



Universidad de Viña del Mar
Escuela de Ciencias Agropecuarias
Medicina Veterinaria

**DETERMINACIÓN DE LA PRESENCIA DE LA ENFERMEDAD
INFLAMATORIA DE LAS VIAS AÉREAS MEDIANTE EL
DIAGNÓSTICO DE LAVADO BRONCOALVEOLAR EN EQUINOS DEL
REGIMIENTO DE CABALLERÍA BLINDADA
N°1 GRANADEROS, QUILLOTA, CHILE**

Memoria Para Optar al Título de Médico Veterinario

FERNANDO IVAN REYES HEVIA

Profesor Guía: Dr. Jorge Lohse Muñoz

Profesor informante: Ricardo Kraushaar Heyermann

VIÑA DEL MAR – CHILE

2010

ÍNDICE

1	RESUMEN.....	1
2	INTRODUCCIÓN	3
3	REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	5
3.1	Generalidades anatómicas, fisiológicas e inmunológicas del sistema pulmonar equino	5
3.2	Definición de la IAD.....	9
3.3	Epidemiología asociada a la IAD	11
3.4	Etiopatogenia de la IAD	12
3.5	Signos clínicos asociados a la IAD	14
3.6	Diagnóstico de la IAD.....	15
3.7	Tratamiento de la IAD.	19
4	OBJETIVOS.....	22
4.1	Objetivo General	22
4.2	Objetivos específicos	22
5	MATERIALES Y METODO.	23
5.1	Materiales	23
5.2	Método.....	24
5.2.1	Descripción de la toma de muestra y su procesamiento.....	24
5.2.2	Análisis Estadístico	26
6	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	27
6.1	Determinación de la presencia de la IAD mediante el recuento celular diferencial a partir de las muestras obtenidas del LBA.	27
6.2	Establecimiento de los rangos para cada tipo celular provenientes del recuento celular diferencial del LBA	35
7	CONCLUSIONES	40
8	BIBLIOGRAFÍA.	41
9	ANEXOS	50

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla N° 1 Análisis de fluido de LBA de 20 equinos sometidos a estudio.....	27
Tabla N° 2 Análisis del componente celular obtenido por el LBA, células por microlitro	28
Tabla N° 3 Análisis del componente celular obtenido por el LBA, expresado en porcentaje	28
Tabla N° 4 Porcentaje de eosinófilos por muestra obtenido a partir del análisis del fluido del LBA	30
Tabla N° 5 Comparación estadística de muestras IAD positivas versus IAD negativas	31
Tabla N° 6 coeficiente de correlación entre eosinófilos y los componentes celulares pesquisados en las muestras positivas	33
Tabla N° 7 Rangos celulares obtenidos del LBA en el total de las muestras	35
Tabla N° 8 rangos normales para los componentes celulares obtenidos en diferentes estudios.....	36

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1 Ficha tipo examen clínico general	50
Anexo 2, Volúmenes de solución salina utilizados en la totalidad de equinos muestreados.	51
Anexo 3 Tablas complementarias	52
Tabla Anexo N° 1 Coeficiente de Variación de muestras totales	52
Tabla Anexo N° 2 Coeficiente de Variación de muestras negativas a IAD	52
Tabla Anexo N° 3 Coeficiente de Variación de muestras positivas a IAD	53
Tabla Anexo N° 4 Rangos celulares obtenidos del LBA en las muestras positivas a IAD	53
Tabla Anexo N° 5 Rangos celulares obtenidos del LBA en las muestras positivas a IAD	53

1 RESUMEN

El presente estudio se realizó con el objeto de determinar la presencia de la enfermedad inflamatoria de las vías aéreas (IAD) en equinos que se encontraban en dependencias del Regimiento de Caballería Blindada N°1 Granaderos, ubicado en Quillota, Chile.

Se trabajó con 20 equinos de entre 3 a 8 años de edad que estaban en periodo de entrenamiento, los cuales fueron seleccionados al azar, a estos se les realizó un lavado broncoalveolar (LBA), siendo sus muestras analizadas mediante el método de recuento celular diferencial. El análisis estadístico de los datos se desarrolló utilizando el programa SAS (Statistical Analysis System) 1985.

Los resultados arrojaron que un 20 % de los animales muestreados presentaban elevados niveles de eosinófilos, estableciéndose que en estos la IAD tipo 3 estuvo presente, la que fue además de carácter subclínica. Asimismo fue posible establecer los rangos para cada tipo de célula presente en el fluido del LBA, cuyos valores fueron los siguientes: macrófagos 54,41 – 70,57%, linfocitos 20,72 – 36,68%, neutrófilos 1,37 – 5,40%, mastocitos 0,1 – 1,54%, eosinófilos 0,63 – 3,84%, células epiteliales 0,75 – 3,25%, hemosiderófagos 0 – 1,15%.

SUMMARY

The present study was realized in order to determine the presence of inflammatory airway disease (IAD) in horses that were in the premises of the Regimiento de Caballería Blindada N°1 Granaderos.

The study was made with 20 horses between 3 and 8 years of age who were in training period, which were selected at random. The animals were led bronchoalveolar lavage (BAL), and samples were analyzed by differential cell count method. The statistical analysis of data was developed using the software SAS (Statistical Analysis System) 1985.

The results showed that 20% of the sampled animals, they had high levels of eosinophils, determined that in these horses type 3 IAD was present, which was in addition to subclinical. Also was possible to determine the ranges for each cell type present in BAL: macrophages 54,41 – 70,57%, lymphocytes 20,72 – 36,68%, neutrophils 1,37 – 5,40%, mast cell 0,1 – 1,54%, eosinophils 0,63 – 3,84%, epithelial cells 0,75 – 3,25%, hemosiderophages 0 – 1,15%.

2 INTRODUCCIÓN

Por muchos años, los Médicos Veterinarios han reconocido que las enfermedades del tracto respiratorio pueden comprometer el rendimiento en los caballos (Hoffman, 2003). Siendo las afecciones del aparato respiratorio las segundas en importancia, luego del sistema músculo esquelético, en limitar el rendimiento del caballo atleta (Ainsworth y Hackett, 2004).

A partir del año 2001 se establece que las enfermedades de las vías aéreas se dividen en dos entidades mayores. La primera, conocida como Obstrucción Recurrente de las Vías Aéreas (ORVA), la cual describe caballos con episodios de enfermedad obstructiva de la vías aéreas, gatillado por la exposición al heno mohoso, caracterizada por disnea espiratoria y asociado a una severa inflamación de las vías aéreas, con un alto porcentaje de neutrófilos (> al 25%) en el fluido del lavado broncoalveolar (LBA) e hiperreactividad de las vías aéreas. La segunda es la Enfermedad Inflamatoria de las Vías Aéreas conocida por sus siglas en inglés como IAD, en la cual se incluyen afecciones de las vías respiratorias bajas (ejemplo bronquitis o bronquiolitis), asociadas a agentes infecciosos o no infecciosos, y separados de las infecciones del parénquima pulmonar (neumonía) o pleura (pleuroneumonía) (Hoffman, 2003).

Términos como enfermedad inflamatoria de las pequeñas vías aéreas, y bronquitis o bronquiolitis han sido usados para describir caballos afectados con IAD. Esta confusión en la terminología es un reflejo de nuestro insuficiente conocimiento acerca de la fisiopatología de la enfermedad de la vía aérea equina (Couëtil *et al.*, 2007).

Al parecer existe un consenso en que los caballos afectados con IAD generalmente son jóvenes, aunque también pueden ser afectados los de mediana edad disminuyendo su rendimiento, lo que puede pasar inadvertido en descanso o durante un trabajo ligero (Mazan, 2002).

Generalmente los caballos afectados no muestran signos sistémicos de enfermedad, así como tampoco ninguna señal clara de distress respiratorio en descanso, la mayoría de las veces la única evidencia de la presencia de IAD involucra un aumento del mucus traqueal e infiltración de células inflamatorias en las vías aéreas (Allen y Franklin, 2007).

Un prediagnóstico puede ser realizado en base a la anamnesis, el examen físico y los signos clínicos. Sin embargo se requiere de exámenes adicionales tales como la evaluación endoscópica, evaluación citológica a partir de una aspiración transtraqueal (AT) o del fluido del LBA y el test de función pulmonar (Sánchez *et al.*, 2005).

El LBA usando un endoscopio o una sonda especializada entrega mayor confianza que otros métodos de muestreo más tradicionales, cuando se trata de establecer un diagnóstico en la mayoría de los casos en que se sospecha de un desorden inflamatorio difuso (Viel y Hewson, 2003).

La mayor ventaja del LBA sobre las otras técnicas de muestreo de las vías aéreas bajas como la AT, es que el LBA obtiene muestras celulares que provienen directamente de los alvéolos y los bronquios (Mansmann y King, 1998).

La aplicación de esta técnica diagnóstica (LBA), desde que fue implementada constituye un método rutinario y estandarizado en la mayoría de los países en que la medicina veterinaria se encuentra ampliamente desarrollada, principalmente Estados Unidos, Canadá y países de la Comunidad Europea. Sin embargo en nuestro país la técnica no es considerada un procedimiento rutinario, aun más, siendo la misma muy poco conocida por veterinarios que desempeñan su profesión en la clínica equina.

Este estudio pretende contribuir al desarrollo integral de la medicina veterinaria en nuestro medio, realizando medicina basada en la evidencia proporcionada por este método de diagnóstico.

3 REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

3.1 Generalidades anatómicas, fisiológicas e inmunológicas del sistema pulmonar equino

Los pulmones del caballo, a diferencia de lo que sucede en otras especies domésticas, no están claramente subdivididos por fisuras interlobulares profundas en lóbulos, aunque en ocasiones existe una indicación de disposición lobular. Sin embargo, el pulmón izquierdo puede ser considerado como formado por dos lóbulos, denominados apical (cranial) y diafragmático (caudal) (Hare, 2000). El pulmón derecho posee además un pequeño lóbulo intermedio separado del cuerpo pulmonar por la vena cava posterior y el nervio frénico derecho (Sande y Tucker, 2004).

El pulmón está constituido mayoritariamente por bronquios, vasos pulmonares y tejido conectivo peribronquial y perivascular (Dyce *et al.*, 1991). Los bronquios principales, más cortos y de amplio calibre se subdividen en la proximidad de la raíz pulmonar en los respectivos bronquios lobulares de los pulmones derecho e izquierdo. En los bronquios lobulares se originan los bronquios segmentarios que ventilan un territorio funcional circunscrito, el segmento pulmonar (König y Liebich, 2005).

Los bronquiolos verdaderos son los últimos segmentos del sistema de conducción de aire que no tienen alveolos pulmonares en su pared y se subdividen para formar los bronquiolos terminales (König y Liebich, 2005).

Los alvéolos están rodeados por capilares pulmonares. En la mayor parte de estos, el aire y la sangre están separados sólo por el epitelio alveolar y endotelio capilar con una distancia de casi $0.5 \mu m$ (Ganong, 2002).

El principal músculo que participa del sistema respiratorio es el diafragma y constituye el músculo inspiratorio más importante. La contracción del diafragma y de

los músculos intercostales externos resulta en la expansión de la cavidad torácica con la consecuente inspiración (Couëtil, 2002^b).

En la mayoría de las especies la respiración es activa sólo durante la inhalación (inspiración) y casi exclusivamente pasiva durante la exhalación (espiración). En el caballo en cambio los músculos respiratorios son activos en ambas fases, mostrando una inhalación y exhalación bifásica, siendo muy característica de esta especie. El caballo elimina el aire relajando los músculos respiratorios y con ello el sistema vuelve a un estado de equilibrio. Sigue a esto una contracción de los músculos abdominales, lo que presiona al tórax, disminuyendo el volumen del pulmón llevando nuevamente al animal a un estado de desequilibrio. Participan en esto entonces un componente torácico y otro abdominal, pudiendo apreciarse este último en la mayoría de los caballos en reposo (suben el abdomen). La fase de inhalación se inicia con la relajación abdominal, con lo que aumenta la capacidad torácica y el sistema retorna a un estado de equilibrio (fase abdominal); la segunda fase de inhalación (fase torácica), está dada por la contracción del diafragma y músculos intercostales (Buechner-Maxwell, 1993).

Durante la respiración, el aire viaja por las vías respiratorias superiores y el árbol traqueobronquial, que presentan resistencia por fricción al paso del aire (Robinson, 2003). El flujo del aire se opone a la resistencia friccional de las vías aéreas, que dependen en gran parte de su diámetro (a mayor diámetro de las vías aéreas hay una menor resistencia al flujo del aire y viceversa). Los bronquios principales son de mayor diámetro y presentan menos resistencia que los bronquiolos, sin embargo existen sólo dos bronquios principales y miles de bronquiolos en paralelo (Derksen y Robinson, 2002).

El músculo liso es el principal regulador del diámetro de la vía aérea a lo largo del árbol traqueobronquial. En los individuos sanos, la contracción del músculo liso es regulada en forma primaria por el sistema nervioso autónomo y por algunas interacciones con el epitelio. En presencia de una enfermedad, la liberación de

mediadores químicos puede causar contracción del músculo liso y estrechamiento de la vía aérea, tanto por efectos directos sobre el músculo liso como por interacciones con nervios que regulan este músculo, produciendo mucus y exudado (Olszewski *et al.*, 1999).

La inervación primaria en la tráquea, bronquios y bronquiolos es proporcionada por el sistema parasimpático que alcanza el pulmón a través del vago. Cuando la acetilcolina es liberada desde los nervios parasimpáticos, esta se une a los receptores M₃ muscarínicos del músculo liso de la vía aérea. Lo que hace que se libere calcio del contenido intracelular, causando la contracción del músculo liso y el broncoespasmo (Broadston *et al.*, 1991). La estimulación de los receptores adrenérgicos causa broncodilatación, tal cual lo hacen la adrenalina y el isoproterenol (West, 2005).

El último propósito del pulmón es intercambiar el oxígeno (O₂) y el dióxido de carbono (CO₂) entre el aire y la sangre mediante el proceso de difusión. Esto requiere la entrega del aire en los alvéolos (ventilación alveolar) y la reunión del aire y de la sangre en las cantidades apropiadas para un óptimo intercambio de gas (Derksen y Robinson, 2002).

El volumen de aire respirado por minuto se conoce como ventilación minuto y es el producto del volumen corriente y la frecuencia respiratoria. En un caballo consciente el 40-70% de la ventilación minuto entra en el área de intercambio de los pulmones y queda involucrada en el proceso de intercambio gaseoso. Esta porción se conoce como ventilación alveolar y el resto constituye la ventilación del espacio muerto, que ingresa en las vías de conducción pero no participa del intercambio gaseoso (Robinson, 2003).

Debido a su mayor solubilidad, el CO₂ se difunde más fácilmente que el O₂. Por esta razón, la limitación de la difusión afecta sobre todo a intercambio del O₂. El mejor

ejemplo de la limitación de la difusión en caballos es la hipoxemia asociada a ejercicio (Wagner *et al.*, 1989).

El sistema pulmonar equino cuenta con una serie de mecanismos de defensa que lo protegen del ataque de diversas noxas. La inmunoglobulina que se sintetiza en estos tejidos es principalmente la IgA, en especial en las vías superiores. Sin embargo, las secreciones de bronquiolos y alveolos contienen una gran proporción de IgG, cuya concentración se encuentra en valores entre los de la tráquea y el suero (Tizard, 2002). También se produce IgE en cantidades considerables en los tejidos linfoides de las vías respiratorias altas. La presencia de IgE en los pulmones de los equinos está asociada con enfermedades alérgicas de las vías aéreas incluyendo el ORVA (Schamallenbach *et al.*, 1998).

El mecanismo de defensa innato del pulmón incluye a los macrófagos alveolares y al sistema mucociliar. Los primeros constituyen una población especializada de células fagocíticas ubicada en las vías aéreas distales y en los alveolos. Por el contrario, la presencia de neutrófilos en las vías aéreas es a menudo patognomónica de una enfermedad inflamatoria. Las partículas depositadas en la superficie alveolar son removidas por los macrófagos alveolares, éstos también están presentes en el sistema mucociliar y en los tejidos linfoides asociados a las vías aéreas (Horohov, 2004). Con respecto al sistema mucociliar, el mucus es secretado por las células de goblet y es extendido por las glándulas submucosas en las vías aéreas mayores. En el caballo sano hay poco mucus secretado por las células en los bronquiolos (Derksen y Robinson, 2002).

Cuando las vías aéreas son irritadas físicamente ocurre un rápido aumento en la secreción del mucus, esta respuesta se debe a la activación de un reflejo parasimpático. El mucus también aumenta por la presencia de los mediadores inflamatorios, particularmente los mastocitos, macrófagos, eosinófilos, linfocitos, células dendríticas, basófilos, neutrófilos y plaquetas (Moran *et al.*, 2006, Jefcoat *et al.*, 2001).

La respuesta inflamatoria aguda inicial consiste en un aumento de los neutrófilos y una disminución de los linfocitos, y es probablemente iniciada a horas de una infección (Diamond *et al.*, 2000). Cuando es crónico el proceso inflamatorio puede ser patológico por sí mismo (Horohov, 2004).

Una enfermedad pobremente comprendida y que es aparentemente el resultado de una respuesta inflamatoria crónica es el ORVA. Este, debido a sus mecanismos inmunológicos que intervienen en la patogénesis, tiene alguna similitud con el asma humana. La inflamación crónica en el asma humana es orquestada por las citoquinas IL4, IL5, IL13 derivadas de los linfocitos Th2. La IL4 y la IL13 favorecen la producción de anticuerpos IgE específica contra alérgenos inhalados, mientras IL5 favorece la diferenciación, activación y supervivencia de los eosinófilos (Horohov, 2004).

3.2 Definición de la IAD

Una definición de IAD universalmente aceptada no existe. Esta situación radica en el hecho de nuestra actual comprensión de la etiología, la patogenia, los signos clínicos, la diagnosis y el efecto sobre el funcionamiento deportivo del caballo (Holcombe, 2005).

Una interpretación clínica para esta enfermedad fue propuesta en Octubre del 2002 y fue discutida en profundidad por los miembros de un panel de consenso. Como resultado, este panel propuso el uso de los siguientes criterios mínimos, que definen el fenotipo de la IAD en caballos de cualquier edad, pudiendo ser: Bajo rendimiento, intolerancia al ejercicio, presencia de tos, con o sin exceso de mucus traqueal; Inflamación no infecciosa de las vías aéreas, detectada por la examinación de un fluido obtenido a partir de un LBA, o disfunción pulmonar basada en la evidencia de obstrucción de las vías aéreas bajas; Hiperrespuesta de las vías aéreas, o disfunción del intercambio de los gases sanguíneos en descanso o durante el ejercicio (Couëtil *et al.*, 2007).

Sin embargo el papel que juega la infección no debe ser ignorado. Las infecciones virales son altamente prevalentes. Estudios muestran que las enfermedades virales causan las mayores pérdidas económicas en la industria equina, pero la asociación entre esta infección viral y la IAD es especulativa hasta el momento (Hoffman, 2003).

Actualmente se asume que este síndrome involucra una inflamación de las vías aéreas bajas en caballos jóvenes como el resultado de una infección bacteriana (reportándose que más de un 80% de caballos de carreras son afectados en algún momento durante el primer año de entrenamiento). Sin embargo la IAD no infecciosa se reconoce hoy en día en caballos de todas las edades y de todas las disciplinas. El 70 % de los caballos deportistas pueden ser afectados. En caballos que no son deportistas la IAD se diagnostica a menudo a una edad más avanzada y al parecer estos animales presentan signos más obvios de enfermedad respiratoria (Allen y Franklin, 2007).

Couëtil *et al.* (2001), menciona que utilizando métodos de medición de la función pulmonar más sensibles se ha logrado evidenciar que caballos positivos a IAD presentan obstrucción de las vías aéreas. Otros estudios han demostrado que la obstrucción de las vías aéreas involucra principalmente a las vías aéreas pequeñas (bronquiolos), presumiblemente comprometiendo el intercambio gaseoso durante el ejercicio a través de una desigual distribución de la ventilación. Análisis histológicos sostienen que la hiperplasia epitelial en los bronquiolos es un cambio importante que reduce el diámetro del lumen de la vía aérea (Hoffman, 2003).

Estos hallazgos clínicos están asociados con un pobre rendimiento en la carrera y con una baja tensión arterial de oxígeno durante el ejercicio (Moore y Cox, 1996).

3.3 Epidemiología asociada a la IAD

Existe evidencia que indica que la inflamación de las vías aéreas es prevalente en el caballo. Esto se relaciona con las condiciones de estabulación y de la pradera que ponen al caballo en riesgo, además de una contaminación de virus y bacterias (Hoffman, A. 2003).

Se ha observado una prevalencia del 20% al 65% en caballos de carrera en entrenamiento (Ainsworth y Hackett, 2004), y un 11,3% a un 50% en los fina sangre de carrera (FSC) y en el Standardbred (Holcombe, 2005). Según Robinson (2008), en los caballos de carrera la prevalencia total de la IAD es del 10% al 15 %, pero dentro de un mismo establo ésta puede aumentar al 45 %. Por otra parte Wood *et al.* (2005), señalan que la prevalencia de la IAD es de un 13,8% y la incidencia es de 8,9 casos en 100 caballos en 1 mes. Sin embargo la incidencia de la IAD en caballos de carreras puede variar entre un 11% a un 65% dependiendo de los criterios de diagnóstico usados (endoscopia, citología) y de las condiciones de la examinación, pre-ejercicio versus post-ejercicio (Christley *et al.*, 2001).

En un estudio realizado en el Reino Unido, en donde se realizó un total de 1235 AT en 724 FSC que se encontraban en entrenamiento, cuya edad fluctuaba entre los 2 a los 10 años de edad. De las muestras evaluadas, un 11,3% fue clasificada como inflamatoria, esta cifra aumento a un 18,8% cuando se evaluó solamente al grupo de 2 años (Chapman *et al.*, 2000).

Finalmente una investigación realizada en Australia, determinó la prevalencia de IAD luego que los caballos fueran estabulados en pesebreras de hipódromos. Estos FSC no presentaban evidencia de inflamación de la vía aérea, determinado por evaluación citológica a partir de una AT antes de entrar a las pesebreras, posteriormente fueron evaluados 2 a 4 semanas de haber sido estabulados en dichas condiciones. De los 165 caballos evaluados 41% desarrollo una inflamación

de las vías aéreas definida por una cantidad mayor al 20% de neutrófilos en la AT (Hodgson y Hodgson, 2002).

3.4 Etiopatogenia de la IAD

Con respecto a la patogenia de la IAD y a los agentes etiológicos exactos que contribuyen a su desarrollo, ha habido considerable discusión en la literatura reciente. Aunque son muchas las causas etiológicas propuestas, pocas de éstas han sido verificadas por estudios experimentales o epidemiológicos (Hodgson y Hodgson, 2002). Por lo tanto, es importante reconocer la contribución relativa que cada agente realiza para el establecimiento de la IAD, por lo que es factible que esta contribución varíe considerablemente de un país a otro e incluso dentro de una misma región (Robinson *et al.*, 2006).

El papel de las bacterias en la etiología de la IAD en caballos jóvenes ha sido bien documentado. *Strep. Zooepidemicus*, *Actinobacillus spp*, *Pasteurella spp* y *Mycoplasma spp* han sido asociadas a IAD en caballos de carreras jóvenes en el Reino Unido (Allen y Franklin, 2007). Investigaciones que se han enfocado en la etiología de la enfermedad inflamatoria del pulmón han demostrado una fuerte asociación entre los aislados bacterianos obtenidos a partir del fluido de una AT y la presencia de la enfermedad (Wood *et al.*, 2005).

Existe una fuerte asociación entre *Strep. Pneumoniae* y la enfermedad inflamatoria del pulmón en caballos que tienen dos años de edad o aún más jóvenes, pero no hay una asociación significativa en caballos más viejos (Holcombe, 2006). Por otra parte, el 80% de los caballos con enfermedad inflamatoria del pulmón tienen más de 10^5 UFC (unidades formadoras de colonias) de bacterias por ml de fluido de la AT, sugiriendo que las bacterias, específicamente *Strep. Zooepidemicus*, *Actinobacillus spp* y *Strep. Pneumoniae*, pueden jugar un importante rol en la mayoría de los casos de IAD (Wood *et al.*, 2005).

Una causa viral ha sido propuesta para la IAD, basada en los resultados citológicos obtenidos a partir de los constituyentes del fluido del LBA en caballos tratados con interferón-alfa (Wood *et al.*, 2002). En un estudio realizado por Moore *et al.* (1995), que involucró a 32 caballos FSC con antecedentes de bajo rendimiento atlético asociado al tracto respiratorio, se encontró que el conteo total de células nucleadas y el porcentaje de neutrófilos, linfocitos y mastocitos en el fluido del LBA aumentaron significativamente en caballos con IAD, en estas muestras la linfocitosis y la monocitosis se expuso como una evidencia consistente de una infección viral menor.

Existe evidencia que el virus herpes equino tipo 1 y el virus herpes equino tipo 4 juegan solamente un rol muy menor en el establecimiento de esta enfermedad. En conclusión existen muchos ensayos que señalan que el papel de la infección viral en la etiología de la IAD es pequeña, sin embargo se necesitan más estudios para determinar la contribución de otros agentes, como un bajo grado de infección de virus herpes equino tipo 2 (Wood *et al.*, 2002).

Dados los procedimientos de rutina llevados a cabo en los establecimientos de carreras es poco probable que los parásitos sean una causa frecuente de neumonitis o bronquitis en caballos de carrera jóvenes. Sin embargo una moderada a marcada eosinofilia puede ser encontrada en la AT y en el fluido del LBA de caballos de carrera, lo que puede deberse a una reacción frente a parasitosis pulmonares o a una respuesta de hipersensibilidad (Hodgson y Hodgson, 2002).

El parásito más común involucrado en la enfermedad pulmonar en los caballos jóvenes de carreras es el *Parascaris Equorum*, sin embargo el *Dictyocaulus Arnfieldi* también puede participar en el establecimiento de dicha enfermedad, aunque esta posibilidad es mucho menor (Hodgson y Hodgson, 2002).

La inhalación de partículas volátiles (particularmente la exposición a altas concentraciones de toxinas respirables) ha sido propuesta como una posible causa

de IAD (Allen y Franklin, 2007). El polvo volátil de los establos de los caballos puede contener elevados niveles de toxinas bacterianas, más de 50 especies de hongos, un elevado número de ácaros del forraje, restos de plantas y polvo inorgánico (McGorum y Pirie, 2002). La contaminación del ambiente con gases como amoníaco y metano proveniente de desechos orgánicos, ácaros del polvo y β -*d*-glucanos, los cuales son componentes de las paredes celulares de hongos y bacterias, pueden actuar como alérgenos específicos para generar una respuesta inmunitaria alérgica pulmonar (Moran *et al.*, 2006). Esto puede causar la inducción de la inflamación, pérdida aguda de la función pulmonar, elevada reactividad de la vía aérea, aumento de la tasa de infección en el pulmón, disminución de la eliminación de partículas y alteración de la estructura del pulmón (Ghio, 2002).

Se ha considerado también, que la hipersensibilidad tipo 1 (IgE-mediada) producto de la reacción a los alérgenos medioambientales podría ser una causa de IAD. En caballos jóvenes FSC destinados a carreras con antecedentes de bajo rendimiento, se encontró evidencia de eosinofilia en el fluido del LBA. Normalmente el porcentaje de eosinófilos en el fluido del LBA es menor a un 2%. Debido a que no existió evidencia de parasitismo pulmonar o intestinal, los autores atribuyeron la IAD eosinofílica a una reacción alérgica (Hare y Viel, 1998).

3.5 Signos clínicos asociados a la IAD

Los signos clínicos son a menudo sutiles y pueden pasar desapercibidos por los preparadores, dueños de caballos y veterinarios (Hodgson y Hodgson, 2002), estos pueden incluir tos crónica o intermitente, aumento de la secreción mucosa en la vía aérea y una disminución del rendimiento (Couëtil *et al.*, 2007). La presencia de tos en la IAD es difícil de evaluar, pero muchos estudios incluyen la tos como un criterio para estimar la presencia de esta enfermedad (Mazan, 2002). Couëtil (2002^a), señala que la tos sólo está presente en el 38% de los caballos con IAD, sin embargo 85% de los caballos que tosen tienen IAD. Esta puede ocurrir en descanso o durante el ejercicio pero la ausencia de ella no elimina la presencia de la IAD. Estudios

epidemiológicos en FSC, que se encontraban en entrenamiento demostraron una fuerte asociación entre tos, presencia de mucus en las vías aéreas e hiperplasia faríngea linfoide (Couëtil *et al.*, 2007). Otros signos clínicos vistos frecuentemente incluyen aumento de la recuperación respiratoria y descarga nasal después del ejercicio, aumento excesivo de la frecuencia respiratoria durante el ejercicio, signología que empeora en climas calurosos (Mazan, 2002). La auscultación torácica es usualmente normal; sin embargo algunos caballos pueden presentar ruidos respiratorios como sibilancias. Caballos que presentan una severa IAD pueden manifestar una frecuencia respiratoria aumentada levemente y una contracción abdominal durante la espiración (Couëtil, 2002^a).

Se ha podido determinar que puede existir IAD subclínica (Ainsworth y Hackett, 2004), la que se ha encontrado en un 20% a un 27% en equinos FSC según Hodgson y Hodgson (2002).

3.6 Diagnóstico de la IAD

Muchas técnicas de diagnóstico se han utilizado para determinar la presencia de la IAD. Sin embargo, la interpretación de los resultados de los múltiples exámenes disponibles es actualmente una de las áreas más discutibles con respecto a este síndrome (Hodgson y Hodgson, 2002).

Los caballos con IAD presentan resultados de hematología y bioquímica sanguínea normales (Hodgson y Hodgson, 2002).

El examen de radiografías torácicas también puede ser realizado en caballos sospechosos de IAD pero generalmente es poco útil (Wisner *et al.*, 1993). Además, los cambios radiográficos no han sido asociados estadísticamente con una citología anormal en el fluido del LAB o con el test de función pulmonar (Couëtil *et al.*, 2007).

La evaluación endoscópica de la cantidad de mucus presente en la tráquea también ha sido utilizada para diagnosticar la IAD, caballos libres de esta enfermedad no presentan mucus o poseen aglomerados aislados, por otra parte los caballos positivos a IAD presentan un gran acumulo de mucus a lo largo de las vías aéreas (Couëtil, 2002^a). A pesar de que el mucus endoscópicamente visible es considerado como un indicativo de la presencia de la enfermedad, este es un hallazgo que por sí solo no puede ser utilizado como único criterio para el diagnóstico de IAD (Hoffman, 2003).

Una combinación entre la citología obtenida del LBA, test de función pulmonar y el test de reacción de las vías aéreas, sería lo ideal para establecer la presencia de la IAD, sin embargo la disponibilidad de estos medios es restringida (Hoffman y Grafton, 2001).

La evaluación citológica de las secreciones obtenidas desde las vías respiratorias bajas es el método más específico para realizar el diagnóstico de esta enfermedad. Actualmente existe un gran debate respecto a la técnica de elección para la obtención de muestras y la interpretación de hallazgos citológicos (Hodgson y Hodgson, 2002).

Las dos técnicas más frecuentemente usadas para la obtención de muestras de las vías respiratorias bajas son la AT y el LBA, cada una de estas muestrean diversas áreas del pulmón y no existe una correlación entre los hallazgos de estas muestras cuando son obtenidas secuencialmente desde un mismo animal (Malikides *et al.*, 2003).

Por medio de la AT se obtienen secreciones, células y detritus que se acumulan en la tráquea distal y en el bronquio, pero que también pueden provenir desde vías aéreas más distales y del alveolo. Por esta razón proporciona una muestra no homogénea y no es representativa de un segmento pulmonar (Mair y Sweeney, 1990). Además de la posibilidad de contaminación de la muestra obtenida existe una

correlación muy baja entre la citología de la AT y la citología del LBA (Robinson, 2008).

En la práctica actual el LBA es la mejor aproximación al diagnóstico definitivo de IAD (Hoffman y Grafton, 2001). Esta técnica fue adaptada para caballos por primera vez en 1980 por Viel, desde entonces se ha hecho cada vez más popular por su simplicidad, bajo costo y utilidad (Moore y Cox, 1996).

La morfología y el perfil celular, sirve como una guía de la injuria hacia las vías aéreas, que puede ser producto de la inflamación o bien de la respuesta inmunológica pulmonar a infecciones o antígenos externos (Viel y Hewson, 2003). La citología es una técnica diagnóstica, rápida, simple y económica que usualmente posee un mínimo riesgo para el paciente (Rackich y Latimer, 2003).

Las complicaciones del LBA son raras, pero incluyen la hiperemia traumática de la mucosa respiratoria, una leve hemorragia pulmonar, tos transitoria, fiebre y neutrofilia pulmonar (McGorum y Dixon, 1994).

Una respuesta inflamatoria neutrofílica ocurre dentro del pulmón lavado, la cual es detectada en un siguiente LBA realizado dentro de las 48 horas del procedimiento inicial. Esta respuesta es limitada al bronquio o al segmento pulmonar que fue lavado y no es detectado en los bronquios adyacentes o en el pulmón contralateral. Un mediano aumento de la temperatura ha sido observado en caballos pasadas 24 horas de haber realizado este examen, sin efectos clínicos adversos. Sin embargo cualquier fiebre persistente o exagerada acompañada de depresión debe conducir a una nueva evaluación de estos casos, ya que estos signos pueden indicar la propagación de una infección preexistente como consecuencia del procedimiento realizado (Hewson y Viel, 2002).

Muchos estudios han utilizado la citología del LBA para revelar las anomalías en caballos con bajo rendimiento evidenciando un aumento en los

neutrófilos, mastocitos, linfocitos o eosinófilos, lo que distingue a los caballos con IAD de los grupos controles (Hoffman, 2003).

La evaluación citológica del fluido del LBA en caballos con IAD se caracteriza por uno de los siguientes perfiles inflamatorios: Tipo 1 inflamación mixta con una alta cantidad de células nucleadas, mediana neutrofilia (15% del total de células), linfocitosis y monocitosis. Tipo 2 aumento de las células metacromáticas (mastocitos > 2% del total de células). Tipo 3 inflamación eosinofílica (3 a un 40% del total de células) (Moore y Cox 1996).

A su vez Couëtil *et al.* (2007), señalan que lo más común de encontrar en el perfil citológico del LBA en caballos con IAD, es caracterizado por un aumento total del conteo de células nucleadas con una suave neutrofilia, linfocitosis, y monocitosis. Los otros dos perfiles comúnmente encontrados en caballos jóvenes con IAD, están caracterizados por un aumento de células mastocitarias y en los eosinófilos.

En cuanto a los aumentos de las células en el fluido del LBA estos están asociados con las causas etiológicas que determinan la inflamación. Los macrófagos constituyen un mecanismo de defensa del pulmón, participan de la fagocitosis de los agentes infecciosos y materiales extraños que ingresan a las vías aéreas (Hewson y Viel, 2002). Además secretan sustancias que atraen a los granulocitos hacia los pulmones, así como sustancias estimulantes de la formación de granulocitos y monocitos de la médula ósea (Ganong, 2002).

Un aumento en el número de linfocitos es asociado generalmente a un proceso infeccioso, cuando este es de tipo viral, estos pueden aumentar en el fluido del LBA en conjunto con una degeneración de las células epiteliales (Smith *et al.*, 2002). Un aumento significativamente alto es observado en el número total de macrófagos y linfocitos en el fluido del LBA durante un proceso infeccioso activo y es acompañado por un aumento gradual en la población de neutrófilos desde el día 3 al día 5 post infección (Viel, 2002). Los neutrófilos se acumulan en el sitio de inflamación por un

proceso de migración dirigido o quimiotaxis. Los mediadores celulares y moleculares de la inflamación generan sustancias quimiotácticas, que estimulan la liberación de la médula ósea y promueven la marginación y adherencia de los neutrófilos al endotelio vascular en los sitios de inflamación. Estas células tienen actividad fagocítica y microbicida, además su presencia ha sido asociada a reacciones inmunológicas de hipersensibilidad (Rebar *et al.*, 2005). Un aumento en la población de neutrófilos en el fluido del LBA fue tradicionalmente asociado con una infección bacteriana, sin embargo ahora se reconoce y se acepta que un aumento de los neutrófilos acompaña a la IAD no infecciosa (Hewson y Viel, 2002).

Por otra parte los mastocitos y los eosinófilos aumentan en el LBA frente a una reacción de hipersensibilidad y posiblemente por una infección parasitaria. Los mastocitos liberan mediadores proinflamatorios como la histamina, leucotrienos y el factor activador de plaquetas (Hare y Viel, 1998), además un aumento en el porcentaje de estos en el fluido del LBA ha sido correlacionado con un aumento de la hiperreactividad frente a la broncoprovocación con histamina en caballos intolerantes al ejercicio (Hoffman *et al.*, 1998). Los eosinófilos emigran de la médula ósea bajo la influencia de la IL5 producida por los linfocitos Th2 y mastocitos. Además los eosinófilos son atraídos a sitios de degranulación de mastocitos por factores quimiotácticos eosinofílicos, leucotrieno b4, histamina, factor activador de plaquetas, extractos helmínticos, C5a y el fragmento de degradación de la histamina llamado ácido imidiazolacético (Tizard, 2002).

3.7 Tratamiento de la IAD.

Una combinación de la modificación del medio ambiente y drogas anti-inflamatorias parece ser una terapia lógica para caballos con IAD, pero existe una limitada evidencia en cuanto a la eficacia de esta terapia (Couëtil *et al.*, 2007).

Dado el estado actual del conocimiento referente al IAD, los glucocorticoides se deben considerar como una de las terapias de base para este síndrome. Mucha de la

información referente al uso de corticoesteroides en la enfermedad respiratoria proviene de estudios en caballos con ORVA (Hodgson y Hodgson, 2002). La prednisona oral es una droga ampliamente utilizada en caballos para la enfermedad pulmonar no contagiosa, debido a su fácil administración, seguridad y mínimo costo. (Rush, 2002^a).

Los corticoides en aerosol son efectivos en caballos con una mediana a moderada obstrucción de las vías aéreas con signos clínicos que van desde la intolerancia al ejercicio hasta un marcado esfuerzo respiratorio en descanso (Rush, 2002^b).

En caballos con ORVA la fluticasona reduce la neutrofilia pulmonar, mejora los parámetros de la función pulmonar además reduce la capacidad de respuesta frente a la histamina durante un episodio de obstrucción de las vías aéreas (Rush, 2002^b).

El dipropionato de beclometasona mejora los signos clínicos y la función pulmonar, así como reduce la inflamación del pulmón (Ammann *et al.*, 1998).

Los broncodilatadores se indican para relajar el músculo liso de la vía aérea y para revertir la obstrucción a la circulación del aire, esto último es una probable consecuencia de la inflamación de la vía aérea. Dos clases principales de broncodilatadores se están utilizando actualmente en el caballo: agonistas β_2 y anticolinérgicos. Estos productos parecen dar los mejores resultados cuando están administrados vía inhalatoria. Sin embargo, hay productos disponibles para el uso sistémico (Hodgson y Hodgson, 2002).

El sulfato de albuterol es un potente agente β_2 adrenérgico de corta duración, que provoca un rápido inicio de la broncodilatación (5 minutos). La duración efectiva de la broncodilatación es de 1 a 3 horas (Rush, 2002^a).

El salmeterol es un agente adrenérgico β_2 de larga duración y es un análogo químico del albuterol. El sameterol proporciona un alivio de la signología clínica asociada a la obstrucción de las vías aéreas en caballos con ORVA (Rush, 2002^a).

El bromuro de ipratropio es un compuesto sintético anticolinérgico que produce broncodilatación, inhibición de la tos y otorga protección frente a estímulos que provocan broncoconstricción (Rush, 2002^a).

Por otra parte aquellos caballos que presentan una infección bacteriana deberían recibir un tratamiento antibiótico por 7 a 10 días, la selección de éste se basa en el cultivo y sensibilidad del agente involucrado en el proceso infeccioso (Ainsworth y Hackett, 2004).

En caballos que tienen una combinación inflamatoria en el perfil citológico, la administración de bajas dosis de interferón alfa humano natural reduce el exudado en el tracto respiratorio, disminuye el conteo de células en el fluido del LBA y convierte el conteo diferencial celular a un perfil citológico no inflamatorio (Moore y Cox, 1996).

De forma preventiva en climas más templados y en donde hay más espacio disponible, es una práctica común para los caballos con IAD mantenerlos al aire libre durante mucho tiempo y luego ser refugiados en establos ventilados, de modo tal que se permite una óptima calidad de aire. Naturalmente, estas estrategias no pueden ser posibles en todo el mundo (Hodgson y Hodgson, 2002).

4 OBJETIVOS.

4.1 Objetivo General

Implementar en nuestro país el examen de LBA como una técnica de utilidad para el diagnóstico de la IAD.

4.2 Objetivos específicos

- Determinar la presencia de la IAD mediante el recuento celular diferencial a partir de las muestras obtenidas del LBA.
- Establecer los rangos para cada tipo celular provenientes del recuento celular diferencial del LBA.

5 MATERIALES Y METODO.

5.1 Materiales

Materiales utilizados en la toma de muestras:

- Catéter LBA de 240 cms
- 1 frasco de xilacina 10 %¹
- 2 frascos de lidocaína 2%²
- 1 Caja de guantes de procedimiento.
- 40 tubos de EDTA de 5ml.
- 1 litro de alcohol.
- 1 bolsa de algodón.
- 20 jeringas de 3 ml.
- 20 jeringas de 5 ml.
- 20 jeringas de 10 ml
- 40 jeringas de 20 ml.
- 40 jeringas de 60 ml.
- 20 llaves de 3 pasos.
- Plumón rotulador de muestras.
- Toalla de papel desechable.
- Hervidor eléctrico.
- 4 dispositivos ice pack.
- 4 cajas de plumavit herméticas.
- 8 litros de suero fisiológico (cloruro de sodio 0,9%).
- Vaselina líquida.
- Clorexidina al 2%.
- Puro para equinos.

¹ Xila-10[®], Laboratorio Drag Pharma

² Lidocalm 2%[®], Laboratorio Drag Pharma.

5.2 Método

El estudio contempló trabajar con equinos del Regimiento de Caballería Blindada N°1 Granaderos ubicado en San Isidro sin número, Provincia de Quillota, V región, Chile.

En dicho regimiento existe una población total de 270 caballares, de los cuales se trabajó con 20, lo que corresponde a un 7,4 % del total. Los criterios de selección fueron los siguientes: tener entre 3 a 8 años de edad, además los equinos debían estar en período de entrenamiento. Una vez aplicados dichos criterios se realizó una selección al azar.

Los ejemplares seleccionados fueron evaluados mediante un examen clínico general, para así poder determinar si los ejemplares presentaban signología respiratoria tanto específica como inespecífica (Anexo 1).

5.2.1 Descripción de la toma de muestra y su procesamiento.

La técnica utilizada se basó en el modelo propuesto por Mansmann y King (1998).

Una vez finalizado el examen clínico general se procedió a entibiar la solución salina que se utilizó en el LBA, la que se cargó en 1 jeringa de 20 ml y 2 jeringas de 60 ml, además se cargó 1 jeringa de 10 ml con lidocaína al 2%. Posteriormente se procedió a sedar al caballo con xilacina al 10% en dosis de 0,3 - 0,5 mg/kg IV, el animal fue guiado hacia un brete, donde pasados 5 a 7 minutos después de la administración de la droga fue contenido por medio de un puro. La integridad del balón de la sonda se chequeó inflándolo con aire. A la sonda se le conectó una llave de tres pasos, se limpió el ollar del equino con una toalla desechable, se untó en vaselina líquida el extremo de esta para favorecer su avance y fue introducida en el meato nasal ventral extendiendo la cabeza del caballo para que pasara por la

tráquea en dirección a la carina, hasta que encontrara un tope de tal manera que la sonda no siguiera avanzando, en ese momento se procedió a inflar el balón con 7 ml de aire y a conectar la jeringa con lidocaína para posteriormente abrir la válvula y aplicar el contenido de ésta rápidamente. Luego se conectó la jeringa de 20 ml a la válvula, la cual se abrió, llenando el espacio muerto de la sonda e inmediatamente después se procedió a reemplazar esta jeringa por una de 60 ml, y se repitió el proceso hasta administrar 120 ml de suero. Después de haber infundido la última jeringa con solución salina se aplicó presión negativa sobre la misma y se comenzó a recuperar el volumen administrado, esta operación se considera exitosa solo si se recupera el 40% al 60% de este, además el líquido obtenido debe tener espuma, lo que indica la presencia de surfactante pulmonar. Cuando se obtuvo la cantidad colectada se desconectó la jeringa y se desinfló el balón liberando la presión. El exterior de la sonda fue limpiado usando clorexidina al 2% diluida en agua corriente, además se procedió a limpiar el lumen de la sonda con solución salina estéril y después se retiró este mismo fluido con una jeringa.

El fluido que se obtuvo por medio del LBA fue batido suavemente por el operador y se traspasó 5 ml de este a tubos con EDTA. Los tubos con EDTA fueron refrigerados mediante la utilización de dispositivos ice pack y envasados en cajas de plumavit hermética, posteriormente estas fueron transportadas vía terrestre al laboratorio veterinario especializado VetLab, ubicado en avenida Santa Rosa 1934, piso 3, Santiago Centro. En dependencias del laboratorio las muestras fueron trasvasadas de los tubos de EDTA a tubos cónicos de 1,5 ml, los que fueron centrifugados a 1000 rpm por 5 minutos. Terminada la centrifugación de las muestras el sobrenadante fue eliminado y con el fluido restante se hizo un extendido en un portaobjeto a este se le añadió el fijador May Gruenwald y se esperó 3 minutos, pasado este tiempo se aplicó agua bidestilada y se lavó la placa con agua corriente, luego se tiñó con Giemsa, se esperó por 15 minutos, volviéndose a lavar. Por último la muestra ya procesada fue llevada a un microscopio y se observó con un aumento de 100x, interpretándose por medio de un contador diferencial de células.

5.2.2 Análisis Estadístico

El análisis estadístico que se desarrolló en este estudio fue de carácter descriptivo, mediante la utilización del programa SAS 1985. Con este se obtuvo la media aritmética y la desviación estándar, además el coeficiente de variación fue calculado en base a la razón de la desviación estándar y la media aritmética multiplicada por 100.

6 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Al examen clínico general realizado a la totalidad de los ejemplares de este estudio, ninguno presentó signología específica o inespecífica del aparato respiratorio. La implementación de la técnica de LBA resultó ser un procedimiento sencillo y fácil de realizar en condiciones de campo. El tiempo promedio desde que se aplicó el sedante hasta que se obtuvo la muestra fue de 13 minutos. El fluido que se obtuvo a partir del LBA en la totalidad de los animales fue en promedio 59,9 ml, lo que correspondió a un 49,91% del volumen infundido (Anexo 2).

6.1 Determinación de la presencia de la IAD mediante el recuento celular diferencial a partir de las muestras obtenidas del LBA.

Los resultados de los exámenes correspondientes a los 20 equinos muestreados se presentan en la tabla N°1.

Tabla N° 1 Análisis de fluido de LBA de 20 equinos sometidos a estudio

Tipos Celulares	Macrófagos		Linfocitos		Neutrófilos		Mastocitos		Eosinófilos		Epiteliales		Hemosiderófago	
	(cel/μL)	%	(cel/μL)	%	(cel/μL)	%	(cel/μL)	%	(cel/μL)	%	(cel/μL)	%	(cel/μL)	%
Muestra 1	333	64,2%	104	20,0%	36	6,9%	5	1,0%	31	6,0%	10	1,9%	0	0,0%
Muestra 2	270	50,1%	235	43,6%	16	3,0%	5	0,9%	8	1,5%	5	0,9%	0	0,0%
Muestra 3	235	56,1%	147	35,1%	13	3,1%	8	1,9%	8	1,9%	4	1,0%	4	1,0%
Muestra 4	218	68,1%	67	20,9%	13	4,1%	3	0,9%	6	1,9%	13	4,1%	0	0,0%
Muestra 5	282	64,1%	106	24,1%	13	3,0%	4	0,9%	22	5,0%	13	3,0%	0	0,0%
Muestra 6	130	49,8%	107	41,0%	16	6,1%	0	0,0%	5	1,9%	3	1,1%	0	0,0%
Muestra 7	259	54,0%	170	35,4%	10	2,1%	5	1,0%	24	5,0%	7	1,5%	5	1,0%
Muestra 8	231	55,0%	143	34,0%	21	5,0%	4	1,0%	4	1,0%	4	1,0%	13	3,1%
Muestra 9	188	66,9%	56	19,9%	17	6,0%	3	1,1%	11	3,9%	6	2,1%	0	0,0%
Muestra 10	265	78,2%	58	17,1%	3	0,9%	0	0,0%	3	0,9%	10	2,9%	0	0,0%
Muestra 11	173	72,1%	50	20,8%	7	2,9%	0	0,0%	5	2,1%	5	2,1%	0	0,0%
Muestra 12	82	68,3%	34	28,3%	1	0,8%	0	0,0%	1	0,8%	2	1,7%	0	0,0%
Muestra 13	223	61,9%	119	33,1%	7	1,9%	0	0,0%	4	1,1%	2	0,6%	5	1,4%
Muestra 14	299	68,0%	106	24,1%	4	0,9%	0	0,0%	9	2,0%	22	5,0%	0	0,0%
Muestra 15	101	56,1%	70	38,9%	2	1,1%	0	0,0%	2	1,1%	5	2,8%	0	0,0%
Muestra 16	158	72,1%	53	24,2%	2	0,9%	0	0,0%	4	1,8%	2	0,9%	0	0,0%
Muestra 17	137	71,7%	46	24,1%	2	1,0%	0	0,0%	4	2,1%	2	1,0%	0	0,0%
Muestra 18	476	69,9%	143	21,0%	41	6,0%	7	1,0%	7	1,0%	7	1,0%	0	0,0%
Muestra 19	248	59,0%	143	34,0%	13	3,1%	8	1,9%	0	0,0%	8	1,9%	0	0,0%
Muestra 20	197	57,9%	112	32,9%	7	2,1%	7	2,1%	3	0,9%	14	4,1%	0	0,0%

En las siguientes tablas se expone el análisis estadístico del componente celular de LBA en células por microlitro (tabla N°2) y en porcentajes (tabla N°3).

Tabla N° 2 Análisis del componente celular obtenido por el LBA, células por microlitro

Tipos celulares	Muestras Totales (cel/ μ l)			
	Media	Min	Max	Des. Estándar
Macrófagos.	225,25	82,00	476,00	89,10
Linfocitos.	103,45	34,00	235,00	50,76
Neutrófilos.	12,20	1,00	41,00	10,77
Mastocitos.	2,95	0,00	8,00	3,05
Eosinófilos.	8,05	0,00	31,00	8,20
Epiteliales.	7,20	2,00	22,00	5,19
Hemosiderófilos.	1,35	0,00	13,00	3,23

Tabla N° 3 Análisis del componente celular obtenido por el LBA, expresado en porcentaje

Tipos celulares	Muestras Totales %			
	Media	Min	Max	Des. Estándar
Macrófagos.	62,49%	49,81%	78,17%	8,08%
Linfocitos.	28,70%	17,11%	43,60%	7,98%
Neutrófilos.	3,38%	0,83%	6,94%	2,01%
Mastocitos.	0,82%	0,00%	2,06%	0,72%
Eosinófilos.	2,23%	0,00%	5,97%	1,61%
Epiteliales.	2,00%	0,56%	5,00%	1,25%
Hemosiderófilos.	0,37%	0,00%	3,10%	0,77%

El análisis de las tablas N°2 y N°3 estableció que el componente celular macrófago fue el más abundante alcanzando una media de 225,25 [cel/ μ l] lo que corresponde a un 62,49% del total. El segundo componente celular con mayor participación resulto ser el linfocito con una media de 103,45 [cel/ μ l] equivalente a un 28,7% del total. Los neutrófilos ocupan el tercer lugar de acuerdo al número de células presentes cuya media alcanza un 12,2 [cel/ μ l] que resulta ser un 3,38% del total. Siguiendo con este orden decreciente la media de los eosinófilos fue de 8,05 [cel/ μ l], correspondiente a un 2,23% total.

El parámetro estadístico de desviación estándar (tabla N°3) muestra que los mayores valores obtenidos corresponden a los macrófagos, linfocitos, neutrófilos y eosinófilos con valores de 8,08%, 7,98%, 2,01%, 1,61% respectivamente. Estos amplios márgenes, sobre todo en el caso de los macrófagos y linfocitos, son atribuibles a la mayor cantidad de células existentes y a la distribución que presentan los componentes celulares en sus cantidades con respecto a la media aritmética obtenida para los mismos.

En general el conteo celular diferencial obtenido del LBA de caballos clínicamente sanos, muestra que las células con los mayores porcentajes son los macrófagos y los linfocitos (Hewson y Viel, 2002). Situación claramente definida en este análisis.

Por otra parte McGorum y Dixon (1994), señalan que el LBA de caballos normales contiene predominantemente macrófagos alveolares, linfocitos y mastocitos, un pequeño número de células bronquiales epiteliales ciliadas y no ciliadas, eosinófilos, neutrófilos, basófilos y células plasmáticas también pueden estar presentes, esto contrasta con los resultados de este estudio ya que si bien fue posible demostrar una clara dominancia de los macrófagos alveolares y de los linfocitos, el tercer componente citológico más abundante resultó ser los neutrófilos, siendo los mastocitos relegados al sexto lugar de acuerdo a la cantidad de células analizadas para el total de las muestras.

Un hecho interesante de revisar es lo que acontece con los neutrófilos cuya cantidad aparece aumentada en las muestras número 1, 6, 9 y 18 (tabla N°1). De acuerdo a lo establecido, los neutrófilos no degenerativos constituyen menos del 5% del total de células y solo ocasionalmente son observados eosinófilos y mastocitos en caballos normales (Moore y Cox, 1996).

La razón para dicho aumento es aclarada por Hewson y Viel (2002), quienes señalan que pequeños volúmenes de infusión pueden generar un porcentaje más alto de neutrófilos en el conteo celular diferencial, debido a que la muestra proviene

principalmente de los bronquios. Esta situación es importante a considerar, debido a que el volumen total para la colección de las muestras alcanzó los 120 ml de solución salina en el presente estudio, por este motivo estos resultados no fueron considerados anormales en el presente ensayo. Indicando que la IAD tipo 1 no estuvo presente en los ejemplares en cuestión.

Por otra parte las células inflamatorias de tipo eosinófilos presentaron una elevada presencia en 14 muestras lo que corresponde a un 70 % del total. En la tabla N°4 se presentan la cantidad de eosinófilos obtenidos por muestra expresada en porcentaje.

Tabla N° 4 Porcentaje de eosinófilos por muestra obtenido a partir del análisis del fluido del LBA

N° de Muestra	Eosinófilos %
Muestra 1	6,0%
Muestra 2	1,5%
Muestra 3	1,9%
Muestra 4	1,9%
Muestra 5	5,0%
Muestra 6	1,9%
Muestra 7	5,0%
Muestra 8	1,0%
Muestra 9	3,9%
Muestra 10	0,9%
Muestra 11	2,1%
Muestra 12	0,8%
Muestra 13	1,1%
Muestra 14	2,0%
Muestra 15	1,1%
Muestra 16	1,8%
Muestra 17	2,1%
Muestra 18	1,0%
Muestra 19	0,0%
Muestra 20	0,9%

Según Viel y Hewson (2003), un aumento en la población de eosinófilos en el fluido del LBA generalmente es un hallazgo transitorio y rara vez se repite en un segundo LBA realizado dentro de las 24 horas después de la colección de la primera muestra, lo que podría explicar la eosinofilia de 10 muestras que presentan entre un 1,1% y un 2,1% de estas células en su recuento celular diferencial, esto corresponde a un 50% del total de los animales; tomando como base lo señalado por Hodgson y Hodgson (2002), quienes establecen que un 1% de eosinófilos en el fluido del LBA es considerado normal en caballos jóvenes.

A su vez Couëtil (2002^a), señala que el análisis citológico del fluido de LBA permite reconocer tres tipos de perfiles inflamatorios en la IAD. El tipo 1 es el más común de encontrar y es caracterizado por un aumento total en el conteo de células nucleadas con una mediana neutrofilia (5-20%), linfocitosis, y monocitosis. El de tipo 2 corresponde a un aumento en el número de mastocitos (> al 2%) y finalmente el de tipo 3 que involucra un aumento de los eosinófilos (> al 3%).

En este estudio se estableció que en 4 casos (20%), que corresponden a las muestras 1, 5, 7, y 9 (tabla N°4) y en donde hubo una eosinofilia > al 3%, la IAD de tipo 3 estuvo presente.

En la tabla N°5 las muestras consideradas como positivas a IAD tipo 3 fueron confrontadas desde el punto de vista estadístico con aquellas muestras negativas.

Tabla N° 5 Comparación estadística de muestras IAD positivas versus IAD negativas

Tipos celulares	Muestras positivas		Muestras negativas	
	Media	Des. Est.	Media	Des. Est.
Macrófagos.	61,74%	5,70%	62,73%	8,71%
Linfocitos.	25,35%	7,29%	29,75%	8,08%
Neutrofilos.	4,42%	2,35%	3,06%	1,82%
Mastocitos.	0,99%	0,07%	0,77%	0,79%
Eosinófilos.	5,12%	0,84%	1,33%	0,61%
Epiteliales.	2,09%	0,62%	1,97%	1,38%
Hemosiderófagos.	0,29%	0,52%	0,40%	0,84%

Al comparar ambos resultados, destaca que las muestras IAD positivas presentan un elevado valor en la media de los eosinófilos, correspondiente a 5,12%. En cambio las muestras negativas presentan una media de 1,33%. El resto de los componentes celulares presentan valores normales.

Los mastocitos de las muestras IAD positivas presentan una desviación estandar de 0,07%, valor que es atribuido a la baja variación de sus valores máximos y mínimos. La mayor cantidad de estas células fueron encontradas precisamente en las muestras IAD positivas.

Los eosinófilos para las muestras consideradas positivas muestran una mayor desviación estándar que las muestras negativas a la enfermedad, los valores de este parámetro en cada uno de los casos correspondió a 0,84% y 0,61%, respectivamente. Esto se debió a que las muestras negativas presentan una menor variación en el porcentaje de células.

El análisis de coeficiente de correlación (tabla N°6) se realizó con el objetivo de establecer alguna asociación entre los eosinófilos respecto a los otros tipos celulares encontrados en las muestras que fueron consideradas positivas a la enfermedad.

Tabla N° 6 coeficiente de correlación entre eosinófilos y los componentes celulares pesquisados en las muestras positivas

Eosinófilos vs	Coefficiente de Correlación
Macrófagos.	0,14
Linfocitos.	-0,18
Neutrófilos.	-0,01
Mastocitos.	-0,39
Epiteliales.	0,04
Hemosiderófagos.	-0,15

El análisis anterior determinó que no existe correlación entre los eosinófilos y cualquier otro tipo celular encontrado en el conteo celular diferencial. Sin embargo la eosinofilia en el LBA es más frecuente de encontrar en conjunto con un aumento en la población de mastocitos y es considerado un reflejo del reclutamiento de los eosinófilos en respuesta a un aumento en la degranulación de los mastocitos. Este LBA eosinofílico es particularmente evidente cuando la mayoría de los mastocitos en la muestra presentan degranulación, demostrado por la presencia de gránulos basofílicos en el frotis citológico y gránulos fagocitados por macrófagos alveolares (Viel y Hewson 2003).

El fluido del LBA recuperado de caballos jóvenes con pobre rendimiento puede mostrar aumentos significantes en la población de mastocitos con muy pocos eosinófilos o una presencia de mastocitos con un aumento marcado en la población de eosinófilos. Estudios recientes en caballos, han demostrado una fuerte correlación entre un aumento de eosinófilos y/o mastocitos en el fluido del LBA y una hiperreactividad de las vías aéreas (Viel, 2002), además esta hiperreactividad ocurre en caballos jóvenes con bajo rendimiento (Hodgson y Hodgson 2002). Quizás si los caballos involucrados en este estudio fueran sometidos a un ejercicio deportivo más exigente podrían expresar un bajo rendimiento.

Un aumento en las poblaciones de mastocitos y eosinófilos se cree que estarían indicando la presencia de una respuesta de hipersensibilidad tipo 1 o una posible

infestación parasitaria, la que puede inducir un exudado eosinofílico pulmonar (Hodgson y Hodgson 2002, Smith *et al.*, 2002, Tizar 2002, Moore *et al.*, 1995).

La infestación con *Dictyocaulus arnfieldi* puede generar un LBA eosinofílico. En general se cree que los burros (*Equus Asinus*) son los huéspedes naturales de *Dictyocaulus arnfieldi* y que los caballos se infectan cuando se encuentran en contacto ellos. Sin embargo, varios informes han demostrado infecciones patentes con este parásito en caballos con o sin contacto previo con burros (Matthews, 2002). Las muestras obtenidas de un LBA realizado en caballos infectados con estos parásitos pueden contener una gran cantidad de gusanos pulmonares (McGorum y Dixon, 1994). Situación que no se presentó en ninguna de las muestras obtenidas en este estudio.

La migración de *Ascaris* fue considerado también como una causa de eosinofilia en el AT equino, por lo tanto puede ser una causa de la eosinofilia en el LBA de caballos en condiciones de pastoreo (McGorum y Dixon, 1994).

Resulta interesante comentar que los animales que participaron en este estudio mantienen contacto permanente con 12 ejemplares mulares que conviven con ellos en las mismas naves, además se debe señalar que el programa de desparasitación para estos animales consiste en la aplicación de diferentes drogas dos veces al año.

Un aumento de los eosinófilos puede ser considerado normal en caballos con un régimen antiparasitario estratégico realizado cada 3 meses¹, lo que no coincide con el programa que se realiza en el regimiento N°1 Granaderos.

Sin embargo resulta difícil llegar a un diagnóstico definitivo en casos en que se sospecha de una infección parasitaria de las vías respiratorias bajas, pero el historial del tratamiento antihelmíntico o una asociación directa con burros, puede proveer indicios de la participación de parásitos.

¹Comunicación personal Dra. Kate Savage (Septiembre 2009), cjsavage@unimelb.edu.au 11th World Congress of the World Equine Veterinary Association, Guaruja, Brazil.

6.2 Establecimiento de los rangos para cada tipo celular provenientes del recuento celular diferencial del LBA

En la tabla N°7 se presentan los resultados obtenidos para los rangos de las diferentes células pesquisadas por el examen, después de analizar el total de las muestras.

Tabla N° 7 Rangos celulares obtenidos del LBA en el total de las muestras

Tipos celulares	Rangos Totales			
	Media	Des. Estánd.	Rango	
Macrófagos.	62,49% ±	8,08%	54,41%	70,57%
Linfocitos.	28,70% ±	7,98%	20,72%	36,68%
Neutrofilos.	3,38% ±	2,01%	1,37%	5,40%
Mastocitos.	0,82% ±	0,72%	0,10%	1,54%
Eosinófilos.	2,23% ±	1,61%	0,63%	3,84%
Epiteliales.	2,00% ±	1,25%	0,75%	3,25%
Hemosiderófagos.	0,37% ±	0,77%	0,00%	1,15%

Los rangos de referencia para cada población de células presentes en el fluido del LBA han sido determinados por muchos estudios en los pasados 20 años (tabla N°8). La comparación entre los estudios ha sido difícil debido a la diferencias en la técnica de colección, el procesamiento de la muestra y la población objeto de estudio.

Tabla N° 8 rangos normales para los componentes celulares obtenidos en diferentes estudios

Autor(es)	Macrófagos	Linfocitos	Neutrófilos	Mastocitos	Eosinófilos
Viel y Hewson (2001)	68-60%	32-28%	7-0,4%	1-0,2%	1-0%
Clark et al., (1995)	57-55%	39-35%	6,5-5,5%	1-0,6%	0,6-04%
Lapointe et al., (1994)	32-20%	72-60%	4,1-0,3%	0,5-0%	0%

Para Hodgson (2006), definir los porcentajes normales de las células inflamatorias es difícil, debido a las considerables variaciones entre los estudios. Sin embargo se considera que un LBA debería tener <5% de neutrófilos, <2% de mastocitos y <0,5% de eosinófilos. Valores más amplios en los porcentajes de linfocitos (30-60%) y de macrófagos (40-70%) son informados, por lo tanto atribuir rangos normales para este tipo de células es aún más complicado.

Los macrófagos pulmonares alveolares son las células inflamatorias más comúnmente encontradas en los AT y en el LBA, en caballos normales sin embargo un aumento en la población de esta célula es difícil de detectar. Ocasionalmente un aumento en el mucus, un aumento en la cantidad de células nucleadas totales y un aumento en la cantidad de macrófagos, puede ser observado, pero la real significancia de estos cambios aún no es clara (Hodgson, 2006).

Los linfocitos están presentes en números bajos en la AT, pero en el LBA presentan una mayor proporción. La interpretación del aumento en los coeficientes de los linfocitos es complicada, debido a las amplias proporciones en los rangos observados en el LBA de caballos normales. Aunque mayores proporciones se han reportado en caballos de carrera con intolerancia al ejercicio y en otros caballos con tos crónica, su importancia sigue siendo poco clara (Hodgson, 2006).

Para los neutrófilos debemos señalar que el rango normal es estrecho (0-5%) lo que permite una mayor precisión en el diagnóstico (Hoffman, 2003). Por otra parte la morfología de los neutrófilos debería ser cuidadosamente evaluada para determinar

la presencia o ausencia de un factor etiológico bacteriano (Hewson y Viel, 2002). En algunos tipos de enfermedades (por ejemplo ORVA, hemorragia pulmonar inducida por ejercicio (HPIE), y algunos casos de IAD) los neutrófilos son mayoritariamente maduros sin cambios degenerativos ni tóxicos. En contraste, neutrófilos degenerativos y tóxicos son comúnmente observados en las muestras provenientes de caballos con neumonía bacteriana o fúngica o pleuroneumonía (Hodgson, 2006). Por otra parte aunque un elevado número de neutrófilos, sea la característica inmunológica celular más importante de la hipersensibilidad alérgica tipo 3, este fenómeno alérgico aún no ha sido demostrado en caballos (Viel y Hewson, 2001).

Los valores atribuidos a los rangos de los mastocitos en este estudio no alcanzan el valor de inclusión (> a un 2%) para ser categorizadas como anómalas. En caballos normales la presencia de mastocitos en la AT es rara, en contraste en el LBA un alto número de mastocitos puede ser observado. Esta diferencia se explica por la predominante distribución de estas células dentro de las vías aéreas bajas en equinos (Hodgson, 2006).

Otro componente celular que no pertenece al tipo inflamatorio pesquisado fueron las células epiteliales. Diversos estudios no contemplan el análisis de estas células en el fluido del LBA. Sin embargo Moore et al. (1995), fijan sus valores en 0,4 - 2,0%. A su vez Mckane et al. (1993), establecen un rango para estas células de: 0 - 1,2%. Por último Derksen, et al. (1989), determinaron que el rango para las células epiteliales es de 2,9 - 4,2%.

La presencia de células epiteliales exfoliadas puede ser el resultado de una injuria a la mucosa producto del trauma durante el procedimiento del LBA o bien pueden reflejar un verdadero daño celular causado por un proceso inflamatorio agudo o crónico (Viel y Hewson, 2003). Un aumento no traumático de la población de células epiteliales en el fluido del LBA es comúnmente observado producto del resultado de una infección viral. El fluido del LBA en caballos con ORVA o caballos

jóvenes con IAD durante una fase aguda de la enfermedad puede también demostrar células epiteliales con pérdida de cilios y daño citoplasmático (Hewson y Viel, 2002).

Los rangos decretados para las células epiteliales en este estudio fueron atribuidos al procedimiento de muestreo, ya que no existieron evidencias citológicas de una infección viral. Aunque las células epiteliales no son consideradas células inflamatorias para el propósito del conteo celular diferencial, el número de células individuales o agrupaciones epiteliales en las preparaciones citológicas observadas en el LBA deberían ser consideradas.

Con respecto a la presencia de hemosiderófagos en el fluido del LBA en este caso esto constituyo un hallazgo, ya que caballos normales no presentan estos componentes celulares en dicho examen. Los rangos obtenidos fueron el producto de la presencia de estas células en 4 muestras correspondientes a los números 3, 7, 8 y 13 (tabla N°1).

En los años recientes, el LBA ha sido usado por investigadores para cuantificar la severidad de la HPIE en caballos de carreras basados en el porcentaje de macrófagos cargados de gránulos que contienen hemosiderina en el fluido del LBA. Una correlación positiva ha sido reportada entre la presencia de hemosiderofagos en el fluido del LBA y la presencia de una hemorragia pulmonar en el lóbulo dorsocaudal de pulmones. Los hemosiderófagos pueden ser detectados después de muchos meses de haber ocurrido un episodio de HPIE (Hewson y Viel, 2002). Estos han sido encontrados en el 90% de caballos de carreras en entrenamiento, indicando que la HPIE ocurre virtualmente en todos los caballos (McGorum y Dixon, 1994). La citología del LBA en la mayoría de los caballos afectados por una HPIE muestra una población celular inflamatoria mixta principalmente de neutrófilos, mastocitos, y eosinófilos. Así el pronóstico para los caballos identificados con esta inflamación mixta tiende a ser reservado debido a la presencia simultánea de IAD y HPIE (Viel y Hewson, 2003).

En el presente estudio, la presencia de hemosiderófagos no fue asociada con una inflamación mixta de las vías aéreas en ninguna de las muestras en las que estos fueron encontrados. Una HPIE o la posibilidad de microhemorragias, puede ser la causa de la presencia de estas células en el fluido del LBA. Sin embargo afirmar esta situación requiere de un análisis en terreno más profundo como la evaluación endoscópica de las vías aéreas, la evaluación del rendimiento del caballo en entrenamiento y en competición y realizar un nuevo muestreo a los caballos que manifestaron esta condición.

7 CONCLUSIONES

Se concluye que, la técnica de lavado broncoalveolar constituye una importante herramienta de diagnóstico de la Enfermedad Inflamatoria de las Vías Aéreas, la cual debería ser implementada por los clínicos especialistas en medicina equina.

La IAD estuvo presente en el 20% de los ejemplares muestreados, la que fue de carácter subclínica y correspondiente al tipo 3.

Los rangos porcentuales para cada tipo de celular fueron los siguientes: macrófagos 54,41 – 70,57%, linfocitos 20,72 – 36,68%, neutrófilos 1,37 – 5,40%, mastocitos 0,1 – 1,54%, eosinófilos 0,63 – 3,84%; células epiteliales 0,75 – 3,25%, hemosiderófagos 0 – 1,15%.

8 BIBLIOGRAFÍA.

AINSWORTH, D. y HACKETT, R. Disorders of the respiratory system En: REED, M. S. BAYLY, W.M, SELLON D.C. Equine Internal Medicine. Philadelphia, Saunders. 2004. pp. 324-326.

ALLEN, K. y FRANKLIN, S. RAO and IAD: respiratory disease in horses revisited. In Practice, 29 (2): 76-80, Febrero 2007.

AMMANN, V. T., VRINS, A. A. y LAVOIE JP. Effects of inhaled beclomethasone dipropionate on respiratory function in horses with chronic obstructive pulmonary disease (COPD). Equine Veterinary Journal, 30(2): 152-157, Marzo 1998.

BROADSTON, R. "et al". In vitro responses of airway smooth muscle from horses with recurrent airway obstruction. Pulmonary Pharmacology, 4(4): 191-202, Mayo 1991.

BUECHNER-MAXWELL, V. Normal Respiratory epithelial structure and function. Comp. Cont. Ed,15(4): 618-624, 1993.

CHAPMAN, P. S. "et al". Retrospective study of the relationships between age, inflammation and isolation of bacteria from lower respiratory tract of thoroughbred horses. Veterinary Record, 146(4):91-95, Enero 2000.

CHRISTLEY, R. "et al". A case-control study of respiratory disease in Thoroughbred racehorses in Sydney, Australia. Equine Veterinary Journal, 33(3): 256-264, Octubre 2001.

CLARK, C. K. "et al". Bronchoalveolar lavage in horses: effect of exercise and repeated sampling on cytology. Australian Veterinary Journal, 72(7): 249-252, Julio 1995.

COUËTIL, L. "et al". Inflammatory airways disease of horses. Journal of Veterinary Internal Medicine, 21(2): 356-361, Junio 2007.

COUËTIL, L. IAD: Cough, Poor performance, Mucus in the airways - What is so important about that ? [en línea]: International Veterinary Information Service- IVIS. 2002a [fecha de consulta: 28 de Mayo del 2008]. Disponible en:<<http://www.ivis.org/proceedings/AAEP/2002/910102000200.pdf>>

COUËTIL, L. Respiratory Disease by Clinical Signs [en línea]: International Veterinary Information Service- IVIS. 2002b [fecha de consulta: 6 de Julio del 2009]. Disponible en: <http://www.ivis.org/special_books/Lekeus/couetil/charper.asp?LA=1>

COUËTIL, L. "et al". Clinical signs, evaluation of bronchoalveolar lavage fluid, and assessment of pulmonary function in horses with inflammatory respiratory disease. American Journal of Veterinary Research, 62(4): 538-546, 2001.

DERKSEN, F.J. y ROBINSON, N.E. Overview of Equine Respiratory System [en línea] International Veterinary Information Service- IVIS. 2002 [fecha de consulta 28 de Agosto del 2008]. Disponible en: <http://www.ivis.org/special_books/Lekeux/derksen/chapter_frm.asp?LA=1>

DERKSEN, F.J. "et al". Comparison of transtracheal aspirate and bronchoalveolar lavage cytology in 50 horses with chronic lung disease. Equine veterinary journal, 21(1): 23-26, Enero 1989.

DIAMOND, G., LEGARDA, D. y RYAN, L. The innate immune response of the respiratory epithelium. Immunological Reviews, 173(1): 27-38, Febrero 2000.

DYCE, K. SACK, W. y WENSING, K. Anatomía Veterinaria. Buenos aires, Panamericana, 1991. 176 p.

GANONG, W. Sección VII Respiración. En su: Fisiología Médica. México D.F., El Manual Moderno, 2002. pp 705-742.

GHIO, A. J. Aetiological Agents: Outdoor Environment and Airways [en línea]: International Veterinary Information Service- IVIS. 2002 [fecha de consulta: 8 de agosto del 2008]. Disponible en: <<http://havemeyerfoundation.org/PDFfiles/monograph9.pdf>>

HARE, J.E. y VIEL, L. Pulmonary eosinophilia associated with increased airway responsiveness in young racing horses. Journal of Veterinary Internal Medicine, 12(3): 163-170, Mayo 1998.

HARE, W. C. Sistema respiratorio de los equinos. En: GETTY, R. Anatomía de los animales domésticos. Barcelona, Masson, S.A. 2000. pp. 579-584.

HEWSON, J. y VIEL, L. Sampling, Microbiology and Citology of the Respiratory Tract. [en línea]: International Veterinary Information Service- IVIS 2002. International Veterinary Information Service- IVIS. 2002 [fecha de consulta: 8 de Mayo del 2008]. Disponible en: <http://www.ivis.org/special_books/lekeux/viel/chapter_frm.asp?LA=1>.

HODGSON, J. L. Collection and interpretation of tracheal wash and bronchoalveolar lavage for diagnosis of infectious and non-infectious lower airway disorders [en línea]: International Veterinary Information Service- IVIS. 2006 [fecha de consulta: 5 de diciembre del 2009] .Disponible en:<<http://www.ivis.org/proceedings/weva/2006713.pdf?LA=1>>

HODGSON, J. L. y HODGSON, D. R. Inflammatory Airway Disease. [en línea]: International Veterinary Information Service- IVIS. 2002 [fecha de consulta: 3 de Junio del 2008]. Disponible en: <http://www.ivis.org/special_books/lekeux/hodgson/chapter_frm.asp?LA=1>

HOFFMAN, A. M. Inflammatory Airway Diseases: Definitions and Diagnosis in the Performance Horse. En: ROBINSON N. E. y WILSON R. Current Therapy In Equine Medicine 5th edition. St Louis. Saunders. 2003. pp. 412-417.

HOFFMAN, A. M., MAZAN, M. R. y ELLENBERG, S. Association between bronchoalveolar lavage cytologic features and airway reactivity in horses with a history of exercise intolerance. American Journal of Veterinary Research, 59(2): 176-181, Febrero 1998.

HOFFMAN, A. M. y GRAFTON, N. Airway reactivity in the assessment of the lung function. [en línea]: International Veterinary Information Service- IVIS. 2001 [fecha de consulta: 6 de junio del 2008]. Disponible en: <<http://www.ivis.org/proceedings/weas/2001/Hoffman.pdf>>

HOLCOMBE, S. J. Does Airway Mucus Affect Racing Performance and What Can We Do About It? [en línea]: International Veterinary Information Service- IVIS. 2006 [fecha de consulta: 6 de Junio del 2009]. Disponible en: <<http://www.ivis.org/proceedings/aaep/sort/2006/Holcombe3.pdf>>

HOLCOMBE, S. J. Epidemiology of Airway Inflammation and Mucus in Horses. [en línea]: International Veterinary Information Service- IVIS. 2005 [fecha de consulta: 4 de Junio del 2008]. Disponible en: <<http://www.ivis.org/proceedings/aaep/2005/holcombe/chapter.asp?LA=1>>

HOROHOV, D.W. Immunology of the Equine Lung [en línea]: International Veterinary Information Service- IVIS. 2004 [fecha de consulta: 15 de Agosto del 2008]. Disponible en: <http://www.ivis.org/special_books/Lekeux/horohov/chapter.asp?LA=1>

JEFCOAT, A. "et al". Persistent mucin glycoprotein alterations in equine recurrent airway obstruction. American journal of physiology. Lung cellular and molecular physiology, 281(3): 704-712, Agosto 2001.

KÖNIG H. E. y LIEBICH H. G.: Aparato Respiratorio. En su: Anatomía de los animales domésticos. Buenos Aires, Médica Panamericana. 2005. pp. 99-100.

LAPOINTE, J. M., VRINS, A. y LAVOIE, J. P. Effects of centrifugation and specimen preparation technique on bronchoalveolar lavage analysis in horses. Equine Veterinary Journal, 26(3): 227-229, Mayo 1994.

MAIR, T. S. y SWEENEY, C. R. Advances in the diagnosis of the equine lung disease: sampling from the lower airways. Equine Veterinary Journal, 22(3): 147-148, Mayo 1990.

MALIKIDES, N. "et al". Comparison of tracheal aspirates and bronchoalveolar lavage in racehorses 2: Evaluation of the relative percentage of neutrophils. Australian Veterinary Journal, 81(11): 685-687, Junio 2003.

MANSMANN, R. y KING, C. How to Perform Bronchoalveolar Lavage in Practice? [en línea] International Veterinary Information Service- IVIS. 1998 [fecha de consulta 28 de Mayo del 2008]. Disponible en: <www.ivis.org/proceedings/aaep/1998/Mansmann.pdf>

MATTHEWS, J. B. Parasitic Airway Disease [en línea] International Veterinary Information Service- IVIS. 2002. [fecha de consulta 21 de octubre del 2009]. Disponible en: <www.ivis.org/special_books/Lekeux/matthews/chapter_frm.asp?LA=1>

MAZAN, M. Inflammatory Airway Disease-Current Knowledge. [en línea]. Veterinary Information Network. Inc. VIN. 2002 [fecha de consulta 11 de junio del 2008]. Disponible en: <<http://www.vin.com/Members/proceedings/Proceedings.plx?CID=acvim2002&PID=pr01626&=VIN>>

McGORUM, B. C. y PIRIE, R. S. Aetiological Agents: Indoor Environment and Endotoxin [en línea]: International Veterinary Information Service- IVIS. 2002 [fecha de consulta: 8 de agosto del 2008]. Disponible en: <<http://havemeyerfoundation.org/PDFfiles/monograph9.pdf>>

McGORUM, B. C. y DIXON, P. M. The analysis and interpretation of equine bronchoalveolar lavage fluid (BALF) cytology. *Equine Veterinary Education*, 6(4): 203-209, 1994.

McKANE, S. A., CANFIELD, P. J. y ROSE R. J. Equine bronchoalveolar lavage cytology: survey of thoroughbred racehorses in training. *Australian Veterinary Journal*, 70(11): 401-404, Noviembre 1993.

MOORE, B. R. "et al". Cytologic evaluation of bronchoalveolar lavage fluid obtained from Standardbred racehorses with inflammatory airway disease. *American Journal of Veterinary Research*, 5(5): 562-567, Marzo 1995.

MOORE, B. y COX, J. Diagnostic Use of Bronchoalveolar Lavage. *Equine Practice*, 18(5): 7-15, Mayo 1996.

MORAN, G., ARAYA, O. y FOLCH, H. Obstrucción Recurrente de la Vías Aéreas [en línea]: Scientific Electronic Library Online. 2006 [fecha de consulta: 23 de junio del 2008]. Disponible en: <http://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S0301-732X200600030000&script=sci_arttext>

OLSZEWSKI, M. ZHANG, X-Y. y ROBINSON, N. E. Pre- and postjunctional effects of inflammatory mediators in horse airway. American Journal of Physiology Lung Cellular and Molecular Physiology, 277(2): 327-333, Agosto 1999.

RACKICH, P. y LATIMER, K. Citology En: LATIMER, K. S. MAHAFFEY, E. A. PRASSE K. W. Veterinary Clinical Pathology. 4th edition. Chicago, Blackwell. 2003. pp 325-327.

REBAR, A. H. "et al". Neutrophils: Overview, Quantity, Morphology. [en línea]: International Veterinary Information Service- IVIS. 2005 [fecha de consulta: 2 de Noviembre del 2009]. Disponible en: <<http://www.ivis.org/advances/Rebar/Chap5/chapter.asp?LA=1>>

ROBINSON, N. E. Equine COPD, Heaves, RAO, IAD: Understanding the Phenotypes of Equine Airway Disease [en línea]: International Veterinary Information Service- IVIS. 2008 [fecha de consulta: 25 de Octubre del 2009]. Disponible en: <<http://www.ivis.org/proceedings/sevc/2008/robin1.pdf>>

ROBINSON, N. E. "et al". Airway inflammation in Michigan pleasure horses: Prevalence and risk factors por. Equine Veterinary Journal, 38(4): 293-299, Abril 2006.

ROBINSON, N. E. Sección VIII Función Respiratoria. En: Cunningham, J.G. Fisiología Veterinaria. Barcelona, Elsevier. 2003 pp. 468-500.

RUSH, B. R. Treatment of Inflammatory Airway Disease: Aerosol Delivery Devices and Medications [en línea] International Veterinary Information Service- IVIS. 2002a [fecha de consulta 11 de Octubre del 2008]. Disponible en: <<http://www.ivis.org/proceedings/AAEP/2002/910102000218.PDF>>

RUSH, B. R. Inflammatory airway disease: a clinician's view from North America [en línea]: International Veterinary Information Service- IVIS. 2002b [fecha de consulta: 12 de noviembre del 2009]. Disponible en: <<http://havemeyerfoundation.org/PDFfiles/monograph9.pdf>>

SANCHEZ A. "et al". Effect of airway disease on blood gas exchange in racehorses. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 19(1): 87-92, Mayo 2005.

SANDE, R. D. y TUCKER, R. L. Radiology of the Equine Lungs and Thorax [en línea] International Veterinary Information Service- IVIS. 2004 [fecha de consulta 23 de Marzo del 2009]. Disponible en: <http://www.ivis.org/special_books/lekeux/Tucker/chapter_frm.asp?LA=1>

SCHAMALLENBACH, K. H. "et al". Studies on pulmonary and systemic Aspergillus fumigatus-specific IgE and IgG antibodies in horses affected with chronic obstructive pulmonary disease (COPD). *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 66(3-4): 245-256, Diciembre 1998.

SMITH, K. C. "et al". Cytology of inflammatory airway disease [en línea]: International Veterinary Information Service- IVIS. 2002 [fecha de consulta: 13 de Octubre del 2009]. Disponible en: <<http://havemeyerfoundation.org/PDFfiles/monograph9.pdf>>

TIZARD, I. Inmunidad en las superficies corporales. En su: *Inmunología Veterinaria*. México D. F., McGraw-Hill Interamericana. 2002. pp 251-252.

VIEL, L. Significance of bronchoalveolar cytology in inflammatory airway disease of horses [en línea]: International Veterinary Information Service- IVIS. 2002 [fecha de consulta: 13 de Octubre del 2009]. Disponible en: <<http://havemeyerfoundation.org/PDFfiles/monograph9.pdf>>

VIEL, L. y HEWSON, J. Bronchoalveolar Lavage. En: ROBINSON N. E y WILSON R. Current Therapy In Equine Medicine 5th edition. St Louis. Saunders. 2003. pp. 407-411.

VIEL, L. y HEWSON, J. Bal cytology in horses whit exercise intolerance: What does it tell us? [en línea]: International Veterinary Information Service- IVIS. 2001 [fecha de consulta: 5 de junio del 2008]. Disponible en: <<http://www.ivis.org/proceedings/weas/2001/Viel.pdf>>

WAGNER, P. "et al". Mechanism of exercise-induced hypoxemia in horses por. Journal of Applied Physiology, 66(3): 1227-1233, Julio 1989.

WEST, J. Mecánica de la ventilación. En su: Fisiología Respiratoria. Buenos Aires, Médica Panamericana. 2005. pp. 113-114.

WISNER, E. R. "et al". Radiographic and microscopic correlation of diffuse interstitial and bronchointerstitial pulmonary patterns in the caudodorsal lung of adult thoroughbred horses in race training. Equine Veterinary Journal, 25(4): 293-298, Julio 1993.

WOOD, J. L. "et al". Inflammatory airway disease, nasal discharge and respiratory infections in young British racehorses. Equine Veterinary Journal, 37(3): 236-242, Septiembre 2005.

WOOD, J. L. "et al". Aetiological Agents: Viruses and Inflammatory Airway Disease [en línea]: International Veterinary Information Service- IVIS. 2002 [fecha de consulta: 8 de agosto del 2008]. Disponible en: <<http://havemeyerfoundation.org/PDFfiles/monograph9.pdf>>

9 ANEXOS

Anexo 1, Ficha tipo examen clínico general

Ejemplar N°		Fecha
Nombre del Ejemplar		
Sexo:	Edad (años):	Raza:
Actividad:	Otros:	
Examen Clínico General		
Actitud (respecto al medio):		
Frecuencia Cardíaca:		
Frecuencia Respiratoria:		
Tiempo de Pliegue Cutáneo:		
Tiempo de Llame Capilar:		
Pulso:		
Coloración de Mucosa:		
Temperatura:		
Condición Corporal:		
Presencia de Secreciones si (tipo)/no:		
Ubicación anatómica:		
Evaluación Cardíaca		
Ritmo:		
Ruidos si (tipo)/no:		
Evaluación Pulmonar, Tráquea y Laringe		
Ruidos si (tipo)/no:		
Reflejo Tusígeno (positivo/negativo):		
Evaluación del Peristaltismo		
Flanco Derecho Superior:		
Flanco Derecho Inferior:		
Flanco Izquierdo Superior:		
Flanco Izquierdo Inferior:		
Distensión Abdominal si /no: derecho/izquierdo:		
Evaluación de Piel y Pelaje		
Lesiones si (tipo)/no:		
Ubicación anatómica:		
Evaluación de Gangleos Linfáticos		
Dolor si /no:		
Inflamación si /no:		
Aumento de Temperatura si /no:		
Adherencias si /no:		
Ubicación anatómica:		
Evaluación de la marcha		
Descordinación si /no:		
Miembro(s) Afectado(s):		
Claudicaciónes si (grado)/no: Miembro(s) Afectado(s):		

Anexo 2, Volúmenes de solución salina utilizados en la totalidad de equinos muestreados.

Ejemplar N°	Vol. Administrado (ml)	Vol. Recuperado (ml)
1	120	79
2	120	67
3	120	62
4	120	67
5	120	50
6	120	67
7	120	64
8	120	70
9	120	71
10	120	50
11	120	59
12	120	48
13	120	50
14	120	54
15	120	48
16	120	69
17	120	71
18	120	50
19	120	52
20	120	50

Promedio :59,9

Anexo 3, Tablas complementarias

Anexo N° 3, Tabla N°1 Coeficiente de Variación de muestras totales

Tipos celulares	Muestras Totales %			
	Media	Min	Des. Estándar	Coef. de Var
Macrófagos.	62,49%	49,81%	8,08%	12,93%
Linfocitos.	28,70%	17,11%	7,98%	27,79%
Neutrófilos.	3,38%	0,83%	2,01%	59,46%
Mastocitos.	0,82%	0,00%	0,72%	87,80%
Eosinófilos.	2,23%	0,00%	1,61%	71,97%
Epiteliales.	2,00%	0,56%	1,25%	62,66%
Hemosiderófilos.	0,37%	0,00%	0,77%	206,87%

Promedio	75,64%
----------	--------

Anexo N° 3, Tabla N°2 Coeficiente de Variación de muestras negativas a IAD

Tipos celulares	Muestras No Sospechosas %			
	Media (cel/ μ L)	Min	Des. Estándar	Coef. de Var.
Macrófagos.	62,73%	49,81%	8,71%	13,89%
Linfocitos.	29,75%	17,11%	8,08%	27,15%
Neutrófilos.	3,06%	0,83%	1,82%	59,53%
Mastocitos.	0,77%	0,00%	0,79%	102,97%
Eosinófilos.	1,33%	0,00%	0,61%	46,01%
Epiteliales.	1,97%	0,56%	1,38%	70,13%
Hemosiderófilos.	0,40%	0,00%	0,84%	209,46%

Promedio	75,59%
----------	--------

Anexo N° 1, Tabla N°3 Coeficiente de Variación de muestras positivas a IAD

Tipos celulares	Muestras Sospechosas %			
	Media	Min	Des. Est.	Coef. de Var.
Macrófagos.	61,74%	53,96%	5,70%	9,23%
Linfocitos.	25,35%	19,93%	7,29%	28,77%
Neutrofilos.	4,42%	2,08%	2,35%	53,18%
Mastocitos.	0,99%	0,91%	0,07%	7,35%
Eosinófilos.	5,12%	3,91%	0,84%	16,44%
Epiteliales.	2,09%	1,46%	0,62%	29,86%
Hemosiderófagos.	0,29%	0,00%	0,52%	179,17%

Promedio	46,29%
----------	--------

Anexo N° 3, Tabla N°4 Rangos celulares obtenidos del LBA en las muestras positivas a IAD

Tipos celulares	Rangos Muestras Negativas IAD			
	Media	Des. Estándar	Rango	
Macrófagos.	62,725% ± 8,714%		54,012%	71,439%
Linfocitos.	29,750% ± 8,076%		21,675%	37,826%
Neutrofilos.	3,061% ± 1,822%		1,239%	4,883%
Mastocitos.	0,765% ± 0,788%		0,000%	1,553%
Eosinófilos.	1,330% ± 0,612%		0,718%	1,942%
Epiteliales.	1,968% ± 1,380%		0,588%	3,347%
Hemosiderófagos.	0,401% ± 0,840%		0,000%	1,240%

Anexo N° 3, Tabla N° 5 Rangos celulares obtenidos del LBA en las muestras positivas a IAD

Tipos celulares	Rangos Muestras Positivas IAD			
	Media	Des. Estándar	Rango	
Macrófagos.	61,744% ± 5,699%		56,045%	67,444%
Linfocitos.	25,349% ± 7,294%		18,055%	32,643%
Neutrofilos.	4,419% ± 2,350%		2,069%	6,769%
Mastocitos.	0,988% ± 0,073%		0,916%	1,061%
Eosinófilos.	5,116% ± 0,841%		4,275%	5,957%
Epiteliales.	2,093% ± 0,625%		1,468%	2,718%
Hemosiderófagos.	0,291% ± 0,521%		0,000%	0,812%