfoplasmocítica com aumento de eosinófilos
9	Proctite linfoplasmocítica com aumento de eosinófilos	Proctite linfoplasmocítica com aumento de eosinófilos
10	Proctite linfoplasmocítica com aumento de neutrófilos e eosinófilos	Proctite linfoplasmocítica com aumento de neutrófilos e eosinófilos

Das 10 amostras obtidas durante a primeira biópsia, em sete (7/10) delas não houve alterações histopatológicas quanto à intensidade do infiltrado de células inflamatórias ou morfologia da mucosa e submucosa sendo consideradas dentro do padrão de normalidade.

As análises histopatológicas das biópsias retais destes animais apresentaram mucosa com epitélio superficial preservado, criptas uniformes alinhadas perpendicularmente à superfície com grande número de células caliciformes que apresentaram mucinas ácidas em maior quantidade que as mucinas neutras ou mistura (ácida e neutra). Focos de hemorragia discreta foram observados na lâmina própria em um caso (1/7). Linfócitos intra-epiteliais estavam presentes na superfície do epitélio, podendo ser observados até 15 linfócitos para cada 100 colonócitos. Na lâmina própria, quantidades consideradas dentro do padrão de normalidade de linfócitos e plasmócitos, estavam presentes em densidade maior abaixo das criptas; eosinófilos também foram encontrados regularmente abaixo das criptas dentro do padrão de normalidade; mastócitos e neutrófilos não foram observados na lâmina

própria destes casos. Os mesmos constituintes celulares da lâmina própria apresentaram-se de forma semelhante na submucosa, porém em alguns casos houve um aumento discreto na quantidade de linfócitos e plasmócitos (2/7); a intensidade de eosinófilos encontrados na submucosa foi maior em relação aos da lâmina própria; mastócitos foram observados na submucosa, porém dentro do padrão de normalidade. Edema foi observado na maioria dos casos (6/7). A presença de folículo linfoide hiperplásico foi observada em um caso (1/7). A figura 1 ilustra as características morfológicas da mucosa retal dentro do padrão de normalidade histológica.

Os outros três animais apresentaram características histopatológicas da mucosa retal diferentes. Os equinos 8A e 9A (2/10) apresentaram proctite linfoplasmocítica com aumento de eosinófilos (Figuras 2 e 3), a qual foi caracterizada por mucosa com epitélio superficial íntegro, criptas paralelas com preservação do número de células caliciformes, porém estas células apresentaram mucinas ácidas em um caso (1/2) e mistura no outro (1/2). Aumento discreto na intensidade do infiltrado linfoplasmocítico na lâmina própria (2/2); presença de alguns eosinófilos no epitélio superficial (1/2) e de um discreto aumento do número de eosinófilos subepitelial (1/2). Na submucosa o infiltrado linfoplasmocítico variou entre discreto (1/2) a moderado (1/2), com a presença de uma quantidade moderada de eosinófilos nos dois casos; a intensidade do infiltrado de mastócitos foi considerado dentro do padrão de normalidade em um caso (1/2) e discreto no outro (1/2).

O equino 10A (1/10) apresentou proctite linfoplasmocítica com aumento de neutrófilos e eosinófilos que foi caracterizada por epitélio superficial preservado, aumento discreto na intensidade do infiltrado linfoplasmocítico na lâmina própria e submucosa, predomínio de mucinas ácidas nas células caliciformes com poucas mistura (ácida e neutra), discreto número de neutrófilos na lâmina própria e um aumento moderado na quantidade de eosinófilos na submucosa.

Na segunda biópsia realizada após 48 horas, quatro (4/10) equinos continuaram apresentando avaliações dentro do padrão de normalidade histológica da mucosa retal. A figura 4 ilustra a primeira e a segunda biópsia retal respectivamente, mostrando que não houve nenhuma alteração histopatológica entre elas. Na análise estatística não houve diferença significativa entre a primeira e a segunda biópsia retal ($p=0,1736$).

No entanto, os equinos 4B e 6B (2/10) que não apresentaram alterações na primeira biópsia, foram diagnosticados com proctite linfoplasmocítica com aumento de neutrófilos caracterizados por epitélio superficial preservado, aumento moderado do número de linfócitos intra-epiteliais (1/2), aumento discreto na intensidade do infiltrado linfoplasmocítico na lâmina própria (2/2) e submucosa (1/2), aumento discreto do número de neutrófilos (1/2) na lâmina própria profunda e um aumento moderado focal dos neutrófilos (1/2) na região entre e abaixo das criptas também na lâmina própria (Figura 5).

O equino 7B (1/10) apresentou proctite linfoplasmocítica simples caracterizada por epitélio superficial preservado, aumento discreto na intensidade do infiltrado inflamatório linfoplasmocítico e dos eosinófilos na lâmina própria e submucosa. Foram observados também edema discreto e presença de folículo linfoide hiperplásico.

Os equinos 8B, 9B e 10B (3/10) apresentaram os mesmos resultados referentes à primeira biópsia: proctite linfoplasmocítica com aumento de neutrófilos e eosinófilos em dois casos e proctite linfoplasmocítica com aumento de eosinófilos em um caso, sem nenhuma alteração das características morfológicas e inflamatórias encontradas nas primeiras biópsias.

5.2 ANIMAIS COM ALTERAÇÕES DO TRATO GASTROINTESTINAL: GRUPO 2

Neste grupo foram avaliados sete equinos com síndrome cólica, sendo seis machos e uma fêmea, com média de idade de 11,6 anos (variando entre 7 e 21 anos). Destes animais, dois animais eram da raça American Trotter (1/7), um Mangalarga Marchador (1/7), um Puro Sangue Lusitano (1/7), um Puro Sangue Inglês (1/7), um Anglo-árabe (1/7), um Crioulo (1/7) e um sem raça definida (1/7).

Nos sete equinos com síndrome de cólica as manifestações clínicas observadas foram: cavar o chão (7/7), olhar o flanco (6/7), deitar e levantar constantemente (5/7), rolar (4/7), sudorese (2/7) e atirar-se ao chão (1/7). Dados obtidos no primeiro exame físico revelaram taquicardia (6/7), taquipnéia (3/7), alterações na coloração da mucosa (7/7), tempo de preenchimento capilar alterado (5/7) e ausência ou hipomotilidade nos quadrantes de auscultação intestinal (7/7).

O tempo médio de evolução do distúrbio, antes que os animais chegassem ao HOVET/USP, foi de 8,17 horas (tempo mínimo de dois e o máximo de 16 horas) em seis dos sete casos (B2 ao B7). No caso do animal B1 o proprietário relatou vários quadros de cólica dentro de um período de 90 dias e, portanto, este animal não foi contabilizado na média citada acima.

Após exame clínico, passagem de sonda nasogástrica, palpação retal, fluidoterapia e terapia farmacológica foi possível estabelecer o diagnóstico clínico em dois casos (B3 e B4) e os demais foram encaminhados para a cirurgia (B1, B2, B5, B6 e B7).

Nos dois casos em que o diagnóstico clínico foi obtido, o equino B3 respondeu ao tratamento e teve uma resolução clínica satisfatória. Enquanto que o equino B4, após palpação retal e coleta do líquido peritoneal por paracentese, foi diagnosticado com uma ruptura intestinal e devido ao prognóstico reservado nessas situações o animal foi eutanasiado.

Cada um dos cinco equinos que foram encaminhados à cirurgia apresentaram uma alteração diferente, dentre elas: vólculo de intestino delgado por abscesso no equino B1, compactação de íleo e torção de jejuno no B2, deslocamento e compactação de cólon maior no B5, encarceramento de cólon maior em falha mesentérica no B6 e hérnia diafragmática no B7.

Destes animais, apenas o caso B5 com deslocamento e compactação de cólon maior sobreviveu à laparotomia exploratória. Quatro equinos foram eutanasiados, sendo que: nos animais B2 e B6 a eutanásia ocorreu durante o procedimento cirúrgico devido ao grau avançado das lesões intestinais, no equino B7 não houve melhora do quadro clínico após a cirurgia e, por último, no B1 após quatro dias de tratamento pós-cirúrgico foi realizada laparoscopia onde foi observada uma grande quantidade de fibrina nos órgãos da cavidade abdominal indicando peritonite.

Exames laboratoriais foram realizados em cinco dos sete casos estudados. Em três animais (3/5) não foram observadas alterações hematológicas e bioquímicas. Alterações foram observadas em dois equinos, sendo que o caso B1 apresentou: anemia, neutrofilia e linfopenia, hiperproteinemia, aumento dos níveis de gama glutamil transferase (GGT) e de fibrinogênio. O equino B5 apresentou leucopenia por neutropenia, hiperproteinemia, aumento das enzimas hepáticas aspartato aminotransferase (AST) e de gama glutamil transferase (GGT), e da

concentração de ureia. No apêndice A e B estão os resultados dos exames laboratoriais (hemograma e bioquímica sérica) dos animais deste grupo.

Em relação à consistência das fezes dos sete equinos, cinco apresentavam fezes normais (B1, B2, B5, B6 e B7), um fezes pastosas (B3) e um ressecadas (B4).

Avaliações do líquido peritoneal foram realizadas em três equinos (3/7). Não houve alterações nas análises físicas, bioquímica e citológica do líquido peritoneal do equino B3 e foram encontradas alterações similares nos equinos B1 e B5 apresentando: líquido amarelo/turvo com contagem de células nucleadas aumentada ($19.000/\mu\text{L}$) com predomínio de neutrófilos íntegros isolados e macrófagos com moderada atividade.

Como anteriormente relatado, cinco animais foram eutanasiados devido ao prognóstico reservado e, em três casos, foram também coletados fragmentos dos intestinos no exame necroscópico.

O equino B1 apresentou no diagnóstico histopatológico dos fragmentos do intestino delgado uma marcante enterite ulcerativa fibrinopurulenta bacteriana associada a um quadro de peritonite fibrinopurulenta bacteriana.

No equino B2 foi observada uma enterite eosinofílica moderada durante a análise dos fragmentos do intestino delgado, as seguintes características foram encontradas: vilosidades sem ápices (relação vilo-cripta diminuída), aumento moderado do número de eosinófilos na lâmina própria e submucosa, aumento moderado do número de neutrófilos na lâmina própria e marcante hemorragia na submucosa.

O equino B4 apresentou na avaliação do intestino delgado um diagnóstico de enterite crônica atrófica moderada onde foi observada relação vilo cripta diminuída ($V:C = 2:1$), hiperplasia moderada das criptas intestinais e moderado infiltrado linfoplasmocitário na lâmina própria.

5.2.1 Resultados histopatológicos

Neste grupo as biópsias retais foram obtidas logo após a eutanásia dos equinos em três casos (3/7) e durante a laparotomia exploratória em dois (2/7). O

procedimento de biópsia retal, com os equinos em estação, foi realizado em dois casos (2/7) sendo considerado um procedimento fácil nestes casos.

Os fragmentos de mucosa retal obtidos tinham em média 13,7 mm de comprimento x 78 mm de largura x 53 mm de espessura. A qualidade tecidual dos sete cortes histológicos obtidos apresentaram escore 0 (qualidade ótima) em cinco casos (5/7) e escore 1 (qualidade boa) em dois (2/7).

O quadro 2 apresenta os diagnósticos histopatológicos por animal. No apêndice E estão os resultados das análises histopatológicas por escore e no apêndice I a média das contagens das células inflamatórias obtidas neste grupo.

Quadro 2 – Diagnósticos histopatológicos da biópsia retal dos equinos com alterações do trato gastrointestinal (Grupo 2)

ANIMAL	DIAGNÓSTICOS HISTOPATOLÓGICOS
B1	Proctite linfoplasmocítica simples e peritonite fibrinoneutrófila
B2	Proctite eosinofílica
B3	Dentro do padrão de normalidade
B4	Dentro do padrão de normalidade
B5	Proctite linfoplasmocítica simples
B6	Proctite linfoplasmocítica simples
B7	Proctite linfoplasmocítica simples

Dois animais B3 e B4 não apresentaram alterações histopatológicas nas amostras retais obtidas.

Quatro equinos B1 (Figura 6), B5, B6 e B7 foram diagnosticados com proctite linfoplasmocítica simples. Nestes animais as características observadas na mucosa retal foram epitélio superficial preservado e diminuição discreta (1/4) a moderada (1/4) das células caliciformes (2/4). As mucinas ácidas foram observadas em todos os casos nas células caliciformes (4/4) e raras mucinas neutras em dois casos (2/4). Não foi possível avaliar os linfócitos intra-epiteliais em dois casos (2/4) devido à autólise do epitélio superficial, e aumento discreto foi encontrado em um caso (1/4). Hemorragia moderada foi encontrada na lâmina própria de apenas uma amostra (1/4). O infiltrado inflamatório linfoplasmocítico variou entre aumento discreto (2/4) a

moderado (2/4) na lâmina própria. Na submucosa um aumento discreto do infiltrado linfoplasmocítico e discreto de eosinófilos foram encontrados em um caso (1/4). Edema foi observado em todos os animais aparecendo como discreto em dois casos (2/4), moderado em um (1/4) e marcante em um (1/4). Foliculo linfoide hiperplásico foi observado em um caso.

O equino B2 (Figura 7) apresentou diagnóstico de proctite eosinofílica que foi caracterizada por epitélio superficial íntegro, discreta criptite, aumento discreto do infiltrado linfoplasmocítico na lâmina própria, aumento moderado do número de eosinófilos na lâmina própria profunda próximo a camada muscular da mucosa, aumento marcante do número de eosinófilos na submucosa, mastócitos foram observados em maior número quando comparado a lâmina própria mas considerado dentro do padrão de normalidade e edema moderado estava presente.

5.3 ANIMAIS COM MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS INESPECÍFICAS DO TGI: GRUPO 3

Neste grupo foram analisados 12 equinos com manifestações clínicas de diarreia crônica (12/15) e três com emagrecimento progressivo (3/15), sendo sete machos e oito fêmeas. Dos 12 animais, cinco eram da raça Mangalarga Marchador (5/15), quatro Mangalarga Paulista (4/15), dois Quarto de Milha (2/15), um Brasileiro de Hipismo (1/15), um Puro Sangue Lusitano (1/15) e dois sem raça definida (2/15). A média de idade foi de 8,38 anos (variando de 1,5 a 22 anos).

O tempo médio de duração das manifestações clínicas em sete equinos (C4, C5, C6, C8, C9, C10 e C11) com diarreia crônica foram de aproximadamente 43,1 dias, e os cinco animais (C7, C12, C13, C14 e C15) restantes apresentaram, durante cerca de dois anos, períodos de alternância entre fezes pastosas, líquidas e normais. Em dois animais, C2 e C3, com emagrecimento progressivo, o tempo médio de duração das manifestações clínicas foi de 45 dias. No caso restante não foi possível verificar este dado devido à falta de informações.

Em relação à consistência das fezes, dos doze equinos com diarreia crônica, três apresentaram fezes pastosas (C4, C5 e C6), dois fezes líquidas (C8 e C10), quatro períodos intercalos de fezes pastosas e normais (C12, C13, C14 e C15) e

três uma alternância entre fezes líquidas e pastosas (C7, C9 e C11). Já os três animais (C1, C2 e C3) com emagrecimento progressivo apresentaram fezes normais, porém o equino C2 mostrou partículas não digeridas na avaliação macroscópica das fezes (fibras grandes).

Em relação aos exames laboratoriais, nos animais com manifestação clínica de diarreia crônica, constatou-se que: os equinos C13 e C14 não apresentaram alterações hematológicas e bioquímicas; em nove deles verificaram-se alterações, sendo observada anemia em dois casos (C4 e C6), leucocitose por neutrofilia em três (C4, C5 e C9); leucopenia em cinco (C6, C8, C10, C11 e C15); hipoproteïnemia e hipoalbuminemia em quatro (C6, C8, C9 e C10); hiperfibrinogenemia em dois (C4 e C8) e aumento nas concentrações séricas de ureia em cinco (C4, C5, C7, C8, e C10).

Analisando os exames laboratoriais dos três animais com emagrecimento progressivo, o equino C1 apresentou, no hemograma e nos exames bioquímicos, resultados dentro da faixa de normalidade. O animal C2 apresentou hiperproteinemia e aumento dos níveis de gama glutamil transferase e no animal C3 constatou-se leucopenia por neutropenia, hipoproteinemia, hipoalbuminemia e hiperfibrinogenemia.

Dos 10 equinos que foram submetidos ao exame parasitológico de fezes, através da contagem de ovos por grama de fezes (OPG) pelo método de MacMaster, verificou-se a presença de parasitas em seis casos com manifestações clínicas de diarreia crônica. Em quatro casos foram observados ovos da família *Strongyloidea* com OPG de: 500 ovos/g de fezes (C12), 300 ovos/g (C13), 250 ovos/g (C14) e 750 ovos/g (C15). Sendo que, nos casos C12 e C13, o exame de coprocultura identificou a presença de 100% *Cyathostominae*. Também foi encontrada nas amostras de fezes analisadas de dois equinos presença de *Giardia* sp. (C9 e C11).

Não houve alterações nas análises físicas, bioquímica e citológica do líquido peritoneal em sete equinos (C1, C3, C4, C5, C6, C8 e C10) e foram encontradas alterações em dois animais (C2 e C9), sendo um com emagrecimento progressivo e um com diarreia crônica. No equino C2 observou-se um líquido amarelo, turvo e a contagem de células nucleadas mostrou-se aumentada (24.600 / μ L) com predomínio de neutrófilos. No equino A9 a contagem revelou a presença de neutrófilos, inúmeras bactérias heterogêneas e pequenos linfócitos (6.700/ μ L). No apêndice A e

B estão os resultados dos exames laboratoriais (hemograma e bioquímica sérica) dos animais deste grupo.

O teste de tolerância oral a glicose foi realizado em cinco equinos. Alterações foram observadas nos casos A3 e A10 mostrando má absorção total, pois o nível de glicose encontrava-se abaixo de 15% do valor basal.

Na avaliação microbiológica de sete animais com diarreia crônica foram isolados micro-organismos como *E. coli* em seis casos (C4, C5, C6, C7, C8, C9, e C10), *Citrobacter amatonaticus* em dois (C4 e C5), *Klebsiela pneumoniae* em quatro (C5, C6, C8 e C10) e *Citrobacterer diversus* em um (C11).

Palpação retal ocorreu em todos os casos e não revelou nenhuma alteração.

Dos casos analisados, apenas um animal apresentou biópsia do intestino delgado e fígado. No equino C1 foi realizada primeiro uma laparoscopia para a obtenção de fragmentos do fígado e, posteriormente, através da laparotomia exploratória em estação foi realizada a biópsia do intestino delgado. Os resultados da análise microscópica dos fragmentos do fígado revelaram hepatite portal crônica discreta com proliferação ductal, e fibrose portal associada a discreta atividade lobular, discreta degeneração hidrópica hepatocelular difusa e presença de células de Kupffer com discreta pigmentação dourada intracitoplasmática compatível com hemossiderina. Nos fragmentos de intestino delgado foi realizado diagnóstico de enterite linfoplasmocítica difusa discreta com aumento moderado da quantidade dos linfócitos intra-epiteliais; relação vilo-cripta mantida (V:C= 3:1), criptas preservadas e discreta congestão.

Quatro dos 15 equinos foram eutanasiados (C6, C8, C9 e C10) e um foi a óbito de forma natural (C3). Os resultados dos exames *post mortem* mostraram os seguintes diagnósticos: intussuscepção ceco-cecal no caso C6, linfoma alimentar nos casos C8 e C9 e enterite necro ulcerativa crônica segmentar no C10. Destes, apenas dois casos (C9 e C10) tiveram fragmentos intestinais adequados para a análise histopatológica.

O equino C9 apresentou, no fragmento do ceco, perda da estrutura histológica devido a proliferação de linfócitos pequenos de aspecto monomórfico compatível com linfoma. No intestino delgado foi observada enterite atrófica linfoplasmocítica com aumento discreto dos linfócitos intra-epiteliais, relação vilo-cripta diminuída (V:C = 2:1), discreta hiperplasia das criptas. Na análise do cólon foi observado aumento moderado dos linfócitos intra-epiteliais, diminuição discreta das

células caliciformes e infiltração por linfócitos pequenos de aspecto monomórfico compatível com linfoma.

No equino C10 a avaliação histopatológica do intestino delgado revelou enterite linfoplasmocítica discreta difusa com aumento discreto na quantidade dos linfócitos intra-epiteliais, a relação vilo-crypta foi mantida (V:C = 3:1) e a lâmina própria apresentou discreto infiltrado linfoplasmocítico. O cólon menor e cólon maior também foram avaliados e o diagnóstico obtido foi de colite ulcerativa crônica multissegmentar onde foram observadas as seguintes características: redução moderada das células caliciformes e linfangiectasia moderada a marcante na submucosa com diminuição da espessura da mucosa.

5.3.1 Resultados histopatológicos

Nas 16 biópsias retais realizadas em 15 equinos no grupo 3 o procedimento foi considerado difícil em quatro casos devido: ao pneumoreto (2/4), dificuldade de contenção do animal (1/4) e a diarreia crônica (1/4).

As amostras de mucosa retal obtidas tinham em média 11,2 mm de comprimento x 60 mm de largura x 42 mm de espessura. Com relação à qualidade tecidual apenas um caso apresentou escore 1 (qualidade boa).

No animal C10 foram realizadas duas biópsias retais sendo observados diagnósticos diferentes em cada uma delas, por isso denominou-se como “C10a” a primeira biópsia e como “C10b” a segunda biópsia.

O quadro 3 lista os diagnósticos histopatológicos da mucosa retal por animal.

No apêndice F estão os resultados das análises histopatológicas por escore; e no apêndice J a média das contagens das células inflamatórias obtidas neste grupo.

Quadro 3 – Diagnósticos histopatológicos da biópsia retal dos equinos com manifestações clínicas inespecíficas do TGI (Grupo 3)

ANIMAL	DIAGNÓSTICOS HISTOPATOLÓGICOS
C1	Proctite linfoplasmocítica com aumento de neutrófilos
C2	Proctite linfoplasmocítica simples
C3	Proctite linfoplasmocítica simples
C4	Proctite erosiva
C5	Proctite linfoplasmocítica simples
C6	Proctite linfoplasmocítica simples
C7	Proctite linfoplasmocítica com aumento de neutrófilos
C8	Infiltração linfócitos atípicos/linfoma
C9	Dentro do padrão de normalidade
C10a	Proctite erosiva
C10b	Proctite linfoplasmocítica simples
C11	Proctite linfoplasmocítica com aumento de neutrófilos e eosinófilos
C12	Proctite eosinofílica
C13	Proctite erosiva
C14	Proctite linfoplasmocítica simples
C15	Proctite eosinofílica

Proctite linfoplasmocítica simples foi observado em seis equinos (6/15): dois casos (C2 e C3) com manifestações clínicas de emagrecimento progressivo e quatro (C5, C6, C10b e C14) com diarreia crônica. As características histopatológicas observadas mostraram epitélio superficial preservado em todos os casos, hiperplasia moderada das criptas intestinais (1/6) e diminuição das células caliciformes (1/6). As células caliciformes apresentaram mucinas ácidas em maior quantidade em quatro casos (4/6) e mistura em um (1/6). Em quatro casos houve aumento de linfócitos intra-epiteliais (4/6) com intensidade variando de discreto (2/6) a moderado (2/6). Presença de hemorragia discreta na lâmina própria (4/6) a moderada (1/6). O infiltrado inflamatório linfoplasmocítico na lâmina própria variou entre um aumento discreto (4/6) a moderado (2/6) com a presença de uma quantidade discreta de eosinófilos (1/6). Edema discreto foi encontrado em todos os casos. Na submucosa também predominou um aumento discreto do infiltrado linfoplasmocítico (5/6) com um aumento discreto de eosinófilos (2/6). Mastócitos estavam presentes na submucosa em quantidades dentro do padrão de normalidade. Folículos linfóides

hiperplásicos foram observados em três casos (3/6). A figura 8 ilustra as características histopatológicas descritas.

Proctite erosiva foi observada em três casos (C4, C10a e C13) de equinos com diarreia crônica. A principal alteração observada neste diagnóstico foi à presença de segmentos de erosão (3/3) dos colonócitos superficiais e de trechos de reepitelização por células cuboides. Quanto às demais características foram observadas: hiperplasia de cripta moderada (1/3), focos discretos de criptite por neutrófilos (1/3) e diminuição discreta das células caliciformes com predomínio das mucinas ácidas (3/3), aumento discreto do número de linfócitos intra-epiteliais (2/3), aumento moderado na intensidade do infiltrado linfoplasmocítico na lâmina própria (3/3) com aumento discreto dos neutrófilos (2/3). Focos extensos de hemorragia discreta na lamina própria superficial com exsudação de fibrina e focos de restos celulares subepiteliais (3/3) também foram observados. Na submucosa o aumento no infiltrado linfoplasmocítico foi de discreto (2/3) a moderado (1/3) e mastócitos estavam presentes dentro do padrão de normalidade. Edema foi observado em todos os casos e folículo linfoide hiperplásico foi encontrado em um. A figura 9 exemplifica as principais características histopatológicas da mucosa retal com proctite erosiva.

No equino C10, onde duas biópsias retais foram obtidas com intuito de acompanhamento histopatológico do caso clínico, podemos observar na figura 10, que, depois do tratamento com corticosteroides houve uma melhora da mucosa retal com mudança de diagnóstico histopatológico de uma proctite erosiva para uma proctite linfoplasmocítica simples.

Proctite linfoplasmocítica com aumento de neutrófilos foi observada nos casos C1 e C7. As características histopatológicas foram: epitélio superficial preservado, criptite discreta por eosinófilos (1/2), nas células caliciformes foram observadas mucinas ácidas (2/2); aumento discreto do infiltrado linfoplasmocítico na lâmina própria e submucosa (2/2); aumento discreto (1/2) a moderado (1/2) do número de neutrófilos foi observado na lâmina própria profunda entre e abaixo das criptas, algumas vezes, entre elas. Mastócitos foram observados na submucosa dentro do padrão de normalidade. Edema foi observado de discreto a moderado na submucosa.

Proctite eosinofílica foi o diagnóstico observado na mucosa retal nos casos C12 e C15, e as seguintes características foram encontradas: epitélio superficial

preservado; discreto aumento na quantidade de eosinófilos subepitelial (1/2); criptite por eosinófilos (1/2); presença de mucinas ácidas (1/2) e de mistura (ácidas e neutras) (1/2) nas células caliciformes; aumento moderado na intensidade do infiltrado linfoplasmocítico na lâmina própria e submucosa (2/2); aumento discreto do número de eosinófilos (1/2) próximo à camada muscular da mucosa e aumento moderado focal do número de eosinófilos (1/2) na região entre e abaixo das criptas na lâmina própria. Hemorragia moderada (1/2) foi observada na lâmina própria da mucosa. Na submucosa a intensidade do aumento do número de eosinófilos variou de moderado (1/2) a marcante (1/2) com um aumento discreto do número de mastócitos (1/2). Presença de edema discreto e folículo linfoide hiperplásico em todos os casos.

Proctite linfoplasmocítica com aumento de neutrófilos e eosinófilos foi observado no caso C11 e as características histopatológicas foram: epitélio superficial preservado, diminuição discreta das células caliciformes com presença de mucina ácida, moderado aumento da intensidade do infiltrado linfoplasmocítico na lâmina própria e aumento discreto destas células na submucosa, aumento discreto do número de neutrófilos na lamina própria, aumento moderado na intensidade de eosinófilos na submucosa com um aumento discreto de mastócitos, hemorragia moderada e discreto edema.

Linfoma foi diagnosticado no caso C8 (Figura 11) o qual foi caracterizado por aumento moderado do número de linfócitos intra-epiteliais e marcante infiltração por linfócitos atípicos que exibem halos esbranquiçados ao redor do núcleo com cromatina não condensada, por vezes, com nucléolo evidente e em mitose na lâmina própria. As células neoplásicas se distribuem entre as criptas de forma a perder a arquitetura histológica da mucosa. Foi observado diminuição das células caliciformes com poucas mucinas ácidas prevalecendo a mistura (ácida e neutra). Hemorragia moderada tanto na superfície como em região profunda na lâmina própria.

O resumo dos exames complementares realizados nos animais do grupo 3 e sua relação com o diagnóstico estão apresentados no quadro 4.

Quadro 4 – Exames complementares realizados nos animais do Grupo 3 e sua relação com o diagnóstico

ANIMAL	Exame parasit. das fezes	Líquido Peritoneal	Teste de absorção intestinal	Cultura	Gastros.	Ultrassom Abdominal	Palpação retal	Diagnóstico histopatológico da biópsia retal	Diagnóstico Definitivo	Diagnóstico Sugestivo	Exames que ajudaram no diagn.
C1	NEGATIVO	NORMAL	NORMAL	NR	NR	NR	NR	PLFP COM NEUTRÓFILOS	-	-	-
C2	NR	ALT.	NR	NR	NR	ALT.	NORMAL	PLFP SIMPLES	-	-	-
C3	NEGATIVO	NORMAL	ALT.	<i>E. coli/Citrobacter amatonaticus</i>	ALT.	ALT.	NORMAL	PLFP SIMPLES	-	-	-
C4	NEGATIVO	NORMAL	NORMAL	<i>E. coli/Citrobacter amatonaticus/Klebsiella pneumoniae</i>	NR	ALT.	NORMAL	PROCTITE EROSIVA	-	Enterite bacteriana	Ultrassom e Cultura de fezes
C5	NEGATIVO	NORMAL	NORMAL	<i>E. coli/Klebsiella pneumoniae</i>	NR	NORMAL	NORMAL	PLFP SIMPLES	-	Enterite bacteriana	Cultura de fezes
C6	NEGATIVO	NORMAL	NR	<i>Klebsiella pneumoniae/E. coli</i>	NR	ALT.	NORMAL	PLFP SIMPLES	Intussuscepção ceco-cecal crônica	-	Ultrassom Post mortem
C7	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	PLFP SIMPLES COM NEUTRÓFILOS	-	-	-
C8	NR	NORMAL	NR	<i>E. coli / Klebsiella pneumoniae</i>	NR	ALT.	NORMAL	INFILTRAÇÃO LINFÓCITOS ATÍPICOS	Linfoma	-	Biópsia retal Post mortem
C9	<i>Giardia sp.</i>	ALT.	NR	<i>E. coli</i>	NR	ALT.	NR	DENTRO DO PADRÃO DE NORMALIDADE	Linfoma	-	Post mortem
C10	NR	NORMAL	ALT.	<i>E. coli / Klebsiella pneumoniae</i>	NR	ALT.	NORMAL	PROCTITE EROSIVA	Colite ulcerativa	-	Post mortem
C11	<i>Giardia sp.</i>	NR	NR	<i>Citrobacterer diversus</i>	NR	NR	NR	PLFP SIMPLES COM NEUTRÓFILOS E EOSINÓFILOS	-	-	-
C12	Strongyloidea 500 OPG	NR	NR	NR	NR	NR	NR	PROCTITE EOSINOFÍLICA	-	Ciatostomíase	Biópsia retal Exame de fezes
C13	Strongyloidea 300 OPG	NR	NR	NR	NR	NR	NR	PROCTITE EROSIVA	-	Ciatostomíase	Exame de fezes
C14	Strongyloidea 250 OPG	NR	NR	NR	NR	NR	NR	PLFP SIMPLES	-	Ciatostomíase	Exame de fezes
C15	Strongyloidea 750 OPG	NR	NR	NR	NR	NR	NR	PROCTITE EOSINOFÍLICA	-	Ciatostomíase	Biópsia retal Exame de fezes

Parasit.: parasitológico; Gastros.: gastroscopia.

NR: não realizado, ALT: alterado.

Figura 1 – Fotomicrografia da mucosa retal do equino 2A (1ª biopsia) do Grupo 1 (histologia retal normal)

Legenda: **A** – Padrão morfológico normal da mucosa e submucosa retal. HE, 40x. **B** – Epitélio retal superficial dentro do padrão de histologia normal. HE, 400x. **C** – Observe infiltrado de linfócitos, plasmócitos e eosinófilos em pequeno número na lâmina própria. HE, 400x. **D** – Epitélio retal corado por ácido peródico de Schiff (PAS) e azul de alciano 2,5% mostrando em azul presença do predomínio de mucina ácida nas células caliciformes. PAS e azul de alciano 2,5%, 100x.

Figura 2 – Fotomicrografia da mucosa retal do equino 8A (1ª biopsia) Grupo 1 com diagnóstico de proctite linfoplasmocítica com aumento de eosinófilos.

Legenda: **A** – Aumento discreto na intensidade do infiltrado linfoplasmocítico na lâmina própria da mucosa. HE, 40x. **B** – Aumento moderado do número de eosinófilos na submucosa. HE, 400x.

Figura 3 – Fotomicrografia da mucosa retal do equino 8A (1ª biópsia) Grupo 1 com diagnóstico de proctite linfoplasmocítica com aumento de eosinófilos.

Legenda: **A** – Observe a diminuição discreta de mucina ácida (azul) nas células caliciformes e mistura entre mucinas ácidas e neutras (roxa). PAS com azul de alciano 2,5%, 100x. **B** – Aumento no número de mastócitos na submucosa (em azul). Azul de toluidina, 400x.

Figura 4 – Fotomicrografia da mucosa retal do equino 1 (1ª biópsia e 2ª biópsia) do Grupo 1

Legenda: **A e C** – Observe o padrão histológico normal da mucosa e submucosa retal na primeira biópsia (A) e na segunda biópsia (C). HE, 40x. **B e D** – Distribuição das criptas e da intensidade de infiltrado inflamatório considerado dentro do padrão de normalidade na lâmina própria na primeira biópsia (B) e na segunda biópsia (D). HE, 100x.

Figura 5 – Fotomicrografia da mucosa retal do equino 4B (2ª biópsia) Grupo 1 com diagnóstico de proctite linfoplasmocítica com aumento de neutrófilos.

Legenda: **A e B** – Aumento moderado focal da quantidade de neutrófilos na região entre as criptas (setas) e abaixo delas (seta verde) da lâmina própria da mucosa. HE, 400x.

Figura 6 – Fotomicrografia da mucosa retal do equino B1 (Grupo 2) com diagnóstico de proctite linfoplasmocítica e peritonite fibrinoneutrofílica bacteriana

Legenda: **A** – Edema marcante na submucosa caracterizado pela distensão de linfáticos. HE, 40x. **B** – Peritonite fibrinoneutrofílica bacteriana (*). HE, 40x. **C** – Aumento moderado na intensidade do infiltrado linfoplasmocítico na zona da cripta em lâmina própria e a presença de alguns eosinófilos. HE, 400x. **D** – Observe o predomínio de mucina ácida (azul) em quantidade menor e a presença de mucina neutra (vermelho) nas células caliciformes. HE, 100x.

Figura 7 – Fotomicrografia da mucosa retal do equino B2 (Grupo 2) com diagnóstico de proctite eosinofílica.

Legenda: **A e B** – Infiltrado inflamatório predominante de eosinófilos e aumento discreto do infiltrado linfoplasmocítico na lâmina própria. HE, 100x e 400x, respectivamente. **C** - Aumento marcante na quantidade de eosinófilos e discreto de mastócitos na submucosa. HE, 400x. **D** – Aumento discreto de mastócitos na submucosa. Azul de toluidina, 400x

Figura 8 – Fotomicrografia da mucosa retal do equino C5 (Grupo 3) com diagnóstico de proctite linfoplasmocítica simples.

Legenda: **A** – Observe discreto número de linfócitos intra-epiteliais (setas). HE, 400x. **B** – Verifique discreto aumento na intensidade do infiltrado linfoplasmocítico na lâmina própria abaixo das criptas. HE, 400x.

Figura 9 – Fotomicrografia da mucosa retal do equino C10a (1ª biópsia) do Grupo 3 com diagnóstico de proctite erosiva.

Legenda: **A** – Observe diminuição discreta das células caliciformes e moderada hiperplasia de criptas na lâmina própria. HE, 40x. **B** - Presença de segmentos de erosão dos colonócitos superficiais (seta verde) e presença de restos celulares (fragmentação de linfócitos) de linfócitos superficiais (setas pretas) e congestão superficial. HE, 400x. **C** – Presença de trechos de reepitelização por células cuboides. HE, 400x. **D** – Observe a diminuição da mucina ácida nas células caliciformes da lâmina própria. PAS com Azul de alciano 2,5%, 400x.

Figura 10 – Fotomicrografia da mucosa retal do equino C10b (2ª biópsia) do Grupo 3 com diagnóstico de proctite linfoplasmocítica simples.

Legenda: **A** – Observe diminuição discreta das células caliciformes e moderada hiperplasia descritas na lâmina própria. HE, 100x. **B** – Epitélio superficial preservado quando comparado com a figura 12 (A e B) que apresentava áreas de erosão na 1ª biópsia. HE, 400x.

Figura 11 – Fotomicrografia da mucosa retal do equino C8 (Grupo 3) com diagnóstico de linfoma

Legenda: **A** – Observe perda do paralelismo e na arquitetura das criptas. HE, 40x. **B** – Marcante infiltração de linfócitos na lâmina própria. HE, 100x. **C** – Aumento moderado no número de linfócitos intra-epiteliais (setas). **D** – Observe mitose dos linfócitos na lâmina própria. HE, 400x. **E** – Linfócitos infiltrando as criptas na lâmina própria (setas). HE, 400x. **F** – Observe a diminuição das células caliciformes e depleção de mucina ácida na lâmina própria. HE, 400x.

6 DISCUSSÃO

6.1 AVALIAÇÃO DA TÉCNICA DE BIÓPSIA RETAL

Há algumas décadas a biópsia retal vem sendo utilizada na clínica de equinos como ferramenta diagnóstica na avaliação de algumas alterações gastrintestinais inespecíficas, auxiliando, de forma minimamente invasiva, o diagnóstico nestas situações. No Brasil, a realização desta técnica é pouco conhecida devido à infrequente solicitação do exame e ao receio de sua utilização.

Neste estudo, a técnica de biópsia retal avaliada foi considerada segura e minimamente invasiva, não sendo observada nenhuma alteração nos parâmetros clínicos dos equinos durante o experimento, como citado por outros autores (RICKETTS, 1996; PEARSON; REIDEL, 1998).

Segundo Pearson e Heidel (1998), como o procedimento é realizado às cegas podem ocorrer lesões em grandes vasos causando hemorragias, além da possibilidade de complicações mais graves como uma peritonite secundária a perfuração da mucosa retal, eventos não observados neste trabalho.

Em virtude do temperamento dócil dos equinos, do tempo despendido no preparo dos mesmos e dos possíveis efeitos adversos do sedativo optou-se pela não utilização da tranquilização nos últimos seis animais do grupo 1, concordando com Schumacher e Moll (2007), que indicam que a contenção necessária para a biópsia é a mesma para a palpação segura do abdômen por via retal.

A utilização da anestesia local com gel de lidocaína a 2% e a contenção propiciada pelo tronco permitiu a realização das biópsias retais, com mínimo de desconforto para os equinos, em todas as outras ocasiões. A utilização de anestesia local para esta finalidade não foi relatada em nenhum outro estudo.

As dificuldades na realização da técnica ocorreram em apenas 9,3% dos casos (4/43), alguns autores também citaram dificuldades na realização do procedimento de biópsia retal, principalmente com relação ao pneumoreto (RICKETTS, 1996). Para a resolução deste problema o equino era colocado para caminhar por alguns minutos possibilitando a saída de ar da ampola retal. Em seguida, o procedimento para obtenção da biópsia retal era realizado facilmente.

Cuidados devem ser tomados com relação à quantidade de mucosa que é apreendida entre o polegar e o indicador, pois como a pinça de biópsia uterina não é bem afiada, o fragmento de mucosa retal é obtido através de um *esgarçamento* do tecido. Portanto, no momento do pinçamento, é necessário ancorar a mucosa, para que apenas a quantidade que foi apreendida pela pinça seja retirada.

Em sete das 43 amostras (16,27%) obtidas à qualidade tecidual foi considerada boa (e não ótima). Isso ocorreu devido à autólise dos tecidos em três casos (coleta do material realizado durante a necrópsia) e pouca submucosa em outros quatro casos. Nestas amostras onde pouca submucosa foi obtida, os tamanhos dos fragmentos foram iguais ou inferiores a 10 mm de comprimento.

Devido à insegurança inicial em relação à técnica de biópsia retal e ao receio de complicações, no início do experimento alguns fragmentos de mucosa retal biopsiados apresentaram tamanho menor, como mencionado anteriormente. O fato da técnica ser realizada às cegas também colaborou para esta variação. Contudo, a maioria dos fragmentos obtidos foram de tamanho e qualidade adequados à avaliação histopatológica, assim como foi observado por Lindberg, Nygren, Pearsson (1996) e Ricketts (1996).

A técnica de biópsia retal avaliada foi considerada como um procedimento de fácil execução, segura e minimamente invasiva, pois não foram observadas complicações em decorrência das biópsias e os fragmentos obtidos foram adequados para as avaliações histopatológicas.

6.2 ANIMAIS CLINICAMENTE SAUDÁVEIS: GRUPO 1

A interpretação das alterações histopatológicas foi dificultada pela falta de estudos nesta área. Apenas um único estudo foi desenvolvido descrevendo as alterações histopatológicas na mucosa retal de equinos com doenças do trato gastrointestinal e saudáveis, utilizando-se de critérios específicos e obtendo diagnósticos de acordo com os padrões observados. Neste estudo, realizado por Lindberg, Nygren e Pearsson (1996), a mucosa retal de trinta equinos clinicamente saudáveis (controles) apresentou as seguintes características: moderado aumento do número dos linfócitos intra-epiteliais presentes na superfície do epitélio; aumento

moderado na intensidade do infiltrado linfoplasmocítico e de macrófagos na lâmina própria; poucos ou dispersos neutrófilos e mastócitos também na lâmina própria; alguns eosinófilos foram encontrados regularmente, principalmente ao redor e abaixo das criptas; mucinas ácidas estavam presentes em maior quantidade que as mucinas neutras nas células caliciformes; poucos folículos linfoides foram observados; dispersos linfócitos e plasmócitos foram encontrados na submucosa; um aumento moderado do número de eosinófilos e mastócitos, e a ausência de neutrófilos também foram observados na submucosa.

Avaliando as características da mucosa retal encontradas no grupo controle do estudo realizado por Lindberg, Nygren e Pearsson (1996) podemos observar algumas diferenças em relação aos achados deste trabalho, principalmente, com relação a intensidade do infiltrado inflamatório.

No presente estudo, não houve aumento dos linfócitos intra-epiteliais e do infiltrado linfoplasmocítico na lâmina própria, mantendo-se dentro do padrão de normalidade estabelecido. Nota-se também que os neutrófilos, mastócitos e macrófagos não foram observados na lâmina própria da primeira biópsia dos sete animais que apresentaram histologia dentro do padrão de normalidade.

Assim como observado no estudo de Lindberg, Nygren e Pearsson (1996), a presença uma maior quantidade de mucinas ácidas do que neutras ou do que a mistura (ácidas e neutras), nas células caliciformes, foram os resultados também obtidos por esse trabalho.

Uma importante observação em ambos os estudos foi à presença de uma quantidade maior de eosinófilos na submucosa em relação a lâmina própria da mucosa e, quando localizadas nesta região, estas células estavam presentes em maior número abaixo das criptas.

Rotting et al. (2008) avaliaram 14 equinos eutanasiados por causas não relacionadas ao trato gastrointestinal e verificaram que os eosinófilos foram observados em maior número na região abaixo das criptas na lâmina própria da mucosa e raramente foram encontrados na superfície do epitélio em todos os segmentos intestinais analisados, em concordância com os achados deste estudo.

Dentro dos 10 equinos clinicamente saudáveis, três deles apresentaram na mucosa retal características que não nos permitiram classificá-los no grupo de animais com histopatologia dentro do padrão de normalidade pois, na tentativa de estabelecer um padrão comum quantificando as células inflamatórias, estes equinos

acabaram apresentando aumento destas células em relação aos outros sete animais.

Geralmente, a inflamação do trato gastrointestinal é classificada dentro de uma escala simples como: normal, discreta, moderada ou marcante. No entanto, os critérios utilizados para definir cada um destes pontos podem ser divergentes entre os patologistas, e mesmo quando aplicados critérios específicos, uma variação pode ocorrer na interpretação das amostras.

Como consequência da interpretação subjetiva histopatológica de qualquer tecido, a avaliação das alterações sofre considerável variação entre os observadores, e o diagnóstico de anormalidades discretas e marcantes fica prejudicado (WILLARD, 2002).

Lindberg, Nygren e Pearsson (1996) não quantificaram as células inflamatórias nas biópsias retais dos seus casos, dificultando a interpretação dos resultados obtidos e tornando difícil a comparação entre os estudos.

No presente estudo, os equinos clinicamente saudáveis foram categorizados de acordo com a quantidade média de células mononucleares, linfócitos intra-epiteliais, eosinófilos, neutrófilos e mastócitos durante a análise histopatológica.

Devido a estas análises, três equinos, apesar de clinicamente saudáveis, apresentaram como diagnóstico histopatológico proctite linfoplasmocítica com aumento de eosinófilos em dois casos e proctite linfoplasmocítica com aumento de neutrófilos e eosinófilos em um caso. A intensidade do infiltrado inflamatório por eosinófilos foi considerado como moderado em todos estes casos.

Vários graus de infiltração eosinofílica foram observados na lâmina própria e submucosa das biópsias retais dos animais controles no estudo de Lindberg, Nygren e Pearsson (1996) e foi considerado de baixa significância diagnóstica.

Packer et al. (2005) procuraram quantificar as células inflamatórias em biópsias de jejuno de equinos normais, e foram encontradas quantidades significativamente maiores de eosinófilos residentes entre as criptas intestinais em comparação à região das vilosidades. No entanto, esta informação foi obtida a partir de equinos cuja informação sobre a carga parasitária, o controle anti-helmíntico e os fatores dietéticos eram desconhecidos. Apesar das diferenças nos segmentos intestinais, este mesmo padrão foi encontrado na mucosa retal neste estudo, onde os eosinófilos foram observados em maior número abaixo das criptas como anteriormente citado.

A presença de eosinófilos na lâmina própria intestinal dos equinos é, muitas vezes, consistente com quadros de enterite eosinofílica, incluindo a induzida por parasitas (PACKER et al., 2005).

Contudo é importante ressaltar que a maioria dos equinos têm cargas intestinais parasitárias de gravidade variável, e isto pode explicar a presença de uma leve infiltração eosinofílica na lâmina própria intestinal destes animais sem evidência clínica de doença. É possível também que pelo menos algumas dessas células seja um componente normal da população celular imunológica neste local (PACKER et al., 2005).

Segundo Moore et al. (1994), independente do protocolo anti-helmíntico utilizado, existe um grande número de eosinófilos residentes no trato gastrintestinal dos equinos. Porém, faltam estudos para estabelecer a partir de qual intensidade a infiltração eosinofílica intestinal pode representar uma doença.

Não foi possível estabelecer as causas do aumento na intensidade dos linfócitos, plasmócitos, neutrófilos na lâmina própria e, principalmente, dos eosinófilos na submucosa dos três equinos deste grupo. Clinicamente estes animais não apresentavam nenhuma alteração, todos haviam sido vermifugados e suas dietas eram semelhantes as dos demais, compostas de concentrado e feno.

Estes animais poderiam ser classificados dentro do padrão de normalidade histopatológica quando comparados com os equinos clinicamente saudáveis encontrados no estudo de Lindberg, Nygren e Pearsson (1996).

Os resultados dos animais controles do estudo de Lindberg, Nygren, e Pearsson (1996) apresentaram uma maior intensidade de células inflamatórias quando comparados ao padrão de normalidade estabelecido através dos sete equinos clinicamente saudáveis deste estudo.

Na análise descritiva comparando as duas biópsias retais, a primeira realizada após 15 minutos de palpação retal e a segunda após 48 horas do primeiro procedimento, pôde-se observar a presença de um aumento discreto na lâmina própria de linfócitos e plasmócitos em três casos, aumento discreto de neutrófilos em um caso e um aumento focal moderado de neutrófilos em outro caso, sendo que na primeira biópsia estes equinos não haviam apresentado alterações.

Portanto, a segunda biópsia demonstrou que, após 48 horas da palpação retal houve uma mudança na quantidade do infiltrado inflamatório, principalmente com

relação aos linfócitos, plasmócitos e neutrófilos, o que é importante a ser considerado na interpretação dos resultados dos casos clínicos.

Lindberg, Nygren, Pearsson (1996) consideraram que neutrófilos raros e dispersos na lâmina própria possam ocorrer na mucosa retal de equinos clinicamente saudáveis, e apenas quando os neutrófilos estão presentes no epitélio de superfície ou nas criptas poderiam indicar alguma inflamação ou doença.

Packer et al. (2005), procurando quantificar a população de células imunes em biópsias de jejuno de 14 equinos, encontraram apenas um neutrófilo na lâmina própria das vilosidades em um caso, sugerindo que, para o jejuno, a presença de neutrófilos na lâmina própria possa ser considerada uma alteração. A ausência de estudos avaliando e quantificando os neutrófilos no trato gastrointestinal equino torna difícil essa discussão.

Segundo Lindberg, Nygren e Pearsson (1996) a interpretação quanto à intensidade de linfócitos e plasmócitos infiltrando a lâmina própria e submucosa é igualmente subjetiva, sendo que no grupo dos animais controles, a intensidade destas células variou entre leve a moderada, indicando que a hiper celularidade destes elementos é uma mudança clinicamente relevante.

Apesar das alterações observadas na primeira e na segunda biópsia não serem estatisticamente significativas, a manipulação retal pode estar relacionada com os diagnósticos histopatológicos diferentes em 30% (3/10) dos casos na segunda biópsia. Assim, nos casos em que a biópsia for realizada em animais que já passaram pela palpação retal, deve-se analisar com cautela os resultados histopatológicos.

A maioria dos estudos encontrados na literatura é composta de relatos de casos, onde a biópsia retal foi utilizada como exame complementar em animais com alterações do trato gastrointestinal (MACALLISTER et al., 1990; KEMPER et al., 2000; SCHUMACHER; EDWARDS; COHEN, 2000). Apenas no estudo realizado por Lindberg, Nygren e Pearsson (1996) foram encontradas análises histopatológicas da mucosa retal de animais clinicamente saudáveis. Livros de histologia veterinária e patologia também não descrevem as características histológicas da mucosa retal dos equinos.

Portanto, os animais do grupo 1 foram utilizados para determinar o padrão de normalidade da mucosa retal em equinos clinicamente saudáveis, para depois utilizar-se este padrão como base para estudar os outros grupos deste trabalho.

6.3 ANIMAIS COM ALTERAÇÕES DO TRATO GASTRINTESTINAL: GRUPO 2

Quatro equinos (4/7) com manifestações clínicas de síndrome de cólica apresentaram como diagnóstico histopatológico da mucosa retal uma proctite linfoplasmocítica simples.

Estudos relacionados sugerem que estes achados representam um padrão bastante inespecífico de hiper-reatividade da mucosa do intestino, e parecem ser um marcador de alterações no segmento intestinal proximal ao invés de um achado normal (LINDBERG; NYGREN; PEASSON, 1996).

O equino B2 apresentou uma proctite eosinofílica no exame histopatológico da biópsia retal. Resultado semelhante também foi observado no exame histopatológico da mucosa intestinal do intestino delgado caracterizado por enterite eosinofílica moderada com marcante hemorragia na submucosa e presença de número moderado de neutrófilos. Estes resultados podem estar relacionados com a enterite eosinofílica idiopática recentemente relatada na literatura. Poucos casos foram descritos ainda em equinos.

No estudo de Archer et al. (2006) foram avaliados 12 equinos com diagnóstico de enterite eosinofílica focal idiopática com média de idade de 9,7 anos. Este diagnóstico foi realizado através da laparotomia exploratória e confirmado pela avaliação histopatológica de segmentos com alterações do intestino delgado. Todos os 12 animais apresentaram quadros de cólica associados com obstrução do intestino delgado envolvendo visíveis e palpáveis placas serosas espessadas e constrições circunferenciais do intestino, além de edema e hemorragia na submucosa.

Os resultados histopatológicos dos segmentos intestinais afetados do estudo anterior demonstraram: epitélio superficial preservado em sete casos; presença de poucos neutrófilos dispersos na lâmina própria em um caso; ulceração focal da mucosa em dois; lâmina própria com quantidade normal de linfócitos e plasmócitos; linfócitos intra-epiteliais foram evidentes em três casos e eosinófilos eram raros e dispersos na lâmina própria em sete animais. Em todos os casos as lesões importantes ocorreram nas estruturas profundas da parede do intestino delgado onde foram observadas: hiperemia da submucosa, edema e dilatação linfática,

marcante ativação de fibroblastos e um infiltrado predominante de eosinófilos na submucosa, muscular externa e serosa (ARCHER et al., 2006).

Southwood et al. (2000) relataram seis casos de equinos com dor abdominal persistente diagnosticados com enterite eosinofílica, a idade média observada foi de 10 anos e os animais não possuíam histórico de emagrecimento progressivo, diarreia ou inapetência. Na cirurgia foi observada distensão do intestino delgado com a presença de massas causando obstrução do jejuno em todos os casos. As lesões observadas nos segmentos intestinais apresentaram uma marcante infiltração eosinofílica em todas as camadas intestinais.

As manifestações clínicas observadas no equino B2 foram sudorese, olhar o flanco, cavar, rolar e até decúbito, o quadro de dor foi persistente e não responsivo a analgésicos. Na cirurgia foi observada uma compactação do íleo com torção do intestino delgado com aproximadamente três metros deste segmento necrosado. Estas alterações indicam uma lesão obstrutiva intestinal, que representa uma etiologia de síndrome cólica de grande importância, devido a elevada incidência e taxas de óbito (WHITE, 1990).

Quando ocorrem lesões obstrutivas com isquemia intestinal, geralmente é observada infiltração de neutrófilos nestes segmentos. Meschter et al. (1986) verificaram aumento na presença de neutrófilos na mucosa e na submucosa do intestino de equinos acometidos de síndrome cólica. Little et al. (2005) relataram em equinos com lesão isquêmica induzida por uma ou duas horas, uma inflamação neutrofílica significativa do jejuno após 18 horas da cirurgia. Os eosinófilos também foram observados em lesões isquêmicas e de reperfusão, porém não com aumento na intensidade destas células e sim com uma redistribuição delas da lâmina própria da mucosa para a superfície do lúmen intestinal (HOPSTER-IVERSEN et al., 2011).

No caso do equino B2, foi observado o aumento de neutrófilos em intensidade moderada, o que pode estar associado com a lesão isquêmica provocada pela torção do intestino delgado, mas o aumento na intensidade dos eosinófilos, provavelmente está correlacionado com um quadro de enterite eosinofílica idiopática conforme relatos recentes (ARCHER et al., 2006). Quando foram avaliados os outros dois casos onde amostras do intestino delgado foram coletadas após a eutanásia, em nenhum deles foi observado um aumento na intensidade de eosinófilos na lâmina própria ou submucosa.

Apesar de o diagnóstico histopatológico ter revelado uma enterite eosinofílica, macroscopicamente não foram observadas a presença de bandas murais circunferenciais no intestino. Isto pode ter acontecido devido às alterações de motilidade terem levado à torção intestinal e necrose antes do desenvolvimento das lesões murais ou pela necrose ter impossibilitado a identificação macroscópica destas alterações.

Com relação aos fragmentos do intestino delgado e/ou cólon maior dos três animais eutanasiados, a mesma resposta inflamatória encontrada nos segmentos intestinais também foram observadas na mucosa retal, em concordância com os achados do estudo de Lindberg, Nygren e Pearsson (1996).

Quando comparados os diagnósticos histopatológicos dos animais do grupo 1 com os animais do grupo 2, podemos observar que apenas dois equinos do total de sete apresentaram um padrão de normalidade na mucosa retal, demonstrando que animais com síndrome cólica apresentam alterações, mesmo que discretas, na sua maioria.

6.4 ANIMAIS COM MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS INESPECÍFICAS DO TGI: GRUPO 3

Dos 15 equinos com manifestações clínicas inespecíficas de doença gastrointestinal observados neste estudo, nove casos (60%) apresentaram um diagnóstico histopatológico de proctite linfoplasmocítica simples e algumas variações.

No estudo de Lindberg, Nygren e Pearsson (1996) 39 biópsias retais de 36 casos clínicos foram classificadas como proctite simples, sendo que ao todo foram avaliados 60 equinos com alterações do trato gastrointestinal totalizando os mesmos 60% de ocorrência, assim como observado neste estudo.

No entanto, a proctite simples foi subdividida em: aguda, crônica e crônica ativa. A proctite simples aguda foi classificada por uma ou a combinação de algumas destas características: presença de neutrófilos no epitélio de superfície, criptite, abscessos de cripta (neutrófilos no lúmen das criptas com ou sem criptite associada) e uma infiltração considerável de neutrófilos no tecido conjuntivo. A proctite crônica

foi classificada por um aumento considerável do número de linfócitos e plasmócitos no tecido conjuntivo e, por último, os critérios para a classificação da proctite crônica ativa foram baseados na presença dos processos agudos e crônicos citados acima (LINDBERG; NYGREN; PEASSON, 1996).

No presente estudo, a proctite simples foi considerada como proctite linfoplasmocítica simples e suas variações dependiam da intensidade no aumento das células inflamatórias presentes na mucosa retal.

Uma das maiores dificuldades para comparação entre os trabalhos é saber qual a intensidade de células inflamatórias que foi considerada normal ou alterada, e isso pode ser muito variável de acordo com cada patologista. Portanto, como já foi esclarecido anteriormente, com base em nossos animais clinicamente saudáveis e sem alterações histopatológicas foi estabelecido um padrão de normalidade com atribuição de escores, que foi utilizado para a obtenção dos diagnósticos histopatológicos encontrados nos animais com alterações no trato gastrintestinal.

Um total de cinco equinos apresentaram proctite linfoplasmocítica simples (C2, C3, C5, C6, C14), dois proctite linfoplasmocítica com aumento de neutrófilos (C1 e C7) e um proctite linfoplasmocítica com aumento de neutrófilos e eosinófilos (C11). Destes equinos, em nenhum dos casos foi possível estabelecer um diagnóstico definitivo através da avaliação histopatológica da mucosa retal.

Dos dois animais (C3 e C7) com proctite linfoplasmocítica simples que não sobreviveram apenas o equino C7 foi diagnosticado com intussuscepção ceco-cecal durante o exame *post mortem*.

Os dados da necrópsia estavam disponíveis em 17 biópsias retais com diagnóstico de proctite simples no estudo de Lindberg, Nygren e Pearsson (1996). Alguns casos apresentaram a mesma resposta inflamatória nos principais segmentos do trato gastrintestinal quando comparados com as biópsias da mucosa retal. No entanto, uma grande variedade de doenças também foi observada nestes casos, incluído doença granulomatosa, ciatostomiase e linfoma.

Estudos limitados correlacionados sugerem que uma proctite simples em equinos pode representar um padrão bastante inespecífico de hiper-reatividade da mucosa intestinal (LINDBERG; NYGREN; PEASSON, 1996).

Contudo algumas alterações foram observadas nos exames clínicos e laboratoriais destes animais e serão discutidas.

Os equinos C1 e C5 apresentaram exame parasitológico de fezes negativo, nenhuma alteração na avaliação do líquido peritoneal, teste de absorção intestinal normal e avaliação ultrassonográfica abdominal sem alterações. A única alteração foi com relação ao hemograma do equino C5, pois foi observada uma leucocitose por neutrofilia. Isto pode estar relacionado com um quadro de tosse que ocorreu após alguns dias de internação no HOVET/USP, sendo que, na avaliação ultrassonográfica torácica, visibilizou-se a presença de pleura espessa e irregular.

A biópsia do fígado do equino C1 revelou uma hepatite portal discreta, possivelmente sem relação com as manifestações clínicas, visto não apresentar alterações macroscópicas na porção visualizada pelo exame laparoscópico e nem alterações nos exames bioquímicos. Pelo menos 60% do parênquima hepático tem que estar comprometido para que ocorram alterações nos exames funcionais do fígado e a presença de manifestações clínicas. Isto implica que indivíduos clinicamente saudáveis podem estar sofrendo de doenças do fígado. Um estudo de 44 equinos com doença hepática confirmada pela biópsia demonstrou que em 50% (22/44) dos casos, os animais não apresentavam manifestações clínicas (DURHAN et al., 2003).

Avaliando a biópsia do intestino delgado do equino C1 foi possível observar o mesmo infiltrado linfoplasmocítico da avaliação da mucosa retal, porém em menor grau e sem a presença de neutrófilos. A presença de neutrófilos na mucosa retal deste caso pode estar relacionada com o exame de palpação retal realizada algumas horas antes da biópsia retal.

Neutrófilos também estavam presentes na mucosa retal do equino C7. Infelizmente, devido a restrições financeiras, apenas hemograma e avaliação bioquímica foi realizado neste caso apresentando um aumento nas concentrações de ureia. O ideal seria que mais exames fossem realizados para a obtenção do diagnóstico neste caso de diarreia crônica com períodos de alternância entre fezes pastosas e normais.

O equino C11 apresentou na mucosa retal uma proctite linfoplasmocítica com aumento discreto de neutrófilos na lâmina própria e moderado de eosinófilos na submucosa. O exame parasitológico de fezes deste caso revelou a presença de *Giardia sp.* Este protozoário é conhecido por causar problemas intestinais em homens e animais e, alguns estudos, têm identificado sua presença em equinos.

Olson et al. (1997) analisaram um total de 35 amostras de fezes de equinos de 15 diferentes localizações geográficas do Canadá e, destas, sete amostras (20%) foram positivas para *Giardia*. As amostras de fezes foram examinadas após concentração por centrifugação e imunofluorescência. Avaliando os animais por idade, não foi encontrada *Giardia* em 10 amostras de potros com menos de 6 meses (0%) e, de 24 amostras de equinos com mais de 6 meses de idade, seis (25%) foram positivas.

Em um estudo realizado por Vargas e Rigolon (1998) foram analisadas amostras de fezes de 123 equinos do noroeste e do norte do Paraná. A ocorrência de *Giardia duodenalis* foi de 21,1% (26/123) e foi encontrada menor ocorrência entre os equinos com idade inferior ou igual a um ano.

Souza et al. (2009) sugeriram em seu estudo que a ocorrência de infecção natural de equinos por estes parasitas seja influenciada pela susceptibilidade individual e pelas condições sanitárias inadequadas às quais estes animais são submetidos, uma vez que todos eram animais capturados e em más condições nutricionais.

Mas a prevalência da infecção por *Giardia* e seu papel na diarreia dos equinos é ainda pouco clara, sendo necessárias pesquisas para avaliar o potencial zoonótico destes parasitas em equinos.

Já foram identificados protozoários (*Eimeria leukati*, *Polymorphella ampulla* e *Cycloposthium* sp.) na mucosa intestinal em alguns animais com diagnósticos histopatológicos de enterite ou colite eosinofílica durante o exame *post mortem* (FRENCH; MEIER; ZACHARY, 1996; SCOTT et al., 1999). Portanto, o aumento na intensidade dos eosinófilos na mucosa retal do equino C7 pode estar relacionado com a presença de *Giardia* sp., embora a presença de diarreia não tenha sido relacionada com a presença deste protozoário devido ao não acompanhamento clínico do caso.

O equino C6, que foi diagnosticado com intussuscepção ceco-cecal no exame *post mortem*, apresentou nas análises laboratoriais anemia, leucopenia por neutropenia, hipoproteinemia e hipoalbuminemia.

A intussuscepção é definida como a invaginação de uma porção do trato gastrointestinal para dentro do lúmen de um segmento adjacente (BELL; TEXTOR, 2010). É considerada uma causa rara de obstrução intestinal em equinos sendo,

frequentemente, encontrada em potros e adultos jovens (MARTIN et al., 1999; BELL; TEXTOR, 2010).

Equinos com intussuscepção podem apresentar manifestações clínicas agudas ou crônicas, que variam de acordo com o grau de obstrução intestinal. A forma aguda é caracterizada por dor abdominal leve a moderada, fezes escassas ou pastosas e febre intermitente. A forma crônica da intussuscepção pode ocorrer com duração de dias a meses, com manifestação clínica de dor abdominal moderada que diminui e evolui para emagrecimento progressivo, fato que pode ser explicado pelo isolamento do “*intussusceptum*” desvitalizado dentro de alguns “*intussusciens*” saudáveis e pela capacidade do conteúdo ileal e cecal de entrar parcialmente no orifício obstruído (MARTIN et al., 1999).

Diferente dos achados observados neste estudo, onde o equino não aparentou desconforto em nenhum momento durante a internação, a queixa principal relatada pelo proprietário foi de diarreia crônica que persistia há 90 dias. Durante o exame ultrassonográfico abdominal realizado como rotina nos casos de diarreia é que se suspeitou da condição, pois uma imagem sugestiva de intussuscepção com alças de parede intestinal espessada foi observada.

Diversos fatores têm sido descritos como causadores de intussuscepção: alterações no padrão da motilidade intestinal pela administração de medicamentos, abscessos na parede cecal, infecção por ciatostomíneos e *Anoplocephala perfoliata* (MARTIN et al, 1999; MAIR; SUTTON; LOVE, 2000).

Em um estudo retrospectivo de 135 equinos com síndrome de cólica, apenas cinco apresentaram intussuscepção ceco-cecal, com diagnóstico estabelecido por palpação retal em dois casos e por ultrassonografia abdominal em três. Como tratamento foi realizada cirurgia em três equinos, e todos sobreviveram ao procedimento, sendo que os outros dois foram eutanasiados (BELL; TEXTOR, 2010).

A causa da intussuscepção relatada neste estudo pode estar relacionada com a presença de abscesso na parede cecal, causando uma alteração na motilidade local, além de poder estar relacionado ao quadro diarreico inicial.

Segundo o estudo de Martin et al. (1999), o prognóstico de animais com intussuscepção crônica e perda de peso é mau. Neste caso, a intervenção cirúrgica nem foi tentada pela péssima condição corporal do animal devido ao tempo de evolução do quadro.

No equino C2 podemos suspeitar de uma doença hepática devido ao aumento nas concentrações séricas de gama glutamil transferase e porque durante a avaliação ultrassonográfica abdominal foi visibilizada a presença de pontos hiperreflexivos no fígado. Contudo, seriam necessários exames mais complexos, como uma biópsia hepática, para confirmar que o emagrecimento progressivo apresentado neste caso esteja correlacionado com alguma alteração hepática. Mas, devido a questões financeiras o proprietário retirou o animal do HOVET/USP.

Nos exames laboratoriais do animal C3 foi observado leucopenia por neutropenia, hipoproteinemia e hipoalbuminemia e o teste de tolerância oral a glicose (TTOG) demonstrou uma completa má absorção intestinal. Após 33 dias internado, o animal foi encontrado em decúbito, se debatendo muito e, após tentativas para levantá-lo, foi a óbito. Com base nestes exames podemos suspeitar de uma síndrome de má absorção. Mas é importante lembrar que, em alguns casos, a má absorção determinada pelo TTOG pode não ser considerada como um diagnóstico definido, pois equinos sem alterações significativas no intestino podem apresentar má absorção decorrente de uma condição transitória (CHURCH; MIDDLETON, 1997).

Em um estudo retrospectivo de 51 equinos com diarreia crônica, o teste de tolerância oral a glicose foi realizado em 28 casos, demonstrando má absorção em 16 deles. Entre os diagnósticos obtidos nestes animais estava ciatostomíase, colite crônica, linfoma intestinal e MEED (LOVE; MAIR; HILLYER, 1992).

A manifestação clínica neste caso foi de emagrecimento progressivo, que está em concordância com a literatura, pois este é o quadro clínico primário associado às síndromes de má absorção em equinos (MAIR; PEARSON; DIVERS, 2006).

Porém, isso pode depender de qual parte do intestino é afetada, pois quando as doenças infiltrativas estão confinadas ao intestino grosso a manifestação clínica resultante, geralmente, é a diarreia, ao passo que quando associadas ao intestino delgado resultam em emagrecimento progressivo e, nos dois casos, a enteropatia com perda de proteína pode ocorrer (ROBERTS, 2000).

Entre as causas da síndrome de má absorção estão: extensa ressecção do intestino delgado, as doenças inflamatórias intestinais (DII), linfoma, infecções entéricas (*Rhocococcus equi*, infecções fúngicas e por micobactérias), isquemia

intestinal, insuficiência cardíaca congestiva, fibrose intestinal e parasitismo (ciatostomíase) (MAIR; PEARSON; DIVERS, 2006).

Infelizmente, neste caso a realização do exame *post mortem* ocorreu um dia após o óbito e prejudicou a análise histopatológica dos órgãos devido à autólise do material. Importante relatar que na biópsia retal foi observado um aumento moderado na intensidade do infiltrado linfoplasmocítico na lâmina própria e de linfócitos intra-epiteliais no epitélio de superfície, diferente dos demais casos, onde o infiltrado destas células inflamatórias sempre foi discreto.

Entretanto, a identificação de proctite linfoplasmocítica na biópsia retal, principalmente moderada, não deve ser interpretada como evidência conclusiva de uma enterite linfoplasmocítica (SCHUMACHER; EDWARDS; COHEN, 2000; MAIR; PEARSON; DIVERS, 2006).

Todos os casos clínicos detalhados acima apresentaram na mucosa um infiltrado linfoplasmocítico simples ou com variações na intensidade do número de neutrófilos e eosinófilos. Várias possibilidades de diagnósticos ou causas foram discutidas, demonstrando que a proctite linfoplasmocítica pode ocorrer em uma grande variedade de doenças, assim como observado por Lindberg, Nygren, e Pearsson (1996).

MacAllister et al. (1990) relataram a realização de biópsia retal em dois casos onde não foram observadas alterações na mucosa retal, e que depois, foram diagnosticados com enterite linfoplasmocítica no *post mortem*.

Em um estudo retrospectivo de 14 equinos com diagnóstico de enterite linfoplasmocítica, a biópsia retal foi realizada em sete casos demonstrando alterações importantes em três e mucosa retal normal em quatro. Embora este exame não tenha sido conclusivo para o diagnóstico em todos os equinos com ELP, quando um aumento na infiltração por linfócitos e plasmócitos está presente na análise histopatológica da mucosa retal, pode estar relacionado com alguma alteração intestinal difusa (KEMPER et al., 2000).

Importante lembrar que nos casos dos relatos com diagnóstico definitivo de enterite linfoplasmocítica, as características histopatológicas observadas no intestino foram infiltração de intensidade moderada a marcante de linfócitos e plasmócitos, acompanhadas de alterações morfológicas, com graus variados de fusão e atrofia das vilosidades e a presença de edema na mucosa e submucosa (KEMPER et al., 2000). Já neste estudo, nenhum dos casos de proctite linfoplasmocítica apresentou

infiltrado de intensidade marcante, fazendo com que nenhum deles fosse relacionado com uma enterite linfoplasmocítica, uma das formas de doença inflamatória intestinal em equinos que tem como manifestações clínicas emagrecimento progressivo e/ ou diarreia crônica.

A avaliação dos resultados da biópsia retal do equino C14 será realizada juntamente com outros três casos (C12, C13 e C15). Apesar de diagnósticos histopatológicos diferentes entre eles, esses animais estavam localizados na mesma propriedade, e as manifestações clínicas relatadas foram às mesmas: quadros de diarreia ocasionais onde uma quantidade de água variável é liberada juntamente com fezes pastosas ou, às vezes, normais. O exame parasitológico de todos os casos revelou uma infecção por estrongilídeos (superfamília *Strongyloidea*), sendo que em dois casos (C12 e C13) a coprocultura demonstrou que 100% das populações pertenciam à subfamília *Cyathostominae*.

Apesar do controle antiparasitário para helmintos ser realizado regularmente na propriedade, a ciatostomíase é o provável diagnóstico para estes casos. Van Loon et al. (1995) descreveram dois casos de ciatostomíase larval em equinos que possuíam controle anti-helmíntico.

Os estudo de Smets et al. (1999) e Peregrine et al. (2006) demonstraram que a manifestação clínica mais frequente em equinos com ciatostomíase é a diarreia. Entretanto, outras alterações clínicas podem ocorrer como cólica, emagrecimento progressivo, letargia e inapetência (MURPHY et al., 1997; CORNING, 2009; BODECEK et al., 2010).

A ciatostomíase apresenta um quadro clínico baseado no grau de infecção do animal. Sua forma larval ou encistada, e formas adultas, presentes na mucosa intestinal passam a se alimentar desta, resultando em pequenas feridas ou ulcerações, hemorragias e extravasamento de proteínas plasmáticas para o lúmen intestinal (REICHMANN et al., 2001). Na maioria das vezes, as larvas encontram-se encistadas na parede do cólon dorsal direito, ceco ou ambos (LOVE; MURPHY; MELLOR, 1999). Assim como observado nestes casos, a doença é mais frequentemente observada em equinos jovens (LYONS; DRUDGE; TOLLIVER, 2000).

No estudo de Bodecek et al. (2010), dos 12 equinos avaliados com a doença, 66% apresentaram leucocitose. Love, Mair e Hillyer (1992) encontraram neutrofilia em 8 dos 14 casos com diarreia causada por ciatostomíneos. No entanto, os

exames laboratoriais dos equinos neste estudo revelaram normalidade em dois casos (C13 e C14), neutropenia/linfocitose no equino C15 e leucopenia por neutropenia no C12. O equino C15 que apresentou leucopenia por neutropenia foi o que obteve maior contagem no exame coproparasitológico (750 OPG), fato que pode estar relacionado com a baixa imunidade neste animal.

Em alguns casos, larvas de quarto estágio, ciatostomíneos adultos ou ambos podem ser encontrados nas fezes, dando apoio a uma suspeita da doença em equinos clinicamente afetados. Contudo, os resultados da contagem de ovos por grama de fezes (OPG) frequentemente é negativa. Vários autores concordam que o resultado negativo do exame coproparasitológico das fezes não deve excluir a presença destes parasitas (PEREGRINE et al., 2006; BOCECEK et al., 2010).

Na avaliação das biópsias retais destes casos, dois destes animais (C12 e C15) apresentaram proctite eosinofílica. Lindberg, Nygren e Pearsson (1996) observaram quatro casos de proctite eosinofílica das 116 biópsias retais estudadas. O critério para este diagnóstico incluiu uma grande quantidade de eosinófilos infiltrados na mucosa e/ou submucosa associada com o aumento do número de células mononucleares e uma marcante infiltração de eosinófilos no epitélio sem a presença de vasculite ou granulomas, sendo também observados um aumento do número de linfócitos e plasmócitos em todos os casos e infiltração de eosinófilos nas criptas em apenas dois casos.

Resultados similares foram obtidos no presente estudo, caracterizados por: aumento moderado do infiltrado linfoplasmocítico na lâmina própria e submucosa, com um aumento discreto a moderado de eosinófilos na lâmina própria e um aumento moderado a marcante de eosinófilos na submucosa.

Eosinófilos dominando a infiltração inflamatória do intestino em equinos é frequentemente associada com endoparasitas como cestódeos (*Anoplocephala perfoliata*, *A. magna* e *Paranoplocephala mamillana*) ou infecção por pequenos estrôngilos (ciatostomíase larvar) principalmente, afetando o intestino grosso (PEARSON et al., 1993; REILLY et al., 1993).

Em um estudo recente de equinos infectados naturalmente com ciatostomíneos, os eosinófilos foram correlacionados com a presença de larvas em ceco e cólon ventral (COLLOBERT-LAUGIER et al., 2002).

No estudo realizado por Bodecek et al. (2010) avaliando 12 casos de ciatostomíase em equinos, a biópsia retal foi realizada em três casos, revelando uma resposta inflamatória não-específica em dois e uma inflamação eosinofílica em um.

Ao contrário de outros estudos, não identificamos a presença de ciatostomíneos infiltrados na mucosa retal (CHUCH; KELLY; OBWOLD, 1986; RICKETTS, 1996; PEARSON; HEIDEL, 1998).

Proctite simples e edema na lâmina própria com uma infiltração marcante de células mononucleares e eosinófilos têm sido observados nos casos em que as larvas não estavam presentes (CHUCH; KELLY; OBWOLD, 1986; LINDBERG; NYGREN; PEARSON, 1996). O mesmo ocorreu nos casos do presente estudo, pois além da proctite eosinofílica, verificou-se também a presença de proctite linfoplasmocítica simples e proctite ulcerativa.

Segundo o estudo de Ogbourne (1976), as alterações histopatológicas decorrentes destes parasitas no cólon maior e ceco podem provocar, nos estágios agudos, uma enterite catarral ou fibrinosa com numerosos focos de hemorragia da mucosa, congestão, ulceração ou necrose. Em casos mais crônicos, pode haver apenas um espessamento da mucosa devido ao edema e áreas irregulares de congestão. Uma resposta celular inflamatória também está presente, com populações mistas de células mononucleares, eosinófilos e células epiteliais.

É possível que estas variações nos resultados histopatológicos obtidos neste estudo dependam do grau de inflamação provocada pelos diferentes estágios do ciclo de vida dos ciatostomíneos na mucosa intestinal.

Proctite erosiva foi observada em três equinos (C4, C10a, C13). As alterações clínicas observadas no equino C13 já foram discutidas anteriormente. A principal alteração observada neste diagnóstico foi a presença de segmentos de erosão dos colonócitos superficiais e de trechos de reepitelização por células cuboides.

No estudo de Lindberg, Nygren e Pearsson (1996), dos 60 casos onde alterações histopatológicas foram observadas, proctite erosiva foi encontrado em três equinos, onde um padrão de erosão e ulceração não relacionadas com dano isquêmico foi observado.

O equino C4 foi encaminhado para o HOVET/USP junto com dois animais (C5 e C6), pois todos eles apresentavam manifestações clínicas de diarreia crônica com fezes pastosas há mais de um mês. A suspeita clínica nestes equinos foi de pneumonia por *R. equi*, principalmente pela presença de pleura espessa e irregular

visibilizada na ultrassonografia torácica do equino C5, acompanhada por lesões gastrintestinais, como visto no equino C6, com presença de abscessos na parede intestinal no exame *post mortem*.

Existem três formas clínicas principais de infecção por *R. equi* em potros: pneumonia aguda, pneumonia crônica acompanhada de abscessos piogranulomatosos, e a forma intestinal associada a linfadenite mesentérica (TAKAI et al., 1995a).

Aproximadamente metade dos equinos com pneumonia por *R. equi* apresentam lesões gastrintestinais concomitantes. O desenvolvimento dessas lesões está associado, possivelmente, à deglutição de secreções pulmonares contaminadas. Essas lesões caracterizam-se por colite ulcerativa, linfadenite abdominal, tiflíte granulomatosa ou abscessos abdominais solitários. As manifestações clínicas observadas nos casos com lesões intestinais incluem cólica, diarreia, perda de peso e atraso no crescimento (PRESCOTT; GIGUERE, 2004).

Os equinos C4, C5 e C6 eram animais jovens e apresentaram atraso no crescimento como descrito acima. Além disso, dois deles (C4 e C6) passaram a ter quadros de infecção respiratória após a internação no HOVET/USP. Porém a suspeita clínica nestes casos não pôde ser confirmada.

No equino C10 foram realizadas duas biópsias retais para acompanhamento histopatológico e clínico. O quadro de diarreia crônica com fezes aquosas neste animal já perdurava por uns 30 dias antes da internação no HOVET/USP. Nos exames laboratoriais foi observado leucopenia, hipoproteïnemia, hipoalbuminemia e hiperfibrinogenemia. O equino apresentava-se bastante debilitado e sem apetite. A primeira biópsia retal apresentou um diagnóstico histopatológico de proctite erosiva.

Após tratamento com corticosteroides, as fezes antes aquosas tornaram-se pastosas, o leucograma se mostrou normal e houve uma melhora do apetite do animal. Esta melhora também ocorreu na segunda biópsia retal onde se observou uma proctite linfoplasmocítica simples com epitélio superficial íntegro, sem as erosões antes notadas. Infelizmente, depois deste pequeno período de melhora clínica o animal foi eutanasiado devido ao prognóstico reservado. No diagnóstico histopatológico realizado no *post mortem*, colite ulcerativa crônica multissegmentar foi observada.

Ulceração em cólon em equinos geralmente está associada com o uso de anti-inflamatórias não esteroides e à inibição de prostaglandinas pela liberação

induzida pelo estresse de corticosteroides endógeno (SIMMONS et al., 1990). No entanto, este equino não apresentou história recente do uso dessas drogas.

Pellegrini (2005) avaliou a presença de ulceração no cólon durante os exames de necrópsia de 500 equinos no Texas. No primeiro grupo, com 365 animais, foram encontradas úlceras de cólon em 44% dos casos. No segundo grupo, de equinos com alto desempenho (animais mais estressados), as úlceras de cólon foram observadas em 63% dos animais.

Devido à dificuldade de se estabelecer este diagnóstico em animais vivos, pouco se sabe da etiologia da ulceração do cólon. Pellegrini (2005) mostrou que nos exames necroscópicos, particularmente em equinos de alto desempenho, uma elevada incidência de ulceração do cólon pode ocorrer, levando a perda de sangue intestinal e má absorção de nutrientes.

O equino C10 era utilizado para o esporte e considerado um animal de alto desempenho esportivo. No entanto, as manifestações clínicas ocorreram no período em que ela estava sendo utilizado para reprodução, fato que, para este animal, pode ter causado o estresse e levado às úlceras.

Lindberg, Nygren e Pearsson (1996) não discutiram os casos de proctite erosiva encontrados em seu trabalho.

Linfoma alimentar foi diagnosticado em dois equinos (C8 e C9) após o exame *post mortem*. Em um dos casos foi possível obter o diagnóstico através da avaliação da biópsia retal

Aproximadamente 19% de todos os equinos com linfoma têm a forma alimentar e, ao contrario da idade média relatada nas outras formas da doença, este tipo de linfoma é observado em equinos mais velhos (idade média 16 anos) (TAYLOR et al., 2006). Isto está em concordância com o presente estudo, pois nos dois casos de linfoma alimentar, um possuía 22 e o outro 20 anos de idade. Talvez o aumento da expectativa de vida dos equinos esteja associada ao maior diagnóstico destas neoplasias na atualidade, porém isto ainda não foi confirmado (TAYLOR et al., 2006).

Embora a manifestação clínica mais comum em equinos com linfoma alimentar seja o emagrecimento progressivo (TAYLOR et al., 2006), os quadros de diarreia, aguda ou crônica, também podem ocorrer (MAIR; HILLYER, 1992). Segundo Knottenbelt (2003), as diarreias são raras a menos que a condição esteja afetando o intestino grosso, causando má absorção.

O equino C8 apresentou alterações variáveis no leucograma durante o tempo de internação começando com um quadro de leucopenia por neutropenia e, após tratamento com corticosteroides, linfopenia e, por último, leucocitose por neutrofilia. O equino C9 apresentou leucograma normal e, também após tratamento com corticosteroides, observou-se uma leucocitose por neutrofilia com desvio a esquerda. O uso de corticosteroides pode ter alterado o leucograma destes animais, pois nos dois casos houve a presença de neutrofilia após tratamento.

Segundo relatos, no leucograma destes animais com linfoma, frequentemente, é observado uma leucocitose por neutrofilia (MAIR; HILLYER, 1992; TAYLOR et al., 2006; TAINTOR; SCHLEIS, 2011). No entanto, este achado é uma resposta comum a doenças infecciosas, inflamatórias e neoplásicas, se tornando pouco específica para os casos de linfoma.

Os dois casos de linfoma apresentaram hipoalbuminemia e hipoproteïnemia, sendo que em um deles (C8) também foi observada hiperfibrinogenemia. Isto condiz com a literatura, onde as alterações bioquímicas frequentemente encontradas são: hiperfibrinogenemia e hiperalbuminemia (SAVAGE, 1998; MEYER; DELAY; BIENZLE, 2006; MUNOZ et al., 2009).

No estudo retrospectivo realizado por Taylor et al. (2006), a maioria dos equinos apresentaram hipoalbuminemia, provavelmente por causa da enteropatia por perda de proteína associada à infiltração neoplásica do intestino ou secundária à disfunção hepática.

A azotemia encontrada no equino C8 pode estar relacionada com a diarreia e desidratação, indicando uma causa pré-renal. Neste mesmo animal foi observado o aumento das concentrações séricas de GGT, que pode estar relacionado com a presença de infiltração neoplásica encontrado no exame *post mortem* deste equino. Isso está em concordância com a literatura, onde a maioria dos equinos com concentrações séricas elevadas das enzimas hepáticas apresentaram metástase no fígado, indicando que a função deste órgão provavelmente foi comprometida pela infiltração de células neoplásicas (TAYLOR et al., 2006).

A avaliação do líquido peritoneal contribuiu para confirmação do diagnóstico de neoplasia intestinal em 21% dos animais, e todos eles possuíam linfoma alimentar (ZICKER; WILSON; MEDEARIS, 1990). Ao contrário, no estudo de Taylor et al. (2006) foi observado no líquido peritoneal dos equinos apenas um aumento na contagem de células nucleadas.

A avaliação do líquido peritoneal no C9 demonstrou a presença de um infiltrado linfocítico crônico, porém não há descrição sobre possíveis alterações morfológicas destes linfócitos.

Na biópsia retal do equino C8 foi observada a presença de um infiltrado de linfócitos atípicos sugestivo de linfoma, enquanto que no caso C9 não houve alterações histopatológicas na mucosa retal. No entanto, é importante relatar que este último animal passou quatro dias em tratamento com corticosteroide antes da realização da biópsia retal. Este fato pode ter alterado o aspecto inflamatório da mucosa, pois houve uma diminuição das células inflamatórias na lâmina própria e submucosa da mucosa retal.

No estudo de Lindberg, Nygren e Pearsson (1996) dos sete casos de linfoma apenas um foi diagnosticado através da biópsia retal (14,28%), enquanto que proctite simples foi observada em cinco casos e histologia normal em um. Um infiltrado moderado a marcante de linfócitos monomórficos foi observado na lâmina própria, na superfície e cripta do único caso de linfoma diagnosticado pela biópsia retal, condizendo com os achados histopatológicos observados em nosso estudo.

Em um estudo retrospectivo de 34 equinos com neoplasia intestinal, a biópsia retal foi realizada em seis casos, mostrando anormalidades histopatológicas em todas elas, sendo que em três casos foi observado proctite e em três linfoma. Os três animais com proctite foram posteriormente diagnosticados com linfoma em dois deles e adenocarcinoma intestinal no outro (TAYLOR et al., 2006). Isto está em concordância com os resultados dos estudos retrospectivos anteriores e com os obtidos neste estudo.

No estudo de Lindberg, Nygren e Persson (1996) foram observadas alterações nas células caliciformes, com diminuição das mucinas em alguns dos processos inflamatórios intestinais. Em 12 amostras de biópsia retal em que foi observada uma alteração no padrão das mucinas, a necrópsia foi realizada em sete equinos sendo que em 25% destes casos o diagnóstico obtido foi de linfoma, isto sugere que a alteração no padrão de mucinas não é um achado inespecífico e pode ter implicações com o diagnóstico (LINDBERG; NYGREN; PEASSON, 1996)

Esta mudança, frequentemente observada nas doenças inflamatórias intestinais em humanos, pode ser atribuída ao aumento da liberação de mucinas ou à renovação celular com consequente perda de células epiteliais (JENKINS et al., 1997).

Em nosso estudo, três equinos deste grupo apresentaram uma mudança no padrão das mucinas ácidas, um com diagnóstico de proctite erosiva (C10a), um com linfoma (C8) e um com proctite eosinofílica (C12). Nenhum dos casos analisados apresentou um predomínio de mucinas neutras, mas houve mais variações entre os padrões ou diminuição da presença, do que o observado nos animais do grupo 1.

Os equinos deste grupo 3 quando comparados com os diagnósticos histopatológicos dos animais do grupo 1, apresentaram diagnósticos em sua maioria diferentes do padrão de normalidade estabelecido e indicadores de alguma doença do trato gastrointestinal. O fato de apenas um animal ter apresentado padrão de normalidade na mucosa retal também contribui para a conclusão de que animais com manifestações clínicas inespecíficas do trato gastrointestinal apresentam alterações na mucosa retal que podem ou não ser indicadores de alguma doença específica, dependendo do caso.

7 CONCLUSÕES

- A técnica de biópsia retal é um exame complementar de fácil execução, seguro e minimamente invasivo, permitindo a obtenção de fragmentos de mucosa adequados à avaliação histopatológica.
- O padrão de normalidade histológica para a mucosa retal de equinos adultos é: epitélio superficial preservado; criptas uniformes e alinhadas perpendicularmente à superfície com grande número de células caliciformes com mucinas ácidas em maior quantidade; linfócitos intra-epiteliais na superfície do epitélio em número de até 15 linfócitos para cada 100 colonócitos; pequeno número de linfócitos, plasmócitos e eosinófilos infiltrando a lâmina própria e a submucosa.
- Equinos clinicamente saudáveis podem apresentar pequena variação nos achados histopatológicos da mucosa retal em relação ao padrão observado na maioria dos animais.
- A palpação retal pode levar a alterações histopatológicas de baixa intensidade na mucosa retal de equinos.
- Proctite linfoplasmocítica simples e suas variações, observada em 45,5% dos casos (10/22), é diagnóstico frequente na avaliação histopatológica da mucosa retal em equinos acometidos por alterações gastrintestinais, mas é um achado inespecífico que não direciona o raciocínio diagnóstico.
- Proctite eosinofílica, observada em 13,7% dos casos (3/22), pode estar relacionada com a presença de ciatostomíneos, mas nem todos os animais com essa parasitose apresentarão essa alteração.
- Quando afeta o trato gastrintestinal, o linfoma pode ser diagnosticado pela avaliação histopatológica da mucosa retal, embora possa haver resultados falso negativos.
- Apenas em alguns casos as alterações histopatológicas encontradas na mucosa retal em equinos permitem um diagnóstico definitivo, mas elas podem direcionar o raciocínio diagnóstico em outros, sendo este um importante exame complementar a ser indicado em casos de equinos com alterações gastrintestinais inespecíficas.

REFERÊNCIAS

ABBOTT, E. **Larval cyathostomosis:** The disease, its diagnosis and treatment. **Equine Practice**, v. 20, n. 3, p. 6-7, Mar. 1998.

ANJOS, D. H. S.; RODRIGUES, M. L. A. Diversity of the infracommunities of strongylid nematodes in the ventral colon of *Equus caballus* from Rio de Janeiro state, Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 136, n. 3-4, p. 251-257, Mar. 2006.

ARCHER, D. C.; EDWARDS, G. B.; KELLY, D. F.; FRENCH, N. P.; PROUDMAN, C. J. Obstruction of equine small intestine associated with focal idiopathic eosinophilic enteritis: An emerging disease? **The Veterinary Journal**, v. 171, n. 3, p. 504-512, May. 2006.

BARR, B. S. Infiltrative intestinal disease. **Veterinary Clinics of North America: equine practice**, v. 22, n. 1, p. e1-7, Apr. 2006.

BARTON, M. H. Diagnosis and treatment of enteritis and inflammatory bowel disease. In: Focus Meeting, 2005, Quebec, Canada. 2005.

BASSAGE, L. H.; JOHNSTON, J. K.; KROTEK, K. L.; MEYER, B. S. Eosinophilic enterocolitis associated with recurrent colonic impactions in a mare. **Equine Veterinary Journal**, v. 29, n. 4, p. 322-325, Jul. 1997.

BACCARIN, R. Y. A.; IDA, K. K.; OLIVEIRA, S. L. P.; MATUSHIMA, E. R.; BELLI, C. B.; FERNANDES, W. R. Ocorrência de neoplasia em 15 anos de atendimento hospitalar de equídeos. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v. 48, n. 6, p. 439-445, 2011.

BELL, R. J.; TEXTOR, J. A. Caecal intussusceptions in horses: a New Zealand perspective. **Australian Veterinary Journal**, v. 88, n. 7, p. 272-276, Jul. 2010.

BODECEK, S.; JAHN, P.; DOBESOVA, O.; VAVROUCHOVA, E. Equine cyathostomosis: case reports. **Veterinarni medicina**, v. 55, n. 4, p. 187-193, 2010.

CARMALT, J. Multisystemic eosinophilic disease in a Quarter Horse. **Equine Veterinary Education**, v. 16, n. 5, p. 231-234, Oct. 2004.

CIMPRICH, R. E. Equine granulomatous enteritis. **Veterinary Pathology**, v. 11, n. 6, p. 535-547, Nov. 1974.

COHEN, N. D.; LOY, J. K.; LAY, J. C.; CRAIG, T. M.; MCMULLAN, W. C. Eosinophilic gastroenteritis with encapsulated nematodes in a horse. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 200, n. 10, p. 1518-1520, May. 1992.

COLLOBERT-LAUGIER, C.; HOSTE, H.; SEVIN, C.; CHARTIER, C.; DORCHIES, P. Mast cell and eosinophil mucosal responses in the large intestine of horses naturally infected with cyathostomes. **Veterinary Parasitology**, v. 107, n. 3, p. 251-264, Aug. 2002.

CORNING, S. Equine cyathostomins: a review of biology, clinical significance and therapy. **Parasites Vectors**, v. 2, p. S1, Sept. 2009. Supplement 2.

CUNHA, M. F.; BALLUS, C. A. *Mycobacterium avium* supesp. *paratuberculosis*: uma preocupação para a indústria de laticínios. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 64, n. 366, p. 3-11, Jan-Fev. 2009.

COUTO, M. C. M.; QUINELATO, S.; SOUZA, T. M.; SANTOS, C. N.; BEVILAQUA, C. M. L.; ANJOS, D. H. S.; SAMPAIO, I. B. M.; RODRIGUES, M. L. A. Desenvolvimento e migração de larvas infectantes de ciatostomíneos (Nematoda: Cyathostominae) em gramínea coast cross (*Cynodon dactylon*) em clima tropical, na Baixada Fluminense, RJ, Brasil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 18, p. 31-37, Abr.-Jun. 2009.

CHURCH, S.; MIDDLETON, D. J. Transient glucose malabsorption in two horses - fact or artefact? **Australian Veterinary Journal**, v. 75, n. 10, p. 716-718, Oct. 1997.

CHURCH, S.; KELLY, D. F.; OBWOLO, M. J. Diagnosis and successful treatment of diarrhoea in horses caused by immature small strongyles apparently insusceptible to anthelmintics. **Equine Veterinary Journal**, v. 18, n. 5, p. 401-403, Sep. 1986.

DURHAM, A. E.; SMITH, K. C.; NEWTON, J. R.; HILLYER, M. H.; HILLYER, L. L.; SMITH, M. R. W.; MARR, C. M. Development and application of a scoring system for prognostic evaluation of equine liver biopsies. **Equine Veterinary Journal**, v. 35, n. 6, p. 534-540, Sept. 2003.

DURYEA J. H.; AINSWORTH, D. M.; MAULDIN, E. A.; COOPER, B. J.; EDWARDS, R. B. Clinical remission of granulomatous enteritis in a Standardbred gelding

following long term dexamethasone administration. **Equine Veterinary Journal**, v. 29, n. 2, p. 164-167, Mar. 1997.

EDWARDS, G. B.; KELLY, D. F.; PROUDMAN, C. J. Segmental eosinophilic colitis: a review of 22 cases. **Equine Veterinary Journal**, v. 32, p. 86-93, Jun. 2000. Supplement.

FIOCCHI, C. Inflammatory bowel disease: etiology and pathogenesis. **Gastroenterology**, v. 115, n. 1, p. 182-205, Jul. 1998.

FRENCH, R. A.; MEIER, W. A.; ZACHARY, J. F. Eosinophilic colitis and hepatitis in a horse with colonic intramucosal ciliated protozoa. **Veterinary Pathology**, v. 33, n. 2, p. 235-238, Mar. 1996.

GERMAN, A. J.; HALL, E. J.; DAY, M. J. Immune cell populations within the duodenal mucosa of dogs with enteropathies. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 15, n. 1, p. 14-25. Jan. 2001.

GILES, C. J.; URQUHART, K. A.; LONGSTAFFE, J. A. Larval cyathostomiasis (immature trichonema-induced enteropathy): A report of 15 clinical cases. **Equine Veterinary Journal**, v. 17, n. 3, p. 196-201, May. 1985.

HALEY, P. J.; SPRAKER, T. Lymphosarcoma in an aborted equine fetus. **Veterinary Pathology**, v. 20, n. 5, p. 647-649, Sept. 1983.

HENSON, F. M. D.; MILNER, P. I.; SHELDON, O. Multisystemic eosinophilic epitheliotropic disease in a Welsh pony. **Equine Veterinary Education**, v. 14, n. 4, p. 176-178, Aug. 2002.

HILLYER, M. H.; MAIR, T. S. Multisystemic eosinophilic epitheliotropic disease in a horse: attempted treatment with hydroxyurea and dexamethasone. **Veterinary Record**, v. 130, n. 18, p. 392-395, May. 1992.

HOPSTER-IVERSEN, C.; HOPSTER, K.; STASZYK, C.; ROHN, K.; FREEMAN, D.; RÖTTING, A. K. Influence of mechanical manipulations on the local inflammatory reaction in the equine colon. **Equine Veterinary Journal**, v. 39, p. 1-7, Aug. 2011. Supplement.

JENKINS, D.; BALSITIS, M.; GALLIVAN, S.; DIXON, M. F.; GILMOUR, H. M.; SHEPHERD, N. A.; THEODOSSI, A.; WILLIAMS, G. T. Guidelines for the initial

biopsy diagnosis of suspected chronic idiopathic inflammatory bowel disease. The British Society of Gastroenterology Initiative. **Journal of Clinical Pathology**, v. 50, n. 2, p. 93-105, Feb. 1997.

KALCK, K. A. Inflammatory bowel disease in horses. **Veterinary Clinics of North America: equine practice**, v. 25, n. 2, p. 303-315, Aug. 2009.

KEMPER, D. L.; PERKINS, G. A.; SCHUMACHER, J.; EDWARDS, J. F.; VALENTINE, B. A.; DIVERS, T. J.; COHEN N. D. Equine lymphocytic-plasmacytic enterocolitis: a retrospective study of 14 cases. **Equine Veterinary Journal**, v. 32, p. 108–112. Jun. 2000. Supplement 32.

KNOTTENBELT, D. Internal neoplasia: Lymphosarcoma and myeloproliferative disease. In: Congresso Nazionale Multisala Sive, 9, 2003, Pisa. **Proceedings...**, 2003.

LA PERLE, K. M. D.; PIERCY, R. J.; LONG, J. F.; BLOMME, E. A. G. Multisystemic, eosinophilic, epitheliotropic disease with intestinal lymphosarcoma in a horse. **Veterinary Pathology**, v. 35, n. 2, p. 144-146, Mar. 1998.

LINDBERG, R. Pathology of equine granulomatous enteritis. **Journal of Comparative Pathology**, v. 94, p. 233-247, Apr. 1984.

LINDBERG, R.; PERSSON, S. G. B.; JONES, B.; THORÉN-TOLLING, K.; EDEROTH, M. Clinical and pathophysiological features of granulomatous enteritis and eosinophilic granulomatosis in the horse. **Zentralblatt für Veterinärmedizin Reihe A**, v. 32, p. 526-539, 1985.

LINDBERG, R.; NYGREN, A.; PERSSON, S. G. Rectal biopsy diagnosis in horses with clinical signs of intestinal disorders: a retrospective study of 116 cases. **Equine Veterinary Journal**, v. 28, n. 4, p. 275-284, Jul. 1996.

LITTLE, D.; TOMLINSON, J. E.; BLIKSLAGER, A. T. Post operative neutrophilic inflammation in equine small intestine after manipulation and ischaemia. **Equine Veterinary Journal**, v. 37, n. 4, p. 329-335, Jul. 2005.

LOVE, S.; MAIR, T. S.; HILLYER, M. H. Chronic diarrhoea in adult horses: a review of 51 referred cases. **Veterinary Record**, v. 130, n. 11, p. 217-219, Mar. 1992.

LOVE, S.; MURPHY, D.; MELLOR, D. Pathogenicity of cyathostome infection. **Veterinary Parasitology**, v. 85, n. 2-3, p. 113-122, Aug. 1999.

- LYONS, E.; TOLLIVER, S.; DRUDGE, J. Historical perspective of cyathostomes: prevalence, treatment and control programs. **Veterinary Parasitology**, v. 85, n. 2-3, p. 97-112, Aug. 1999.
- LYONS, E. T.; DRUDGE, J. H.; TOLLIVER, C. S. Larval cyathostomiasis. **Veterinary Clinics of North America: equine practice**, v. 16, n. 3, p. 501-513, Dec. 2000.
- MACALLISTER, C. G.; MOSIER, D.; QUALLS JUNIOR, C. W.; COWELL, R. L. Lymphocytic-plasmacytic enteritis in two horses. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 196, n. 12, Jun. 1990.
- MAIR, T. S.; HILLYER, M. H. Clinical features of lymphosarcoma in the horse: 77 cases. **Equine Veterinary Education**, v. 4, n. 3, p. 108-113, Jun. 1992.
- MAIR, T. S.; HILLYER, M. H. Chronic colic in the mature horse: a retrospective review of 106 cases. **Equine Veterinary Journal**, v. 29, n. 6, p. 415-420, Nov. 1997.
- MAIR, T. S.; SUTTON, D. G.; LOVE, S. Caecocaecal and caecocolic intussusceptions associated with larval cyathostomosis in four young horses. **Equine Veterinary Journal**, v. 32, p. 77-80, Jun. 2000. Supplement.
- MAIR, T. Larval cyathostomosis. In: MAIR, T.; DIVERS, T.; DUCHARME, N. **Manual of equine gastroenterology**, London: Saunders, p. 432-436, 2002.
- MAIR, T. S.; PEARSON, G. R.; DIVERS, T. J. Malabsorption syndromes in the horse. **Equine Veterinary Education**, v. 18, n. 6, p. 299-308, Dec. 2006.
- MARTIN JR, B. B.; FREEMAN, D. E.; ROSS, M. W.; RICHARDSON, D. W.; JOHNSTON, J. K.; ORSINI, J. A. Cecocolic and cecocolic intussusception in horses: 30 cases (1976-1996). **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 214, n. 1, p. 80-84, Jan. 1999.
- MENARIM, B. C.; BORGES, A. S.; TEIXEIRA, L. B. C.; TEIXEIRA, R. B. C.; VIEIRA, C. Enterocolite linfo-plasmocítica equina - Diagnóstico clínico e histopatológico. Relato de dois casos, São Paulo, SP. In: CONFERÊNCIA ANUAL DA ABRAVEQ, 8; CONGRESSO INTERNACIONAL DE MEDICINA VETERINÁRIA FEI/CBH, 3, 2007, São Paulo. **Anais...**, 2007.

MERRITT, A. M.; CIMPRICH, R. E.; BEECH, J. Granulomatous enteritis in nine horses. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 169, n. 6, p. 603-609, Sept. 1976.

MEUTEN, D. J.; BUTLER, D. G.; THOMSON, G. W.; LUMSDEN, J. H. Chronic enteritis associated with malabsorption and protein-losing enteropathy in the horse. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 172, n. 3, p. 326-333, Feb. 1978.

MEYER, J.; DELAY, J.; BIENZLE, D. Clinical, laboratory and histopathologic features of equine lymphoma. **Veterinary Pathology**, v. 43, n. 6, p. 914-924, Nov. 2006.

MESCHTER, C. L.; TYLER, D. E.; WHITE, N. A.; MOORE, J. Histologic findings in the gastrointestinal tract of horses with colic. **American Journal of Veterinary Research**, v. 47, n. 3, p. 598-606, Mar. 1986.

MORTON, L. D.; MORTON, D. G.; BAKER, G. J.; GELBERG, H. B. Chronic eosinophilic enteritis attributed to *Pythium* sp. in a horse. **Veterinary Pathology**, v. 28, n. 6, p. 542-544, Nov. 1991.

MOORE, R. M.; BERTONE, A. L.; BAILEY, M. Q.; MUIR, W. W.; BEARD, W. L. Neutrophil accumulation in the large colon of horses during low-flow ischemia and reperfusion. **American Journal of Veterinary Research**, v. 55, n. 10, p. 1454-1463, Oct. 1994.

MUNOZ, A.; RIBER, C.; TRIGO, P.; CASTEJON, F. Hematopoietic neoplasias in horses: Myeloproliferative and lymphoproliferative disorders. **Journal of Equine Science**, v. 20, n. 4, p. 59-72, Sept. 2009.

MURPHY, D.; LOVE, S. The pathogenic effects of experimental cyathostome infections in ponies. **Veterinary Parasitology**, v. 70, n. 1-3, p. 99-110, Jun. 1997.

MURPHY, D.; KEANE, M. P.; CHANDLER, K. J.; GOULDING, R. Cyathostome associated disease in the horse: Investigation and management of four cases. **Equine Veterinary Education**, v. 9, n. 5, p. 247-252, Oct. 1997.

NIMMO WILKIE, J. S.; YAGER, J. A.; NATION, P. N.; CLARK, E. G.; TOWNSEND, H. G. G.; BAIRD, J. D. Chronic eosinophilic dermatitis - a manifestation of a multisystemic, eosinophilic, epitheliotropic disease in five horses. **Veterinary Pathology**, v. 22, n. 4, p. 297-305, Jul. 1985.

OGBOURNE, C. P. The prevalence, relative abundance and site distribution of nematode of the subfamily Cyathostominae in horses killed in Britain. **Journal of Helminthology**, v. 50, n. 3, p. 203-214, Sep.1976.

OLSON, M. E.; THORLAKSON, C. L.; DESELLIERS, L.; MORCK, D. W.; MCALLISTER, T. A. Giardia and Cryptosporidium in Canadian farm animals. **Veterinary Parasitology**, v. 68, n. 4, p. 375-381, Mar. 1997.

PASS, D. A.; BOLTON, J. R. Chronic eosinophilic gastroenteritis in the horse. **Veterinary Pathology**, v. 19, n. 5, p. 486-496, Sept. 1982.

PACKER, M.; PATTERSON-KANE, J. C.; SMITH, K. C.; DURHAM, A. E. Quantification of immune cell populations in the lamina propria of equine jejunal biopsy specimens. **Journal of Comparative Pathology**, v. 132, n. 1, p. 90-95, Jan. 2005.

PLATT, H. Alimentary lymphomas in the horse. **Journal of Comparative Pathology**, v. 97, n. 1, p. 1-10, Jan. 1987.

PEARSON, E. G.; REIDEL, J. R. Colonic and rectal biopsy as a diagnostic aid in horses. **Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian**, v. 20, n. 12, p. 1354-1359, Dec. 1998.

REICHMANN, P.; LISBOA, J. A. N.; BALARIN, M. R. S.; PEREIRA, A. B. L. Valores hematológicos em eqüinos naturalmente infectados por estrongilídeos. **Semina: ciências agrárias**, v. 22, n. 2, p. 179-181, Jul.-Dez. 2001.

PEREZ OLMOS, J. F.; SCHOFIELD, W. L.; DILLON, H.; SADLIER, M.; FOGARTY, U. Circumferential mural bands in the small intestine causing simple obstructive colic: a case series. **Equine Veterinary Journal**, v. 38, n. 4, p. 354-359, Jul. 2006.

PEREGRINE, A.; MCEWEN, B.; BIENZLE, D.; KOCK, T.; WEESE, J. Larval cyathostominosis in horses in Ontario: An emerging disease. **Canadian Veterinary Journal**, v. 47, n. 1, p. 80-82, Jan. 2006.

PELLEGRINI, F. L. Results of a large-scale necroscopic study of equine colonic ulcers. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 25, p. 113-117, 2005.

PRESCOTT, J. F.; GIGUERE, S. Rhodococcus equi infections. In: COETZER, J. A. W.; TUSTIN, R. C. **Infectious diseases of livestock**. 2. ed. Cape Town: Oxford University Press, 2004. v. 3, cap. 199, p. 2015-2025.

RICKETTS, S. W. Rectal biopsy - a piece of the diagnostic jigsaw puzzle. **Equine Veterinary Journal**, v. 28, n. 4, p. 254-255, Jul. 1996.

ROBERTS, M. C. Small intestinal malabsorption in horses. **Equine Veterinary Journal**, v. 12, n. 4, p. 214-219, Jun. 2000.

RÖTTING, A. K.; FREEMAN, D. E.; CONSTABLE, P. D.; EURELL, J. A. C.; WALLIG, M. A. Mucosal distribution of eosinophilic granulocytes within the gastrointestinal tract of horses. **American Journal of Veterinary Research**, v. 69, n. 7, p. 874-879, Jul. 2008.

SCHUMACHER, J. Infiltrative bowel diseases. In: ROBINSON, N. E. **Current Therapy in Equine Medicine**. 5. ed. Philadelphia: W. B. Saunders, 2003. cap. 18, Seção 3, p. 144-148.

SAVAGE, C. J. Lymphoproliferative and myeloproliferative disorders. **Veterinary Clinics of North America: equine practice**, v. 14, n. 3, p. 563-578, Dec. 1998.

SIMMONS, T. R.; GAUGHAN, E. M.; DUCHARME, N. G.; DILL, S. G.; KING J. M.; ANDERSON, W. I. Treatment of right dorsal ulcerative colitis in a horse. **Journal of American Veterinary Association**, v. 193, n. 3, p. 455-458, Feb. 1990.

SOUTHWOOD, L. L.; KAWCAK, C. E.; TROTTER, G. W.; STASHAK, T. S.; FRISBIE, D. D. Idiopathic focal eosinophilic enteritis associated with small intestinal obstruction in 6 horses. **Veterinary Surgery**, v. 29, n. 5, p. 415-419, Sept. 2000.

SOUZA, P. N. B.; BOMFIM, T. C. B.; HUBER, F.; ABBoud, L. C. S.; GOMES, R. S. Natural infection by *Cryptosporidium* sp., *Giardia* sp. and *Eimeria leuckarti* in three groups of equines with different handlings in Rio de Janeiro, Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 160, p. 327- 333, 2009.

SCOTT, E. A.; HEIDEL, J. R.; SNYDER, S. P.; RAMIREZ, S.; WHITLER, W. A. Inflammatory bowel disease in horses: 11 cases (1988-1998). **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 214, n. 10, p. 1527-1530, May. 1999.

SCHUMACHER, J.; MOLL, H. D. **Manual de procedimentos diagnósticos em equinos**. São Paulo: Roca, 2007. 144 p.

SCHNEIDER, D. Lymphoproliferative and myeloproliferative disorders. In: ROBINSON, N. E. **Current Therapy in Equine Medicine**. 5. ed. Philadelphia: W. B. Saunders, 2003. cap. 9, Seção 6, p. 359-362.

SCHUMACHER, J.; MOLL, H. D.; SPANO, J. S.; BARONE, L. M.; POWERS, R. D. Effect of intestinal resection on two juvenile horses with granulomatous enteritis. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 4, n. 3, p. 153-156, May. 1990.

SCHUMACHER, J.; EDWARDS, J. F.; COHEN, N. D. Chronic idiopathic inflammatory bowel diseases of the horse. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 14, n. 3, p. 258-265, May. 2000.

SMETS, K.; SHAW, D. J.; DEPREZ, P.; VERCRUYSSSE, J. Diagnosis of larval cyathostominosis in horses in Belgium. **Veterinary Record**, v. 144, n. 24, p. 665-668, Jun. 1999.

STANAR, L. S.; LITTLE, D.; REDDING, W. R.; JONES, S. L. Idiopathic eosinophilic enteritis in a 10 week old colt. **Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian**, v. 24, n. 4, p. 342-344. Apr. 2002.

SWEENEY, R. W.; SWEENEY, C. R.; SAIK, J.; LICHTENSTEIGER, C. A. Chronic granulomatous bowel disease in three sibling horses. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 188, n. 10, p. 1192-1194, May. 1986.

TAINTOR, J.; SCHLEIS, S. Equine Lymphoma. **Equine Veterinary Education**, v. 23, n. 4, p. 205-213, Apr. 2011.

TAMZALI, Y. Chronic weight loss syndrome in the horse: a 60 case retrospective study. **Equine Veterinary Education**, v. 18, n. 6, p. 289-296, Dec. 2006.

TAYLOR, S. D.; PUSTERLA, N.; VAUGHAN, B.; WHITCOMB, M. B.; WILSON, W. D. Intestinal neoplasia in horses. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 20, n. 6, p. 1429-1436, Nov. 2006.

TAKAI, S.; SASAKI, Y.; TSUBAKI, S. Rhodococcus equi infections in foals – current concepts and implication for future research. **Journal of Equine Science**, v. 6, n. 4,

p.105-119, 1995.

TRAVER, D. S.; THACKER, H. L. Malabsorption syndromes in the horse: use of rectal biopsy in differential diagnosis. **Proceedings American Association of Equine Practitioners**, v. 24, p. 487-498, 1979.

VAN DE HOVEN, R.; FRANKEN, P. Clinical aspects of lymphosarcoma in the horse: a clinical report of 16 cases. **Equine Veterinary Journal**, v. 15, n. 1, p. 49-53, Jan. 1983.

VAN LOON, G.; DEPREZ, P.; MUYLLE, E.; SUSTRONCK, B. Larval cyathostomiasis as a cause of death in two regularly dewormed horses. **Journal Of Veterinary Medicine Series A**, v. 42, n. 5, p. 301-306, 1995.

VARGAS, L.; RIGOLON, L. T. Ocorrência de Giardia duodenalis em eqüinos do Nordeste e Norte do Paraná/Brasil. **Semina Ciências Agrárias**, v. 19, p. 73-75, Mar. 1998.

WILLARD, M. D.; JERGENS, A. E.; DUNCAN, R. B.; LEIB, M. S.; MCCracken, M. D.; DENOVO, R. C.; HELMAN, R. G.; SLATER, M. R.; HARBISON, J. L. Interobserver variation among histopathologic evaluations of intestinal tissues from dogs and cats. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 220, n. 8, p. 1177-1182, Apr. 2002.

WHITE, N. A. Epidemiology and etiology of colic. In: WHITE, N. A. **The equine acute abdomen**. Philadelphia: Lea & Febiger, 1990. cap. 2, p. 49-64.

ZICKER, S. C.; WILSON, W. D.; MEDEARIS, I. Differentiation between intra-abdominal neoplasms and abscesses in horses, using clinical and laboratory data: 40 cases (1973–1988). **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 196, n. 7, p. 1130-1134, Apr. 1990.

APÊNDICE A - Resultados do hemograma dos equinos do grupo 2 e 3.

ANIMAL	Hem (x10 ⁶ /mm ³)	Hb (g/dL)	Ht (%)	VCM (fl)	HCM (pg)	CHCM (%)	Leuc. Totais (x10 ³ /mm ³)	Bast. V.A. (/mm ³)	N V.A. (/mm ³)	L V.A. (/mm ³)	M V.A. (/mm ³)	E V.A. (/mm ³)	B V.A. (/mm ³)	Fibrin. V.A. (/mm ³)
B1	5,8	9,40	29,0	50,0	16,00	33,0	11.200	-	10.080	1.008	112	-	-	800
B2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
B3	9,3	15,4	45,0	48,0	17,00	35,0	5.500	-	4.070	1.210	110	-	110	400
B4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
B5	5,8	10,0	27,0	47,0	17,00	37,0	3.000	240	1.020	1.080	660	-	-	600
B6	9,2	14,0	41,0	45,0	15,00	34,0	9.000	-	7.020	1.800	180	-	-	-
B7	7,6	13,6	39,0	51,0	18,00	35,0	9.200	-	7.360	1.427	184	-	-	-
C1	7,8	37,0	11,8	47,4	15,13	31,8	7.100	-	5.751	1.207	142	-	-	-
C2	7,1	12,5	38,0	54,0	18,00	33,0	11.900	-	8.211	3.332	357	-	-	-
C3	7,0	11,2	35,0	49,0	16,00	32,0	4.200	-	1428	2.352	420	-	-	600
C4	5,0	8,30	26,0	52,0	16,00	31,0	12.470	-	12.470	1.051	580	290	145	600
C5	7,2	10,3	31,0	43,0	14,00	33,0	13.600	-	8.840	4.624	raros	-	136	-
C6	5,2	8,00	26,0	50,0	15,00	31,0	4.800	-	2.208	2.160	432	-	-	-
C7	6,0	30,0	9,5,0	54,5	17,20	31,6	9.100	-	5.733	2.184	365	637	273	-
C8	6,5	12,3	36,0	56,0	19,00	34,0	3.600	-	1.656	1.584	288	72	-	500
C9	6,5	13,5	37,0	57,0	21,00	36,0	29.100	582	25.899	2.037	582	-	-	-
C10	8,6	13,1	38,0	45,0	15,00	34,0	4.400	-	2.464	1.760	176	-	-	-
C11	7.9	12.7	37,0	47,0	16,00	34,0	5.000	-	3.300	1.450	50	100	100	-
C12	8,9	12.9	39,3	44,0	14.40	32.9	8.600	-	2.752	5.160	430	258	-	-
C13	7,4	10,9	34,9	47,0	14,70	31,1	7.000	-	3.080	4466	77	77	-	-
C14	8.2	12.3	37.5	46,0	15,00	32,8	7.900	-	3.476	3.634	553	237	-	-
C15	8.6	12.3	38.0	44,0	14.2	32.3	5.600	-	2352	3024	224	-	-	

Hem - hemácias; Hb - hemoglobina; Ht - hematócrito; Leuc. – leucócitos; Bast. - Bastonetes; N - neutrófilo; L - linfócito; M - monócito; E - eosinófilo; B - basófilo; Fibrin. – fibrinogênio

APÊNDICE B - Resultados dos exames bioquímicos dos equinos do grupo 2 e 3.

ANIMAL	Prot. Total (g/dL)	Alb. (g/dL)	AST (U/L)	GGT (U/L)	Bil. T (mg/dL)	Bil. D (mg/dL)	Ureia (mg/dL)	Creatinina (mg/dL)
B1	9,50	2,60	232,0	158,0	1,81	0,29	40,1	1,10
B2	-	-	-	-	-	-	-	-
B3	6,10	3,20	219,7	14,7	1,94	0,11	34,5	1,20
B4	-	-	-	-	-	-	-	-
B5	8,10	2,80	203,9	37,0	1,31	0,47	66,0	1,00
B6	5,40	2,90	193,6	4,5	1,74	0,00	36,6	1,50
B7	6,60	2,60	184,8	5,3	1,75	0,18	35,7	1,50
C1	6,30	3,40	102,7	5,9	3,34	0,40	42,1	1,60
C2	7,90	2,60	70,0	40,4	1,08	0,46	23,4	1,10
C3	4,70	2,10	69,8	2,3	1,76	0,36	37,0	1,10
C4	6,50	2,90	92,4	2,1	0,95	0,38	69,7	1,20
C5	7,30	3,60	138,7	9,5	1,51	0,44	74,1	1,20
C6	4,90	1,80	71,0	2,5	1,26	0,39	33,6	0,73
C7	5,60	-	72,9	-	1,10	0,30	57,3	1,40
C8	5,71	2,74	295,0	183,0	3,61	2,03	69,1	2,01
C9	5,00	2,20	170,0	37,5	0,46	0,25	26,9	1,60
C10	6,00	3,70	133,0	29,0	2,52	0,44	25,8	2,10
C11	6,41	3,40	151,6	4,2	0,76	0,00	33,7	1,28
C12	6,29	3,31	161,4	2,5	0,80	0,22	25,8	1,10
C13	6,94	3,45	163,0	5,3	0,80	0,27	29,8	0,97
C14	6,41	3,40	151,6	4,2	0,76	0,00	33,7	1,28

Alb. - albumina; AST - aspartato aminotransferase; GGT - gama glutamiltransferase; Bil. T - bilirrubina total; Bil. D - Bilirrubina direta

APÊNDICE C - Análise histopatológica da primeira biópsia retal dos animais clinicamente saudáveis (Grupo 1)

ANIMAL	DIAGNÓSTICO HISTOPATOLÓGICO	INTENSID. DO PI	MORFOLOGIA	MUCINA	LIE	INFILTRADO INFLAMATÓRIO LÂMINA PRÓPRIA					INFILTRADO INFLAMATÓRIO SUBMUCOSA				HEMOR.	EDEMA
						LINF	PLASM	NEUTR	EOSIN	MAST	LINF	PLASM	EOSIN	MAST		
1A	DENTRO DO PADRÃO DE NORMALIDADE	N	N	ÁCIDA	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
2A	DENTRO DO PADRÃO DE NORMALIDADE	N	N	ÁCIDA	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
3A	DENTRO DO PADRÃO DE NORMALIDADE	N	N	ÁCIDA	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
4A	DENTRO DO PADRÃO DE NORMALIDADE	N	N	ÁCIDA	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	1
5A	DENTRO DO PADRÃO DE NORMALIDADE	N	N	ÁCIDA	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
6A	DENTRO DO PADRÃO DE NORMALIDADE	N	N	ÁCIDA	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0
7A	DENTRO DO PADRÃO DE NORMALIDADE	N	N	ÁCIDA	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1
8A	PLFP COM EOSINÓFILOS	D	N	MISTURA (ÁCIDAS E NEUTRAS)	0	1	1	0	0	0	2	1	2	1	0	0
9A	PLFP COM EOSINÓFILOS	D	N	ÁCIDA	1	1	1	0	0	0	1	0	2	0	0	1
10A	PLFP COM NEUTRÓFILOS E EOSINÓFILOS	D	N	ÁCIDA	0	1	1	1	0	0	1	0	2	0	0	1

PLFP: Proctite linfoplasmocítica; PI: processo inflamatório; Hemor.: hemorragia; LIE: linfócitos intra-epiteliais; LINF: linfócitos; PLASM: plasmócitos; NEUTR: neutrófilos; EOSIN: eosinófilos; MAST: mastócitos

N: Normal; D: discreto

Normal: 0; Discreto: 1; Moderado: 2; Marcante: 3

APÊNDICE D - Análise histopatológica da segunda biópsia retal dos animais clinicamente saudáveis (Grupo 1)

ANIMAL	DIAGNÓSTICO HISTOPATOLÓGICO	INTENSID. DO PI	MORFOLOGIA	MUCINA	LIE	INFILTRADO INFLAMATÓRIO LÂMINA PRÓPRIA					INFILTRADO INFLAMATÓRIO SUBMUCOSA				HEMOR.	EDEMA
						LINF	PLASM	NEUTR	EOSIN	MAST	LINF	PLASM	EOSIN	MAST		
1B	DENTRO DO PADRÃO DE NORMALIDADE	N	N	ÁCIDAS	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
2B	DENTRO DO PADRÃO DE NORMALIDADE	N	N	ÁCIDAS	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
3B	DENTRO DO PADRÃO DE NORMALIDADE	N	N	ÁCIDAS	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1
4B	PLFP COM NEUTRÓFILOS FOCAL	D	N	ÁCIDAS	0	1	1	2	0	0	1	1	0	0	1	1
5B	DENTRO DO PADRÃO DE NORMALIDADE	N	N	ÁCIDAS	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
6B	PLFP COM NEUTRÓFILOS	D	N	ÁCIDAS	2	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	1
7B	PLFP SIMPLES	D	N	ÁCIDAS	0	1	1	0	1	0	1	0	1	0	0	1
8B	PLFP COM EOSINÓFILOS	D	N	MISTURA	0	1	1	0	0	0	2	1	2	1	0	0
9B	PLFP COM EOSINÓFILOS	D	N	ÁCIDAS	0	1	1	0	0	0	1	0	2	0	0	1
10B	PLFP COM NEUTRÓFILOS E EOSINÓFILOS	D	N	ÁCIDAS	0	1	1	1	0	0	1	0	2	0	0	1

PLFP: Proctite linfoplasmocítica; PI: processo inflamatório; Hemor.: hemorragia; LIE: linfócitos intra-epiteliais; LINF: linfócitos; PLASM: plasmócitos; NEUTR: neutrófilos; EOSIN: eosinófilos; MAST: mastócitos
N: Normal; D: discreto;
Normal: 0; Discreto: 1; Moderado: 2; Marcante: 3

APÊNDICE E - Análise histopatológica da mucosa retal dos animais com alterações do trato gastrointestinal (Grupo 2)

ANIMAL	DIAGNÓSTICO HISTOPATOLÓGICO	INTENSID. DO PI	MORFOLOGIA	MUCINA	LIE	INFILTRADO INFLAMATÓRIO LÂMINA PRÓPRIA					INFILTRADO INFLAMATÓRIO SUBMUCOSA				HEMOR.	EDEMA
						LINF	PLASM	NEUTR	EOSIN	MAST	LINF	PLASM	EOSIN	MAST		
B1	PLFP SIMPLES E PERITONITE FIBRINONEUTROFÍLICA	MO	A	ÁCIDA	NV	2	2	0	0	0	0	0	0	0	0	3
B2	PROCTITE EOSINOFÍLICA	MO	A	ÁCIDA	0	1	1	0	2	0	0	0	3	0	0	2
B3	DENTRO DO PADRÃO DE NORMALIDADE	N	N	ÁCIDA	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
B4	DENTRO DO PADRÃO DE NORMALIDADE	N	N	ACIDA	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2
B5	PLFP SIMPLES	D	N	ÁCIDA	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1
B6	PLFP SIMPLES	D	N	ÁCIDA	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	2	1
B7	PLFP SIMPLES	MO	A	ÁCIDA	NV	2	1	0	0	0	1	1	1	0	0	2

PLFP: Proctite linfoplasmocítica; PI: processo inflamatório; Hemor.: hemorragia; LIE: linfócitos intra-epiteliais; LINF: linfócitos; PLASM: plasmócitos; NEUTR: neutrófilos; EOSIN: eosinófilos; MAST: mastócitos

A: Alterado; N: Normal; D: Discreto; MO: Moderado; NV: Não visualizado.

Normal: 0; Discreto: 1; Moderado: 2; Marcante: 3

APÊNDICE F - Análise histopatológica da mucosa retal dos animais com manifestações clínicas inespecíficas do trato gastrointestinal (Grupo 3)

ANIMAL	DIAGNÓSTICO HISTOPATOLÓGICO	INTENSID. DO PI	MORFOLOGIA	MUCINA	LIE	INFILTRADO INFLAMATÓRIO LÂMINA PRÓPRIA					INFILTRADO INFLAMATÓRIO SUBMUCOSA				HEMOR.	EDEMA
						LINF	PLASM	NEUTR	EOSIN	MAST	LINF	PLASM	EOSIN	MAST		
C1	PLFP COM NEUTRÓFILOS	D	N	ÁCIDAS	0	1	1	2	0	0	1	1	0	0	0	1
C2	PLFP SIMPLES	D	N	NR	0	1	1	0	0	NV	1	0	1	NV	1	1
C3	PLFP SIMPLES	MO	A	ÁCIDAS	2	2	2	0	1	0	2	2	0	0	1	1
C4	PROCTITE EROSIVA	MO	N	ÁCIDAS	1	2	2	1	0	0	1	1	1	0	1	1
C5	PLFP SIMPLES	D	N	ÁCIDAS	1	1	1	0	0	0	1	1	0	0	1	1
C6	PLFP SIMPLES	D	N	ÁCIDAS	1	1	1	0	0	0	1	1	0	0	2	1
C7	PLFP SIMPLES COM NEUTRÓFILOS	D	A	ÁCIDAS	0	1	1	1	0	0	1	1	0	0	0	2
C8	INFILTRAÇÃO LINFÓCITOS ATÍPICOS/ LINFOBLASTOS	MA	A	MISTURA	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	1
C9	DENTRO DO PADRÃO DE NORMALIDADE	N	A	NR	1	0	0	0	0	NV	0	0	0	NV	0	1
C10a	PROCTITE EROSIVA	MO	A	ÁCIDAS	0	2	2	0	0	0	1	1	0	0	0	1
C10b	PLFP SIMPLES	D	A	MISTURA	0	1	1	0	0	0	1	1	0	0	0	1
C11	PLFP SIMPLES COM NEUTRÓFILOS E EOSINÓFILOS	MO	A	ÁCIDAS	0	2	2	1	0	0	1	1	2	1	2	1
C12	PROCTITE EOSINOFÍLICA	MO	A	MISTURA	0	2	2	0	1	0	2	2	3	1	2	1
C13	PROCTITE EROSIVA	MO	A	ÁCIDAS	1	2	2	1	0	0	2	1	0	0	2	1
C14	PLFP SIMPLES	MO	N	ÁCIDAS	2	2	2	0	0	0	1	1	1	0	1	1
C15	PROCTITE EOSINOFÍLICA	MO	A	ÁCIDAS	1	2	2	0	2	0	2	2	2	0	0	1

PLFP: Proctite linfoplasmocítica; PI: processo inflamatório; Hemor.: hemorragia; LIE: linfócitos intra-epiteliais; LINF: linfócitos; PLASM: plasmócitos; NEUTR: neutrófilos; EOSIN: eosinófilos; MAST: mastócitos

A: Alterado; N: Normal; D: Discreto; MO: Moderado; MA: Marcante; NV: Não visualizado; NR: não realizado

Normal: 0; Discreto: 1; Moderado: 2; Marcante:

APÊNDICE G - Média de contagem das células inflamatórias em cinco campos microscópicos aleatórios em aumento de 400x nos animais do Grupo 1 (primeira biópsia)

ANIMAL	DIAGNÓSTICO HISTOPATOLÓGICO	LIE	INFILTRADO INFLAMATÓRIO LÂMINA PRÓPRIA			INFILTRADO INFLAMATÓRIO SUBMUCOSA	
			NEUTR	EOSIN	MAST	EOSIN	MAST
1A	DENTRO DO PADRÃO DE NORMALIDADE	2,3	0,0	6,75	0,0	4,0	0,0
2A	DENTRO DO PADRÃO DE NORMALIDADE	7,0	0,0	4,80	0,0	5,6	0,0
3A	DENTRO DO PADRÃO DE NORMALIDADE	12,5	0,0	0,60	0,0	0,0	0,0
4A	DENTRO DO PADRÃO DE NORMALIDADE	4,4	0,0	4,20	0,0	8,2	0,0
5A	DENTRO DO PADRÃO DE NORMALIDADE	7,2	0,0	11,20	0,0	4,0	0,0
6A	DENTRO DO PADRÃO DE NORMALIDADE	4,4	0,0	6,40	0,0	13,2	0,0
7A	DENTRO DO PADRÃO DE NORMALIDADE	10,5	0,0	4,80	0,0	13,0	0,0
8A	PLFP COM EOSINÓFILOS	6,2	0,0	5,20	0,0	39,0	20,0
9A	PLFP COM EOSINÓFILOS	25,0	0,0	9,40	0,0	33,6	1,0
10A	PLFP COM NEUTRÓFILOS E EOSINÓFILOS	1,6	3,20	2,20	1,0	34,6	3,0

PLFP: proctite linfoplasmocítica; LIE: linfócitos intra-epiteliais; NEUTR: neutrófilos; EOSIN: eosinófilos; MAST: mastócitos

APÊNDICE H - Média de contagem das células inflamatórias em cinco campos microscópicos aleatórios em aumento de 400x nos animais do Grupo 1 (segunda biópsia)

ANIMAL	DIAGNÓSTICO HISTOPATOLÓGICO	LIE	INFILTRADO INFLAMATÓRIO LÂMINA PRÓPRIA			INFILTRADO INFLAMATÓRIO SUBMUCOSA	
			NEUTR	EOSIN	MAST	EOSIN	MAST
1B	DENTRO DO PADRÃO DE NORMALIDADE	3,0	0,0	6,8	0,0	4,8	0,0
2B	DENTRO DO PADRÃO DE NORMALIDADE	9,2	0,0	1,8	0,0	1,8	0,0
3B	DENTRO DO PADRÃO DE NORMALIDADE	8,2	0,0	3,2	0,0	4,6	0,0
4B	PLFP COM NEUTRÓFILOS FOCAL	7,6	13,5	3,0	0,0	11,8	0,0
5B	DENTRO DO PADRÃO DE NORMALIDADE	10,4	0,0	9,2	3,0	3,0	5,0
6B	PLFP COM NEUTRÓFILOS	27,2	0,0	1,5	0,0	14,0	1,0
7B	PLFP SIMPLES	8,8	0,0	10,2	1,0	22,8	3,0
8B	PLFP COM EOSINÓFILOS	1,4	0,0	2,6	0,0	33,8	16,0
9B	PLFP COM EOSINÓFILOS	11,0	0,0	2,8	0,0	30,2	0,0
10B	PLFP COM NEUTRÓFILOS E EOSINÓFILOS	5,2	3,0	2,5	0,0	33,2	2,0

PLFP: proctite linfoplasmocítica; LIE: linfócitos intra-epiteliais; NEUTR: neutrófilos; EOSIN: eosinófilos; MAST: mastócitos

APÊNDICE I - Média de contagem das células inflamatórias em cinco campos microscópicos aleatórios em aumento de 400x nos animais do Grupo 2

ANIMAL	DIAGNÓSTICO HISTOPATOLÓGICO	LIE	INFILTRADO INFLAMATÓRIO LÂMINA PRÓPRIA			INFILTRADO INFLAMATÓRIO SUBMUCOSA	
			NEUTR	EOSIN	MAST	EOSIN	MAST
B1	PLFP SIMPLES E PERITONITE FIBRINEUTROFÍLICA	NV	0,0	3,0	5,0	9,2	9,0
B2	PROCTITE EOSINOFÍLICA	10,0	0,0	26,2	1,0	72,2	10,0
B3	DENTRO DO PADRÃO DE NORMALIDADE	5,0	0,0	2,0	0,0	3,0	2,0
B4	DENTRO DO PADRÃO DE NORMALIDADE	10,0	0,0	2,0	0,0	2,0	1,0
B5	PLFP SIMPLES	16,3	0,0	4,0	1,0	3,5	9,0
B6	PLFP SIMPLES	9,0	0,0	1,8	1,0	7,0	2,0
B7	PLFP SIMPLES	NV	0,0	6,4	1,0	19,5	4,0

PLFP: proctite linfoplasmocítica; LIE: linfócitos intra-epiteliais; NEUTR: neutrófilos; EOSIN: eosinófilos; MAST: mastócitos

APÊNDICE J - Média de contagem das células inflamatórias em cinco campos microscópicos aleatórios em aumento de 400x nos animais do Grupo 3

ANIMAL	DIAGNÓSTICO HISTOPATOLÓGICO	LIE	INFILTRADO INFLAMATÓRIO LÂMINA PRÓPRIA			INFILTRADO INFLAMATÓRIO SUBMUCOSA	
			NEUTR	EOSIN	MAST	EOSIN	MAST
C1	PLFP COM NEUTRÓFILOS	2,8	15	9	0,0	3,8	2,0
C2	PLFP SIMPLES	1,8	0,0	4,2	NV	22,2	NV
C3	PLFP SIMPLES	32,0	0,0	14,2	0,0	13,4	4,0
C4	PROCTITE EROSIVA	23,4	4,8	1,2	1,0	16,6	3,0
C5	PLFP SIMPLES	27,8	0,0	4,4	0,0	9,0	3,0
C6	PLFP SIMPLES	24,0	0,0	0,0	0,0	3,0	2,0
C7	PLFP SIMPLES COM NEUTRÓFILOS	10,8	5,2	4,1	1,0	2,6	8,0
C8	INFILTRAÇÃO LINFÓCITOS ATÍPICOS/ LINFOMA	37,0	0,0	0,0	0,0	1,0	1,0
C9	NORMAL	20,0	0,0	0,0	NV	0,0	NV
C10a	PROCTITE EROSIVA	5,0	0,0	0,0	0,0	1,0	4,0
C10b	PLFP SIMPLES	5,6	0,0	0,0	0,0	0,0	2,0
C11	PLFP SIMPLES COM NEUTRÓFILOS E EOSINÓFILOS	2,4	7,2	2,4	2,0	37,5	14,0
C12	PROCTITE EOSINOFÍLICA	14,5	0,0	15,6	0,0	64,5	13,0
C13	PROCTITE EROSIVA	17,0	2,0	1,8	0,0	6,4	3,0
C14	PLFP SIMPLES	32,0	0,0	5,6	1,0	19,5	9,0
C15	PROCTITE EOSINOFÍLICA	15,5	0,0	33,3	0,0	32,2	7,0

PLFP: proctite linfoplasmocítica; LIE: linfócitos intra-epiteliais; NEUTR: neutrófilos; EOSIN: eosinófilos; MAST: mastócitos; NV: não visualizado