

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE DARCY RIBEIRO**

**ROBERTO VIEIRA GONÇALVES**

**INFLUÊNCIA DA GESTAÇÃO NA DINÂMICA DAS CARACTERÍSTICAS FÍSICO-  
QUÍMICAS E CELULARES DO LÍQUIDO PERITONEAL EM ÉGUAS DA RAÇA  
PÔNEI**

**Campos dos Goytacazes**

**Abril de 2019**

**ROBERTO VIEIRA GONÇALVES**

**INFLUÊNCIA DA GESTAÇÃO NA DINÂMICA DAS CARACTERÍSTICAS FÍSICO-  
QUÍMICAS E CELULARES DO LÍQUIDO PERITONEAL EM ÉGUAS DA RAÇA  
PÔNEI**

“Dissertação apresentada ao Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal”

**ORIENTADORA:** Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Paula Alessandra Di Filippo

**Campos dos Goytacazes**

**Abril de 2019**

## FICHA CATALOGRÁFICA

UENF - Bibliotecas

Elaborada com os dados fornecidos pelo autor.

G635

Gonçalves, Roberto Vieira.

Influência da gestação na dinâmica das características físico-química e celulares do líquido peritoneal em éguas da raça pônei / Roberto Vieira Gonçalves. - Campos dos Goytacazes, RJ, 2019.

59 f.

Inclui bibliografia.

Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias, 2019.

Orientadora: Paula Alessandra Di Filippo.

1. égua gestante. 2. líquido peritoneal. 3. abdominocentese. 4. citologia. 5. proteína total. I. Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. II. Título.

CDD - 636

ROBERTO VIEIRA GONÇALVES

**INFLUÊNCIA DA GESTAÇÃO NA DINÂMICA DAS CARACTERÍSTICAS FÍSICO-  
QUÍMICAS E CELULARES DO LÍQUIDO PERITONEAL EM ÉGUAS DA RAÇA  
PÔNEI**

“Dissertação apresentada ao Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal”

Aprovada em 02 de abril de 2019.

BANCA EXAMINADORA

---

Prof. José Dantas Ribeiro Filho (Doutor, Patologia e Ciências Clínicas) - UFV

---

Prof. Eulógio Carlos Queiroz de Carvalho (Doutor Patologia) - UENF

---

Prof Antônio Peixoto Albernaz (Doutor Produção Animal) UENF

---

Prof.<sup>a</sup> Paula Alessandra Di Filippo (Doutora Cirurgia Veterinária) - UENF  
(Orientadora)

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço, primeiramente, a Deus por ter me dado força para superar as dificuldades impostas e me permitido concluir mais essa etapa na minha vida;

Agradeço muito ao meu amor, Carolina, minha esposa e companheira nos momentos bons e difíceis, sendo fundamental para manter meu equilíbrio, estímulo e foco; e ao meu amado filho, João Pedro que mesmo sem saber foi minha maior razão para superar todas as adversidades. Obrigado por compreenderem meus momentos de ausência;

Agradeço aos meus familiares e com especial carinho a meu pai, Raimundo (in memoriam), minha mãe, Elisa e meu irmão, Ricardo, minha tia Margarida, os quais foram os grandes responsáveis pela formação da minha educação e do meu caráter;

Agradecimento muito especial aos meus Tios, Eraldo e Marta e família, por terem me acolhido durante esses dois anos, sendo muito importante na viabilização desse sonho;

Agradeço à minha orientadora, Professora Paula Alessandra Di Filippo, por ter me aberto as portas da pós-graduação, me permitindo consumir esse meu projeto profissional. Muito obrigado, professora, pela oportunidade, confiança e paciência e por tornar possível a realização deste trabalho;

Agradeço aos meus amigos: Marcos, Bárbara, Gabriel, Vinicius, Mateus e demais residentes e estagiários, que nos acompanharam nas coletas prestando todo o auxílio na execução deste trabalho de pesquisa;

Agradeço ao professor, Antônio Peixoto Albernaz e sua equipe de técnicos, residentes e estagiários, que me disponibilizaram os equipamentos e insumos laboratoriais, permitindo o processamento das amostras;

Agradeço ao professor, Eulógio Carlos Queiroz de Carvalho e sua equipe de residentes, por me auxiliarem nos exames citológicos;

Agradeço ao professor, Leonardo Glória, pelos ensinamentos e ajuda na análise de dados;

Agradeço meu querido amigo professor, João Paulo Martins, que me ajudou muito, disponibilizando artigos científicos que pareciam impossíveis de encontrar, nas sugestões e orientações na condução do trabalho e, principalmente, nas análises dos dados;

Agradeço aos proprietários, Angelo e Charles, por terem disponibilizado os animais para pesquisa, bem como seus respectivos funcionários para a ajuda durante as coletas;

Agradeço a todos os amigos e colegas com os quais convivi e estudei e que fizeram parte, direta e indiretamente do meu aprendizado e a todos que contribuíram para minha formação profissional, permitindo base sólida para chegar até aqui;

Agradeço, por fim, aos Professores da banca examinadora, que cederam parte de seu tempo para avaliarem-me no momento em que encerro minhas atividades como aluno de mestrado.

## RESUMO

Éguas gestantes, ocasionalmente, desenvolvem distúrbios gastrointestinais e o trabalho de parto distócico ou mesmo eutócico pode ser confundido com quadro de síndrome cólica. O exame de palpação retal auxilia no diagnóstico, entretanto, nas éguas gestantes, esse procedimento pode ser prejudicado. A avaliação física e química do líquido peritoneal (LP) pode auxiliar o diagnóstico, possibilitando detectar alterações na cavidade abdominal. Desta forma, é importante diferenciar as alterações encontradas no LP provocadas pela afecção das alterações fisiológicas advindas da gestação. Neste contexto, este estudo tem como objetivo avaliar o líquido peritoneal de éguas saudáveis, antes, durante a gestação e no pós-parto e observar possíveis alterações na sua composição que possam ter ocorrido em decorrência do desenvolvimento fetal. Para isso, foi realizado no período entre junho de 2017 e janeiro de 2019, um estudo observacional com 31 éguas da raça Pônei clinicamente saudáveis, copuladas por monta natural e prenhez confirmada pelo exame ultrassonográfico, provenientes de duas propriedades rurais. Foram coletadas amostras mensais de LP em tubo contendo anticoagulante ácido etilenodiaminotetracético (EDTA) e em frascos Eppendorf®. Na 1ª etapa do estudo as éguas encontravam-se em diferentes estágios gestacionais. A 2ª etapa correspondeu à segunda gestação das mesmas éguas, já que permaneceram em acompanhamento mensal mesmo após o parto. Durante todo o período estudado, as coletas foram realizadas no momento em que as éguas não se encontravam gestantes, durante toda a gestação (1º ao 11º mês gestacional) e no momento pós-parto ( $\pm 7$  dias). O LP foi avaliado quanto suas características físicas (cor e aspecto) e em relação à concentração de proteína e densidade, utilizando um refratômetro. A concentração de albumina e proteína (Biureto) foi avaliada por método colorimétrico em bancada. A contagem de células nucleadas total foi feita em analisador hematológico automatizado SDH3 VET® e a contagem diferencial em microscopia óptica. Os dados foram analisados pelo programa estatístico SAS versão 9.4, (procedimento *MIXED*) adotando nível estatístico de significância de 5% ( $p < 0,05$ ). Das 370 amostras analisadas ao longo do experimento, 76,5% (283) apresentaram coloração amarelo palha e 71,4% (264) das amostras estavam límpidas. 7,3% das amostras sofreram contaminação iatrogênica por sangue, porém não alteraram os resultados de

concentração proteica e contagem de células nucleadas totais. Na avaliação das concentrações de proteína, houve um aumento significativo ( $p \leq 0,01$ ) nas médias em diversos momentos avaliados. No exame citológico houve um predomínio das células mononucleares em relação às demais populações. No 11º mês gestacional observou-se um aumento significativo ( $p \leq 0,01$ ) nas proporções de linfócitos. Não houve diferenças estatísticas nas médias de eosinófilos. Portanto, podemos concluir que apesar da gestação alterar a dinâmica da composição físico-química e celular do LP, quando comparada com éguas não gestantes, não foi observado um aumento ou diminuição das médias frente aos valores de referência citados na literatura.

**Palavras-chave:** éguas gestantes; líquido peritoneal; abdominocentese; citologia; proteína total.

## ABSTRACT

Pregnant mares occasionally develop gastrointestinal disorders. Dystocic delivery, or even eutocic delivery, may be confused with colic syndrome. The examination of rectal palpation helps in the diagnosis; however, in pregnant mares this procedure can be impaired. The physical and chemical evaluation of the peritoneal fluid (PF) may aid the diagnosis, making it possible to detect some changes in the abdominal cavity. Therefore, it is vital to differentiate the alterations found in PF caused by the normal physiological changes during gestation. This observational study aims to evaluate the peritoneal fluid of healthy mares before, during gestation and postpartum, and to observe possible changes in their composition that may occurred due to fetal development. The study was performed between June 2017 and January 2019 with 31 clinically healthy Pony mares from two farms. Mares copulated by natural breeding, and pregnancy was diagnosed by ultrasonographic examination. Monthly samples of PF were collected in an anticoagulant tube containing ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) and Eppendorf® Tubes. In the beginning of the study mares were in different stages of gestation and were used until foaling. The same mares were rebred in the following breeding season, and only the pregnant mares were kept in the study. Throughout the study period, samples were collected prior and during gestation (1<sup>st</sup> to 11<sup>th</sup> month), and 7 to 10 days postpartum. The PF was visually inspected for color and clarity. Specific gravity and total protein concentration were measured using a refractometer. Total concentrations of albumin and protein were also measured by biuret assay. Total nucleated cell counts was measured by an automated analysis system, and differential cell counts were made by viewing 100 cells on a stained smear. Data were analyzed by a linear mixed model using the Mixed procedure of SAS (9.4). A significance level of 5% ( $p < 0.05$ ) was used to determine statistical differences. Of the 370 samples analyzed during the experiment, 76.5% (283) presented pale yellow color, and 71.4% (264) of the samples were clear. Only 7.3% of samples were contaminated with blood during collection, but protein concentration and total nucleated cell counts of these samples did not present abnormal results. Mononuclear cells were predominant in the cytological evaluation. A significant increase in the proportions of lymphocytes was observed in the 11<sup>th</sup> gestational month. Mean specific gravity, total protein, albumin, and globulin concentrations, total nucleated cell counts and differential cell counts had significant differences at specific periods of collection.

However, the majority of samples and all means during different collection periods were within the normal limits described by previous studies. In conclusion, the gestation did not cause any abnormality in the PF characteristics.

**KEYWORDS:** pregnant mares; peritoneal fluid; abdominocentesis; cytology; total protein

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Diagrama das coletas na primeira etapa.....	31
Figura 2. Diagrama das coletas na segunda etapa.....	32
Figura 3. Média da densidade do LP com Erro Padrão na barra de erros medida pelo refratômetro de acordo com os períodos observados.....	39
Figura 4. Média da Proteína (g/dL) do LP com Erro Padrão na barra de erros, avaliado por refratometria, de acordo com os períodos observados.....	40
Figura 5. Média da Proteína (g/dL) do LP com Erro Padrão na barra de erros, avaliada pelo método de Biureto, de acordo com os períodos observados.....	40
Figura 6. Média da Albumina (g/dL) do LP com Erro Padrão na barra de erros de acordo com os períodos observados.....	41
Figura 7. Média da Globulina (g/dL) do LP com Erro Padrão na barra de erros de acordo com os períodos observados.....	42
Figura 8. Média da contagem de células nucleadas total ( $\times 10^3/\mu\text{L}$ ) no LP com Erro Padrão na barra de erros, de acordo com os períodos observados.....	44
Figura 9. Média das células mononucleares (%) do LP com Erro Padrão na barra de erros, de acordo com os períodos observados.....	45
Figura 10. Média dos linfócitos (%) do LP com Erro Padrão na barra de erros, de acordo com os períodos observados.....	45
Figura 11. Média dos neutrófilos (%) do LP com Erro Padrão na barra de erros, de acordo com os períodos observados.....	46
Figura 12. Média dos eosinófilos (%) do LP com Erro Padrão na barra de erros, de acordo com os períodos observados.....	47

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Análise físico-química e celular do líquido peritoneal de éguas em diversos momentos (não gestante, gestante e pós-parto).....	36
Tabela 2. Classificação do líquido peritoneal quanto a cor e aspecto em cada período observado.....	37
Tabela 3. Média e ( $\pm$ ) intervalo de confiança das amostras de líquido peritoneal para as variáveis: Densidade, Proteína aferida pelo refratômetro, Proteína aferida pelo método de Biureto, Albumina e Globulina de acordo com o período observado.....	38
Tabela 4. Média e ( $\pm$ ) intervalo de confiança das amostras de líquido peritoneal para as variáveis: Células Nucleadas Totais, Células Mononucleares (Cél Mesoteliais e Macrófagos), Neutrófilos, Linfócitos, Eosinófilos e Basófilos de acordo com período observado.....	43

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	12
2. OBJETIVOS.....	14
2.1 OBJETIVO GERAL .....	14
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	14
3. REVISÃO DE LITERATURA.....	15
3.1 CICLO ESTRAL DAS ÉGUAS.....	15
3.2 GESTAÇÃO DAS ÉGUAS.....	16
3.3 O PARTO .....	17
3.4 LÍQUIDO PERITONEAL E SUAS CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS E CITOLÓGICAS.....	18
4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	23
CAPITULO I: INFLUÊNCIA DA GESTAÇÃO NA DINÂMICA DAS CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS E CELULARES DO LÍQUIDO PERITONEAL EM ÉGUAS DA RAÇA PÔNEI.....	28
1. INTRODUÇÃO .....	28
2. MATERIAL E MÉTODOS .....	29
2.1 CONSIDERAÇÕES ÉTICAS .....	29
2.2 PERÍODO E LOCAL DE ESTUDO .....	29
2.3 SELEÇÃO DOS ANIMAIS .....	30
2.4 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL .....	30
2.5 COLHEITA E PROCESSAMENTO DAS AMOSTRAS .....	33
2.6 COLETA E ANÁLISE DOS DADOS .....	34
3. RESULTADOS .....	35
4. DISCUSSÃO .....	47
5. CONCLUSÃO.....	53
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	53
ANEXOS .....	58

## 1. INTRODUÇÃO

A população mundial de equinos (*Equus caballus*) é estimada em 58 milhões de animais e no Brasil essa população ultrapassa os 5 milhões de equinos. Destes, aproximadamente 27 mil são da raça Pônei Brasileiro (BRASIL, 2016). A raça Pônei Brasileiro foi desenvolvida na região Sul do Brasil, após cruzamentos de pôneis da raça “*Shetland*” da Escócia com pôneis “*Falabella*” da Argentina (QUIRINO et al., 2012).

Os pôneis, em geral, possuem um temperamento dócil e, por isso, são bastante utilizados em diversas atividades como equoterapia, iniciação de crianças na prática equestre, e em exposições ou feiras agropecuárias (BARTHOLAZZI JUNIOR, 2015). A baixa estatura é a principal característica dessa raça, onde o desejável é que a altura de cernelha não ultrapasse 100 cm para os machos e 110 cm para as fêmeas, sendo a estatura ideal 90 cm (QUIRINO et al., 2012).

Os pôneis com baixa estatura são os mais valorizados no mercado, e para produzi-los, criadores têm selecionado animais cada vez menores e com um elevado grau de consanguinidade, gerando um aumento dos casos de distocia e anomalias genéticas (BRESCIANI et al., 2001 e SCHMITT et al., 2017). A distocia ocorre quando o trabalho de parto é anormal ou difícil (FRAZER, 2004), tendo como possíveis causas:

- Distocia materna: quando a mãe apresenta, por exemplo, dificuldade na contração uterina ou alguma anomalia pélvica, hérnia abdominal, ou mesmo torção uterina;
- Distocia fetal: ocorre quando o feto não está corretamente posicionado no momento do parto ou quando o feto apresenta alguma anomalia genética, resultando em estruturas corpóreas desproporcionais ou quando o feto é relativamente grande em relação ao porte da mãe.

As distocias são emergências obstétricas que põem em risco não só a vida do potro como também a da mãe. Pode ainda, resultar em lesões e lacerações graves no útero, canal vaginal e reto e são responsáveis por 20% das mortes fetais (HAAS et al., 1996).

Os partos distócicos mais frequentes na raça pônei estão relacionados ao feto, sobretudo quando ocorre casos de hidrocefalia fetal (FRAZER, 2004; SHIMITT et al., 2017).

Assim, como os demais equinos, as éguas gestantes também são suscetíveis a desenvolverem distúrbios gastrointestinais. Eventualmente, o trabalho de parto distócico ou mesmo eutócico pode ser confundido com quadro de síndrome cólica (SANTSCHI, 2009). Embora seja pouco frequente, a torção uterina ocorre em éguas prenhas, sendo essa uma causa bastante confundida com cólica. (SANTSCHI, 2009).

Quando se trata de síndrome cólica, o fator tempo é determinante para a recuperação do animal, sendo imperativo prestar um pronto atendimento, distinguindo os casos clínicos dos casos cirúrgicos. Por essa razão, em éguas gestantes, dependendo do período gestacional e da gravidade do distúrbio, há eminente risco de vida não apenas para a progenitora, mas também para o potro. Em estudo realizado por Boening e Leendertse (1993) com éguas gestantes acometidas por síndrome cólica, foi observado que aproximadamente 74% sobreviveram, sendo a taxa de aborto de 10% para as éguas submetidas ao tratamento clínico e 20% para aquelas submetidas ao tratamento cirúrgico.

O exame de palpação retal auxilia no diagnóstico e no acompanhamento do quadro clínico dos animais acometidos por cólica. Entretanto, à medida que a gestação progride e o útero aumenta de tamanho, ocorre uma acomodação das alças intestinais e um aumento na pressão intra-abdominal. Portanto, o acesso às alças fica bastante prejudicado, inviabilizando, muitas vezes, a realização desse procedimento. Outro exame que auxilia bastante o médico veterinário no diagnóstico da cólica equina é a avaliação físico-química e citológica do líquido peritoneal (LP), onde é possível detectar algumas alterações que ocorrem na cavidade abdominal (LHAMAS et al., 2014). Diante das dificuldades que o médico veterinário encontra ao se deparar com uma égua gestante acometida por síndrome cólica, a avaliação do LP torna-se primordial (BRESCIANI et al., 2001; FRAZER et al., 1997). Com o aumento do útero e a acomodação das alças intestinais, ocorre um aumento na concentração das proteínas e na celularidade do líquido peritoneal (FRAZER, 2004; PESCADOR et al., 2004). Esse aumento deve ser diferenciado de uma patologia gastrointestinal por se tratar de alterações fisiológicas advindas da gestação.

Neste contexto, é importante analisar as características físico-químicas e citológicas do líquido peritoneal de éguas ao longo da gestação, visando compreender

as possíveis alterações que possam ocorrer, sistemicamente ou intra-abdominal, em decorrência do desenvolvimento fetal e distingui-las das alterações relacionadas aos processos patológicos.

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1 OBJETIVO GERAL**

Avaliar o comportamento físico-químico e citológico dos componentes do líquido peritoneal (LP) ao longo do período gestacional de éguas pôneis.

### **2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Realizar a avaliação física das amostras de LP classificando-as quanto a cor e aspecto.
- Quantificar e comparar as médias das densidades e das proteínas do LP aferidas por refratometria de acordo com a fase gestacional.
- Quantificar e comparar as médias das proteínas do LP mensuradas pelo método de biureto, albumina e globulinas de acordo com a fase gestacional.
- Quantificar e comparar as médias das contagens de células nucleadas totais do LP de acordo com a fase gestacional.
- Realizar avaliação citológica com a identificação e quantificação relativa e absoluta das células presentes no líquido peritoneal de acordo com a fase gestacional.
- Correlacionar as médias das concentrações das proteínas presentes no LP aferidas por refratometria com as médias das concentrações das proteínas do LP mensuradas pelo método de biureto.

### 3. REVISÃO DE LITERATURA

#### 3.1 CICLO ESTRAL DAS ÉGUAS

As éguas são consideradas poliéstricas sazonais, atingindo a puberdade por volta dos 18 meses de vida, quando iniciam sua fase reprodutiva (HAFEZ e HAFEZ, 2004; ROMANO et al., 1998). O ciclo estral das éguas é estimulado principalmente pelo aumento da luminosidade (fotoperíodo positivo), além do estado nutricional e de saúde (STABENFELDT e EDQVIST, 1996). A estação de monta ocorre durante a primavera e verão, onde a luminosidade é maior, conseqüentemente, a atividade ovariana é plena e cíclica. Porém, existe a possibilidade das éguas ciclarem o ano inteiro, em especial aquelas bem nutridas, que permanecem estabuladas e com período fixo de 15 horas de luz por dia (HAFEZ e HAFEZ, 2004). Entretanto, o cio que ocorre fora da estação de monta ou imediatamente ao seu início, geralmente não vem acompanhado de ovulação, já que o pico do hormônio luteinizante (LH) é insuficiente para romper o folículo, formando um folículo hemorrágico e anovulatório (HAFEZ e HAFEZ, 2004).

O ciclo estral das éguas dura em média 21 dias, podendo haver no primeiro ciclo pós anestro, uma pequena variação nesse tempo. Em geral, está dividido em 14 dias de diestro (fase luteínica) e 7 dias de cio (fase estrogênica). Na fase estrogênica a égua fica mais receptiva sexualmente e com a ovulação ocorrendo entre 24 - 48 horas antes do término do cio (HAFEZ e HAFEZ, 2004; ROMANO et al., 1998; STABENFELDT e EDQVIST, 1996).

Uma vez atingida a puberdade e com o aumento do fotoperíodo, ocorre uma diminuição na produção da melatonina pela glândula pineal. Com isso, o hipotálamo aumenta a produção do hormônio liberador de gonadotropina (GnRH) que, por sua vez, estimula a hipófise a produzir o hormônio folículo-estimulante (FSH) e LH. O aumento na concentração do FSH estimula a multiplicação das células da granulosa, propiciando o crescimento dos folículos ovarianos. Essas células secretam o hormônio estrogênio, que além de provocar os sinais de cio, estimula a hipófise a liberar o LH; que acarretará a ovulação após o rompimento do folículo. Após a ovulação, forma-se

o corpo lúteo (CL) no ovário, que secretará progesterona, iniciando a fase luteínica (HAFEZ e HAFEZ, 2004; STABENFELDT e EDQVIST, 1996). Caso o óvulo não seja fecundado, o útero secretará a prostaglandina F<sub>2</sub>α (PGF<sub>2</sub>α) que promoverá a regressão do CL (STABENFELDT e EDQVIST, 1996).

### 3.2 GESTAÇÃO DAS ÉGUAS

O período gestacional das éguas inicia-se após a fecundação e termina com o parto. Tem duração média de 335 dias, variando de 315 a 360 dias (JAINUDEEN e HAFEZ, 2004). A duração da gestação pode variar de acordo com o tamanho da mãe e do feto, raça, momento da concepção em relação ao período da estação de monta, sexo do feto e estado nutricional da égua (HAFEZ e HAFEZ, 2004; SILVA e OLIVEIRA, 2015).

Após a fecundação, o CL secreta progesterona que é importante para a manutenção inicial da gestação. Normalmente, na égua não gestante, o CL dura 14 dias. Porém, com a formação do blastocisto (vesícula embrionária) e seu deslocamento pelo corno uterino, ocorre uma inibição na síntese e liberação pulsátil da PGF<sub>2</sub>α pelo endométrio, prolongando a fase luteínica por aproximadamente 40 dias pelo CL (STABENFELDT e EDQVIST, 1996). Com aproximadamente 40 dias de gestação, as células trofoblásticas (que originarão a placenta) secretam a gonadotrofina coriônica equina (eCG), que é o hormônio de reconhecimento materno da gestação. Este estimulará a luteinização dos folículos secundários que, por sua vez, produzirão a progesterona até 150º dia de gestação (JAINUDEEN e HAFEZ, 2004).

A placenta das éguas é classificada como difusa, microcotiledonária e com barreira materno-fetal do tipo epiteliocorial. Ela começa a se formar a partir da fusão das membranas fetais (dentre as membranas, as células trofoblásticas) com o endométrio, por volta dos 40 dias, quando começa a secretar eCG. Com 75 a 110 dias de gestação forma-se a junção microcotiledonária. A partir do 150º dia de gestação, a placenta passa a ser a principal responsável pela secreção de progesterona, uma vez que os folículos secundários vão diminuindo gradativamente a sua produção até degenerarem com 180 dias (JAINUDEEN e HAFEZ, 2004; SAMUEL et al., 1976;

STABENFELDT e EDQVIST, 1996). A circulação sanguínea do tipo epiteliocoreal não permite que o sangue materno se misture com o sangue fetal. Desta forma, a nutrição do feto ocorre por difusão placentária. Ademais, a placenta equina possui seis camadas teciduais, compostas por: endotélio materno, tecido conjuntivo uterino, epitélio uterino, epitélio coriônico, tecido conjuntivo fetal e endotélio fetal, que formam a barreira transplacentária que impede a passagem de anticorpos (HAFEZ e HAFEZ, 2004; JAINUDEEN e HAFEZ, 2004; SAMUEL et al., 1976).

### 3.3 O PARTO

O parto é processo fisiológico onde o útero gestante, através da contração do miométrio e dilatação da cérvix, promove a expulsão do feto e da placenta (HAFEZ e HAFEZ, 2004). Esse mecanismo ocorre por uma série de eventos endócrinos, neurais e mecânicos, iniciando-se com a maturação fetal, que por sua vez induz mecanismos na mãe, resultando no parto (JAINUDEEN e HAFEZ, 2004).

Durante toda a gestação, o útero encontra-se quiescente, ou seja, o miométrio não se contrai, ficando relaxado. Essa característica se dá pela ativação do eixo Adrenal-Hipófise-Hipotalâmico fetal, que inicialmente produz a pregnenolona (hormônio esteroide) levando a um aumento na produção de progesterona pelos tecidos uteroplacentários. A progesterona, por sua vez, promove o bloqueio da contração do miométrio durante esse período (THORBURN, 1993).

Com o aumento da demanda metabólica do feto, sobretudo no terço final da gestação, ocorre um aumento da produção da prostaglandina E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>) que estimulará o eixo Adrenal-Hipófise-Hipotalâmico fetal a liberar o hormônio adrenocorticotrófico (ACTH). O ACTH atua nas adrenais fetais liberando cortisol. Além de promover a maturação fetal, o cortisol provoca uma diminuição dos níveis de progesterona e aumento dos níveis de PGF<sub>2</sub> $\alpha$  (aumentando a atividade contrátil do miométrio) e estrogênio (17- $\beta$  Estradiol). Em altas concentrações, o estrogênio promove a ativação dos receptores uterinos para ocitocina (FOWDEN et al., 2008; JAINUDEEN e HAFEZ, 2004; THORBURN, 1993).

O trabalho de parto das éguas normalmente ocorre no período da noite e, de acordo com Jainudeen e Hafez (2004), pode ser didaticamente dividido em três estágios:

Estágio I – dilatação da cérvix resultante das contrações uterinas com duração entre 1 a 4 horas.

Estágio II – expulsão do feto que ocorre com as fortes contrações uterinas e abdominais. Nesse estágio ocorre o reflexo neuro-humoral (reflexo de Ferguson) desencadeado pela distensão da cérvix e vagina pelo feto, resultando na liberação de ocitocina que acentuará as contrações uterinas. Esse estágio normalmente possui duração de 12 a 30 minutos. O cordão umbilical se rompe com o movimento da mãe ou do recém-nascido.

Estágio III – expulsão da placenta. Ocorre após o nascimento, quando as contrações uterinas diminuem sua amplitude. Esse estágio dura em média 1 hora.

### 3.4 LÍQUIDO PERITONEAL E SUAS CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS E CITOLÓGICAS.

O líquido peritoneal está presente na cavidade abdominal e tem como funções: a lubrificação das alças intestinais, minimizando o atrito entre elas; realizar atividade fibrinolítica, inibindo a formação de aderências; e promover a defesa através das células fagocitárias (MENDES et al., 2000; PERONI, 2009). O LP consiste em um ultrafiltrado do sangue que, ao passar pela camada de células mesoteliais e a fina lâmina basal do peritônio, resulta em um fluido com baixa celularidade, inferior a 5000 cél/ $\mu$ L e baixa concentração proteica, menor que 2,5 g/dL (LHAMAS et al., 2014). Entretanto, o valor de pH e concentração de eletrólitos são semelhantes ao plasma sanguíneo (DEHEER et al., 2002). Sua drenagem é feita pelos ductos linfáticos no diafragma onde ocorre a limpeza peritoneal com remoção de debris celulares (MENDES et al., 2000).

A colheita do líquido peritoneal é feita por abdominocentese que é um procedimento simples e seguro para o paciente. Tal procedimento é realizado rotineiramente na clínica de equinos em animais que apresentam algum sinal de desconforto abdominal, perda de peso ou alguma outra morbidade envolvendo a

cavidade abdominal (DUESTERDIECK-ZELLMER et al., 2014). Deve ser realizado por médicos veterinários, respeitando-se as técnicas de assepsia e utilizando materiais adequados (MACORIS, 1995). Pode ser colhido com o auxílio de agulha hipodérmica ou cânula mamária (SPEIRS, 1999<sub>a</sub>). A análise do LP fornece informações relevantes, uma vez que reflete as condições presentes na superfície mesotelial da cavidade abdominal (BACCARIN et al., 1995; MACORIS, 1995). O estudo de suas características físico-químicas tem papel importante e indispensável na avaliação de equinos com patologias abdominais (MALARK et al., 1992).

O líquido peritoneal normal possui coloração amarelo-palha, aspecto límpido e é inodoro (DEHEER et al., 2002). Em equinos adultos hígidos, o volume de líquido peritoneal na cavidade abdominal pode variar de 100 a 300 mL, sendo influenciado pelo estado nutricional e grau de hidratação do animal (DEHEER et al., 2002; MENDES et al., 2000). Normalmente, a quantidade de fluido peritoneal produzido por um cavalo adulto, por dia, é de 50 a 60 mL/ Kg (DEHEER et al., 2002).

Na avaliação física do líquido peritoneal são determinados os parâmetros cor e aspecto. Animais hígidos apresentam um LP com coloração amarelo palha, podendo apresentar coloração amarelo intenso (BARRELET, 1993<sub>a</sub>; DEHEER et al., 2002). Coloração avermelhada ou serosanguinolenta pode indicar sofrimento de alça por comprometimento vascular ou desvitalização tecidual ou mesmo contaminação por sangue durante a coleta. Já a coloração acastanhada ou verde, indica ruptura ou punção de alça intestinal (BARRELET, 1993<sub>a</sub>; MACORIS, 1995).

O aspecto do líquido peritoneal deve ser límpido, translúcido, porém o aumento na celularidade (leucócitos ou eritrócitos) e ou proteínas (maior que 2,5 g/dL) o tornam turvo (ROWE e WHITE, 2009). Valores superiores a 2,5 g/dL de proteína total no LP podem ser provocados por um aumento na permeabilidade vascular das vísceras abdominais, resultado de uma inflamação intra-abdominal ou sofrimento de alça intestinal (MACORIS, 1995).

Na avaliação química do LP podem ser mensurados os valores de pH, glicose, proteínas, fosfatase alcalina, lactato e inúmeras outras variáveis.

A densidade do líquido peritoneal em equinos adultos e sadios varia de 1.008 a 1.012 (SPEIRS, 1999<sub>b</sub>). Está relacionado com a quantidade de solutos dissolvidos no líquido, tais como proteínas, glicose, ureia e bilirrubina (DEHEER et al., 2002).

A concentração de proteína no LP pode ser determinada por refratometria ou por espectrofotometria em bancada pelo método de biureto. Em equinos sadios, a

concentração de proteína deve ser inferior a 2,5g/dL. Um aumento na concentração proteica no LP pode ocorrer em função de um aumento na permeabilidade vascular de vísceras ou do peritônio, decorrente de uma isquemia de alça intestinal, ou em processo inflamatório intra-abdominal como a peritonite (DEHEER et al., 2002; MACORIS, 1995; ROWE e WHITE, 2009).

A albumina é a proteína mais abundante no plasma, sendo produzida pelo fígado. Tem como função transportar substâncias e manter a pressão oncótica no interior dos vasos sanguíneos (KANEKO, 1997). Fatores como baixo estado nutricional do animal alteram a concentração plasmática de albumina, resultando na diminuição de sua concentração. Por outro lado, a desidratação aumentará a concentração plasmática de albumina (YANAKA, 2013). A gestação e a lactação também podem diminuir a concentração de albumina no plasma, porém as globulinas das gestantes podem aumentar (KANEKO, 1997).

As globulinas estão presentes tanto no plasma quanto no líquido peritoneal e junto com a albumina e o fibrinogênio, constituem as proteínas plasmáticas totais (KANEKO, 1997). É um grupo diversificado de proteínas e são classificadas em alfa ( $\alpha$ ), beta ( $\beta$ ) e gama ( $\gamma$ ) globulinas. Possuem funções de proteínas transportadoras e imunológicas, como anticorpos (imunoglobulinas) e proteínas de fase aguda (BAZZANO et al., 2016, KANEKO, 1997).

O fibrinogênio no líquido peritoneal possui baixa concentração ( $< 50\text{mg/dL}$ ). Portanto, essa concentração é insuficiente para a coagulação do LP (DEHEER et al., 2002). As altas concentrações de fibrinogênio do LP ( $>200\text{mg/dL}$ ) geralmente está associado à diminuição na concentração de glicose e pH ( $< 7,3$ ), indicando a existência de uma peritonite séptica (ROWE e WHITE, 2009). O fibrinogênio pode ser mensurado através do método de precipitação pelo calor ou colorimétrico (DE SOUZA et al., 2006). No entanto, apesar de simples e de fácil execução, o método de precipitação pelo calor não demonstrou ser muito sensível em amostras com baixas concentrações de fibrinogênio (DEHEER et al., 2002).

Na avaliação citológica do líquido peritoneal, realiza-se a contagem celular total e diferencial das células inflamatórias (MACORIS, 1995). Para isso, a amostra deve ser coletada em frasco contendo anticoagulante ácido etilenodiaminotetracético (EDTA). A contagem total pode ser feita em aparelho hematológico automatizado ou manualmente, em câmara de Neubauer (BARRELET, 1993a; DEHEER et al., 2002; SPEIRS, 1999a).

De um modo geral, as hemácias estão ausentes ou em quantidade insignificante no líquido peritoneal de equinos hígdos. Quando está presente, pode ter ocorrido em função de contaminação iatrogênica por punção de baço, lesão vascular em alguma víscera abdominal puncionada ou contaminação com sangue de vasos de pele ou musculatura (MENDES et al., 2000; SPEIRS, 1999<sub>b</sub>).

As células nucleadas totais no líquido peritoneal são compostas por neutrófilos, células mononucleares (células mesoteliais, monócitos/macrófagos), linfócitos, eosinófilos e basófilos (mastócitos). Animais sadios possuem uma contagem total inferior a 5000/ $\mu$ L células no LP (DEHEER et al., 2002). Os neutrófilos são as células mais frequentes no líquido peritoneal e são responsáveis pela defesa celular primária contra microrganismos. As células mesoteliais revestem a superfície visceral e parietal dos órgãos e estruturas abdominais e descamam normalmente para o LP (BARRELET, 1993<sub>b</sub>; DEHEER et al., 2002). Também é comum a presença de macrófagos no líquido peritoneal, que são oriundos dos monócitos presentes na corrente sanguínea. Assim como segmentados, os macrófagos atuam fazendo a fagocitose de microrganismos que ocasionalmente possam estar presentes na cavidade abdominal, sendo fundamentais no mecanismo de defesa do animal (BARRELET, 1993<sub>b</sub>). Já os linfócitos, eosinófilos e os mastócitos são menos frequentes no LP. Os linfócitos são encontrados em pequenas quantidades, independente se o líquido procede de um animal saudável ou acometido de algum processo inflamatório. Animais que possuem mais de 5% de eosinófilos na citologia do LP podem ter apresentado alguma migração parasitária (BARRELET, 1993<sub>b</sub> e LHAMAS et al., 2014).

Na avaliação citológica, o líquido peritoneal pode ser classificado em transudato, transudato modificado ou exsudato. Essa classificação é feita de acordo com a concentração de proteína total e a contagem de células nucleadas (DEHEER et al., 2002; SPEIRS, 1999<sub>b</sub>).

- Transudato: possui valores de proteína inferiores a 2,5 g/dL (frequentemente <1,5 g/dL) e contagem total de células nucleadas menores que 5.000/ $\mu$ L (frequentemente menores que 1.500/ $\mu$ L). O líquido peritoneal normal é enquadrado nessa categoria, apresentando um predomínio de neutrófilos não degenerados e células mesoteliais;
- Transudato modificado: a concentração de proteína varia de 2,5 a 3,5 g/dL e a contagem total de células nucleadas de 1.500–10.000/ $\mu$ L. Geralmente, está

relacionado a algum distúrbio hemodinâmico sistêmico ou localizado, como obstrução do fluxo venoso ou linfático, ou doença inespecífica. A coloração do líquido pode variar de amarelo âmbar ao vermelho ou ao branco com predomínio de neutrófilos não degenerados;

- Exsudato: consiste em uma efusão com alto valor de proteína (> 3.0–3.5 g/dL) e contagem total de células nucleadas superiores a 10.000/ $\mu$ L. Pode haver um predomínio de neutrófilos degenerados e presença de bactérias em casos sépticos.

Diversos estudos feitos com animais acometidos por síndrome cólica ou experimentalmente induzidos, avaliaram as características físico, químicas e celulares do líquido peritoneal e comprovaram alterações em sua composição (BACCARIN et al., 1995, BACH e RICKETTS, 1974; DI FILIPPO et al., 2012; FALEIROS et al., 2011; LATSON et al., 2005; PELOSO e COHEN, 2012). Diante das alterações observadas na avaliação do LP, conforme descrito em muitos desses estudos, o médico veterinário tem condições de chegar a um diagnóstico e ou prognóstico para cada caso. Portanto, poderá traçar a melhor conduta ao paciente acometido por alguma afecção com sede na cavidade abdominal, como por exemplo, abdome agudo ou peritonite (BARRELET, 1993, VALADÃO et al., 2004).

Por outro lado, alguns estudos realizados com éguas gestantes saudáveis, sobretudo no período puerperal, cujo parto transcorreu sem alterações, comprovaram que todos os parâmetros analisados estavam dentro da faixa de normalidade preconizado para a espécie. O mesmo não foi observado nos casos em que houve complicações durante o parto, como laceração de útero, ligamento largo ou canal vaginal, lesão na artéria uterina média. Nesses casos, parâmetros como coloração, concentração de proteína e contagem de células nucleadas ficaram alterados e acima dos valores de referência (DASCANIO, 2014; FRAZER et al., 1997; VAN HOOGMOED et al., 1996).

#### 4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BACCARIN, R.Y.A.; THOMASSIAN, A.; NICOLETTI, J.L.M.; GANDOLFI, W.; HUSSNI, C.A.; LOPES, R.S. Alterações do líquido peritoneal em equinos com desconforto abdominal e suas relações com o tipo de lesão implantada e evolução após tratamento médico ou cirúrgico: análise de 74 casos. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 32, n. 4, p. 256-265, 1995.

BACH, L.G.; RICKETTS, S.W. Paracentesis as an aid to the diagnosis of abdominal disease in the horse. **Equine veterinary journal**, v. 6, n. 3, p. 116-121, 1974.

BARTHOLAZZI JUNIOR, A. **Medidas lineares e análise de polimorfismos nos genes Icorl e lasp1 e suas associações com a altura de equinos da raça pônei brasileiro**. Dissertação de Mestrado Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal – Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Campos dos Goytacazes– RJ. 2015.

BARRELET, A. Peritoneal fluid: Part I - Laboratory analyses. **Equine Veterinary Education**, v. 5, n. 2, p. 81-83, 1993a.

BARRELET, A. Peritoneal fluid: Part II - Cytological examination **Equine Veterinary Education**, v. 5, n. 3, p. 126- 128, 1993b.

BAZZANO, M., GIUDICE, E., FAZIO, F., ARFUSO, F., GIANNETTO, C., PICCIONE, G. Serum protein electrophoresis profile during late pregnancy and early post-partum period in mares. **Animal Science Papers and Reports**, v. 34, n. 1, p. 53-60, 2016.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Mobilidade Social, do Produtor Rural e do Cooperativismo - **Revisão do Estudo do Complexo do Agronegócio do cavalo**. Brasília, DF, 2016.

BRESCIANI, K.D.S.; TONIOLLO, G.H.; VICENTE, W. R. R.; LEZIER, D. H. Ocorrência de distocia em fêmea “miniature horse”. **ARS VETERINARIA**, v. 17, n. 1, p. 28-31, 2001.

BOENING, K. J., LEENDERTSE, I.D.A.P. Review of 115 cases of colic in the pregnant mare. **Equine veterinary journal**, v. 25, n. 6, p. 518-521, 1993.

DASCANIO, J.J. Abdominocentesis in the Postpartum Mare. IN John Dascanio and Patrick McCue **Equine Reproductive Procedures** first edition, Wiley & Blackwell Publishing, Ames, Iowa, USA, Chapter 94 p. 312-313, 2014. ISBN 9780470960394 e-book.

DEHEER, H.L., BRUCE W., PARRY, B.W., GRINDEM, C.B. Peritoneal fluid. IN COWELL, R.L. e TYLER, R.D. **Diagnostic Cytology and Hematology of the Horse**, 2th ed. Missouri - St Louis, Mosby Inc, chapter 9, p.127-162, 2002, E-Book. ISBN 0-323-01317-1.

DE SOUZA, M.V., RODRIGUES, B.L., RIBEIRO JÚNIOR, J.I., CORDEIRO, R.R. Concentração do fibrinogênio no plasma sanguíneo de equinos da raça Mangalarga marchador por diferentes métodos. **Revista Ceres**, v. 53, n. 307, 2006.

DI FILIPPO, P.A.; ALVES, A.E.; HERMETO, L.C.; SANTANA, A.E. indicadores bioquímicos séricos e do líquido peritoneal de equinos submetidos à obstrução intestinal. **Ciência Animal Brasileira**, v.13, n.4, p. 504-511, 2012.

DUESTERDIECK-ZELLMER, K. F., RIEHL, J. H., MCKENZIE, E. C., FIRSHMAN, A. M., PAYTON, M. E., GORMAN, M. E. Effects of abdominocentesis technique on peritoneal fluid and clinical variables in horses. **Equine Veterinary Education**, v. 26, n. 5, p. 262-268, 2014.

FALEIROS, R.R., MACORIS, D.G., SAQUETTI, C.H.C., AITA, A.C., FARIAS, A., MALHEIROS, E.B., SAMPAIO, I. Peritoneal fluid changes in horses subjected to small colon distension. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 31, n. 5, p. 367-373, 2011.

FOWDEN, A. L.; FORHEAD, A. J.; OUSEY, J. C. The endocrinology of equine parturition. **Experimental and clinical endocrinology & diabetes**, v. 116, n. 07, p. 393-403, 2008.

FRAZER, G.; BURBA, D.; PACCAMONTI, D.;BLOUIN, D.; LEBLANC, M.; EMBERTSON, R.; HANCE, S. The effects of parturition and peripartum complications on the peritoneal fluid composition of mares. **Theriogenology**, v. 48, n. 6, p. 919-931, 1997.

FRAZER, G.S.; PERKINS, N.R.; EMBERTSON, R.M. Normal parturition and evaluation of the mare in dystocia. **Equine Veterinary Education**, v. 11, n. 1, p. 41-46, 1999.

FRAZER, G.S. Dystocia and fetotomy. IN SAMPER, J.C.; PYCOCK, J.F.; MCKINNON, A.O.C **Current Therapy in Equine Reproduction**, Missouri - St Louis, Saunders, chapter 59, p.417-434, 2007, E-Book. ISBN 10: 0-7216-0252-5.

HAFEZ, E.S.E. e HAFEZ, B. Equinos. In: \_\_\_\_\_ **Reprodução Animal**.7ª ed. Barueri – SP, Editora Manole, Cap. 14 p.193-218, 2004.

HAAS, S.D.; BRISTOL, F.; CARD, C.E. Risk factors associated with the incidence of foal mortality in an extensively managed mare herd. **The Canadian Veterinary Journal**, v. 37, n. 2, p. 91, 1996.

JAINUDEEN, M.R. e HAFEZ, E.S.E. Gestação, fisiologia pré-natal e parto. In: \_\_\_\_\_; HAFEZ, B. **Reprodução Animal**. 7ª ed. Barueri - SP: Editora Manole, Cap. 10 p.141-155, 2004.

KANEKO, J.J. Serum proteins and the dysproteinemias. In \_\_\_\_\_; HARVEY, J.W.; BROSS, H.L. **Clinical Biochemistry of Domestic Animals** 5<sup>th</sup> ed. San Diego: Academic Press, cap.5 p.117-138, 1997.

LATSON, K.M., NIETO, J.E., BELDOMENICO, P.M., SNYDER, J.R. Evaluation of peritoneal fluid lactate as a marker of intestinal ischaemia in equine colic. **Equine veterinary journal**, v. 37, n. 4, p. 342-346, 2005.

LHAMAS, C. L., FREITAS, G.S.R., DUARTE, C.A., HIESEN, R. Avaliação do líquido peritoneal de equinos. **Ciência Animal**, v. 24, n. 2, p. 3-12, 2014.

MACORIS, D.G. Importância da avaliação do líquido peritoneal no diagnóstico e prognóstico da cólica. **II Ciclo Internacional de Cólica Equina**, Anais, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinária – UNESP Jaboticabal, 1995 p. 21 -23.

MALARK, J.A., PAYTON, L.C., GALVIN, M.J. Effects of blood contamination on equine peritoneal fluid analysis. **J. Am. Vet. Med. Assoc.**, v.201, n.10, p.1545-1556, 1992.

MENDES, L.C.N., PEIRÓ, J. R., MARQUES, L. C., BORGES, A. S. Avaliação laboratorial do fluido peritoneal em modelos experimentais utilizados para indução de reação inflamatória intra-abdominal em equinos. **Revista de Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 3, n. 3, p. 21-27, 2000.

PELOSO, J.G.; COHEN, N.D. Use of serial measurements of peritoneal fluid lactate concentration to identify strangulating intestinal lesions in referred horses with signs of colic. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 240, n. 10, p. 1208-1217, 2012.

PERONI, J.F. Pathophysiology of peritonitis. IN: WHITE, N.A., MOORE, J.N. e MAIR, T.S. **The Equine Acute Abdomen**. Jackson – WY, Teton New Media. Chapter 8 p. 145 – 149, 2009, e-book, ISBN 13: 978-1-4822-4114-3.

PESCADOR, C. A., CORBELLINI, L.G., LORETTI, A.P., WUNDER JÚNIOR, E., FRANTZ F.J., DRIEMEIER, D. Aborto equino por *Leptospira* sp. **Ciência Rural**, v. 34, n. 1, p. 271-274, 2004.

QUIRINO, C.R., MATOS, L.F., BARTHOLAZZI, J.A., CASTRO, T.D., SILVA, R.C., SILVA, J.L.L. Caracterização de pôneis da raça brasileira através de medidas lineares. **Actas Iberoamericanas de Conservación Animal**, v. 2, p. 71-74, 2012.

ROMANO, M.A., MUCCIOLO, R.G., SILVA, A.E.D.F.I. Reproductive biology of the mare: oestrous cycle and ovulation time. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 35, n. 1, p. 25-28, 1998.

ROWE, E.L., WHITE, N.A. Diagnosis of gastrointestinal disease. IN: WHITE, N.A., MOORE, J.N. e MAIR, T.S. **The Equine Acute Abdomen**. Jackson – WY, Teton New Media. Chapter 15 p. 235 – 287, 2009, e-book, ISBN 13: 978-1-4822-4114-3.

SAMUEL, C.A.; ALLEN, W.R.; STEVEN, D.H. Studies on the equine placenta II. Ultrastructure of the placental barrier. **Journal of reproduction and fertility**, v. 48, n. 2, p. 257-264, 1976.

SANTSCHI, E.M., SLONE, D.E., GRONWALL, R., JUZWIAK, J.S., MOLL, H.D. Types of colic and frequency of post colic abortion in pregnant mares: 105 cases (1984-1988). **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 199, n. 3, p. 374-377, 1991.

SANTSCHI, E.M. Colic and Pregnancy. IN: WHITE, N.A., MOORE, J.N. e MAIR, T.S. **The Equine Acute Abdomen**. Jackson – WY, Teton New Media. Chapter 41 p. 677 – 686, 2009, ISBN 13: 978-1-4822-4114-3 e-book.

SCHMITT, C.I.; STRACK, L; SAMPAIO, A.B.; BULLYNG, C.S.; CARDONA, R.O. Distocia em égua pônei (mini horse) – relato de caso. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, v. 28, p. 01-09, 2017.

SILVA, A. B.; OLIVEIRA, R. A. Como prever o parto na espécie equina? **R. Bras. Reprod. Anim.**, v. 39, n. 4, p. 387-393, 2015.

SPEIRS, V.C. O sistema alimentar. IN \_\_\_\_ **Exame Clínico de Equinos**. Porto Alegre – RS; Editora Artes Médicas Sul Ltda, Cap. 11, p. 269-305, 1999a.

SPEIRS, V.C. Avaliação de amostras pleurais e peritoneais. IN \_\_\_\_ **Exame Clínico de Equinos**. Porto Alegre – RS; Editora Artes Médicas Sul Ltda, Apêndice D, p. 349-351, 1999b.

STABENFELDT, G.H. e EDQVIST, L.E. Processos Reprodutivos na Fêmea In: SWENSON, M.J. e REECE, W.O. **Dukes Fisiologia dos Animais Domésticos** Rio de Janeiro, Editora Guanabara Koogan S.A., cap.36 p. 615 – 644, 1996.

THORBURN, G.D. A speculative review of parturition in the mare. **Equine Vet Journal** v.25 n 14, p.41-49, 1993.

VAN HOOGMOED, L., SNYDER, J.R., CHRISTOPHER, M., VATISTAS, N. Peritoneal fluid analysis in peripartum mares. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 209, n. 7, p. 1280-1282, 1996.

VALADÃO, C.A.A., ZANETI, R.P.; SOUZA, A.H. Características do líquido peritoneal de equinos normais após punção cecal percutânea. **Ciência Rural**, v. 34, n. 6, 2004.

YANAKA, R. **Concentrações sérica e peritoneal de proteínas de fase aguda em equinos submetidos à endotoxemia experimental, tratados ou não com lidocaína**. Tese de Doutorado em Ciência Animal (Fisiopatologia Médica e Cirúrgica). Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal pela Faculdade de Medicina Veterinária – Unesp, Campus de Araçatuba – SP 2013.

# **CAPITULO I: INFLUÊNCIA DA GESTAÇÃO NA DINÂMICA DAS CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS E CELULARES DO LÍQUIDO PERITONEAL EM ÉGUAS DA RAÇA PÔNEI**

## **1. INTRODUÇÃO**

Os pôneis são animais de baixa estatura e de temperamento dócil, bastante utilizados em atividades como equoterapia, iniciação de crianças na prática equestre, e exposições ou feiras agropecuárias (BARTHOLAZZI JUNIOR, 2015). Com valor de mercado mais elevado, os pôneis com baixa estatura são cada vez mais cobiçados e, nesse propósito, criadores têm selecionado animais cada vez menores e com um elevado grau de consanguinidade, resultando num aumento dos casos de distocia e anomalias genéticas (BRESCIANI et al., 2001 e SCHMITT et al., 2017). Os partos distócicos mais frequentes na raça pônei estão relacionados ao feto, sobretudo quando ocorre casos de hidrocefalia fetal (FRAZER et al., 1997; SHIMITT et al., 2017). Além disso, o trabalho de parto distócico ou mesmo o normal, pode ser confundido com quadro de síndrome cólica (SANTSCHI, 2009).

A síndrome cólica é um grave distúrbio com sede principalmente no trato gastrointestinal, sendo uma afecção com alta morbidade e alta mortalidade e, quando não tratada em tempo hábil, leva ao óbito por disfunção de vísceras intra-abdominais (DI FILIPPO et al., 2012; PROUDMAN et al., 2002). Animais com sintomatologia de dor abdominal, frequentemente são submetidos a abdominocentese para avaliação do fluido peritoneal (DASCANIO, 2014). Diversos estudos realizados experimentalmente ou com casuísticas de hospitais veterinários de referência, comprovaram alterações físicas e bioquímicas na composição do líquido peritoneal (LP) de equinos frente à síndrome cólica (BACCARIN et al., 1995, BACH e RICKETTS, 1974; DI FILIPPO et al., 2012; FALEIROS et al., 2011; LATSON et al., 2005; PELOSO e COHEN, 2012). Portanto, é importante identificar os quadros cirúrgicos e encaminhar o animal acometido, o mais breve possível, para os centros de referência, uma vez que o fator tempo pode ser decisivo para sua sobrevivência, além de minimizar complicações pós-operatórias (LATSON et al., 2005; WHITE, 2017).

Além disso, éguas gestantes acometidas por síndrome cólica são extremamente desafiadoras para o clínico, uma vez que complicações potenciais podem afetar não

apenas a genitora, mas também o feto (HOWES et al., 2018). Para isso a avaliação do líquido peritoneal auxilia bastante na tomada de decisão para o tratamento cirúrgico, sobretudo em éguas em avançado estágio gestacional ou em animais jovens, onde o exame de palpação transretal fica comprometido (BACCARIN et al., 1995). Dessa forma, é importante diferenciar as alterações encontradas no LP provocadas pela afecção das alterações fisiológicas advindas da gestação.

Neste contexto, este estudo tem como objetivo realizar uma avaliação do líquido peritoneal e observar possíveis alterações na sua composição que possam ter ocorrido em decorrência do desenvolvimento fetal.

## **2. MATERIAL E MÉTODOS**

### **2.1 CONSIDERAÇÕES ÉTICAS**

O estudo foi submetido e aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Estadual do Norte Fluminense “Darcy Ribeiro” (UENF) sob o protocolo de número 382.

### **2.2 PERÍODO E LOCAL DE ESTUDO**

O experimento ocorreu no período entre junho de 2017 e janeiro de 2019, em duas propriedades rurais localizadas no município de Campos dos Goytacazes, região Norte Fluminense do Estado do Rio de Janeiro.

## 2.3 SELEÇÃO DOS ANIMAIS

Foi realizado um estudo observacional com 31 éguas da raça Pônei Brasileiro, com idade entre 5 e 14 anos e peso médio de 125,5 Kg ( $\pm$  24,5), selecionadas aleatoriamente. Todas se encontravam gestantes no início do estudo e foram copuladas por monta natural.

Os animais eram criados com sistema extensivo em piquetes coletivos, com pastagem predominantemente composta por capim *tifton* (*Cynodon sp.*) e água potável *ad libitum*, além de suplementação de sal mineral<sup>1</sup> em cocho coletivo. Os plantéis eram periodicamente assistidos por médico veterinário que promovia o manejo sanitário regular, vacinando todos os animais anualmente contra tétano, influenza, encefalomielite e rinopneumonia (Herpesvírus tipo 1)<sup>2</sup>, além da vacinação anual contra raiva<sup>3</sup>. Os animais recebiam tratamento anti-helmíntico a base de Abamectina gel<sup>4</sup>, conforme a orientação do médico veterinário responsável, e o controle de ectoparasitas era feito com carrapaticida a base de Piretroide<sup>5</sup>.

## 2.4 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

Os animais foram submetidos às coletas mensais de líquido peritoneal. Como forma de padronizar o intervalo entre as coletas, optou-se por realizá-las na segunda semana de cada mês.

Todos os animais participantes foram submetidos, no momento inicial do estudo, a um exame clínico para avaliação da condição de saúde. Para tanto, foram avaliadas:

- Frequência cardíaca (FC, em bat/min) por meio de auscultação com estetoscópio, durante 1 minuto;
- Frequência respiratória (FR, em mov/min), por meio da contagem do movimento respiratório do gradil costal durante 1 minuto;

---

<sup>1</sup> Coequi Plus, DSM Produtos Nutricionais Brasil S/A, São Paulo-SP, Brasil.

<sup>2</sup> Lexington-8, Venco Saúde Animal, Londrina - PR, Brasil.

<sup>3</sup> RaivaCell Multi, Vallée S/A Produtos Veterinários, Montes Claros-MG, Brasil.

<sup>4</sup> Aba Gel Composto Ourofino Saúde Animal Ltda, Cravinhos – SP, Brasil

<sup>5</sup> Cypermil Pour on - Cipermetrina - Ourofino Saúde Animal Ltda, Cravinhos – SP, Brasil.

- Temperatura retal (TR, em °C) por termometria clínica convencional, durante três minutos;
- Coloração de mucosa oral, sendo classificada em normocorada, hipocorada, hiperacorada e icterica;
- Tempo de perfusão capilar (TPC), por meio da pressão digital na mucosa gengival acima dos dentes incisivos superiores e observação do tempo de enchimento total da mesma;
- Confirmação da gestação pela palpação retal com a identificação do feto.

Nos meses subsequentes, antes da realização das coletas das amostras, as éguas foram submetidas à uma breve avaliação clínica para observação da coloração da mucosa, TPC e TR. Ademais, em todos os momentos de coleta de amostras, os animais foram submetidos a uma inspeção física para verificação da presença de afecções de pele, ectoparasitos, secreção nasal, vaginal, vestígios de diarreia, entre outros problemas.

O estudo foi dividido em duas etapas. Na 1ª etapa, as éguas selecionadas inicialmente (N=31) encontravam-se em diferentes estágios gestacionais. Neste momento, a determinação da fase gestacional foi feita a partir das informações do controle de cobertura fornecidas pelos proprietários. (Figura 1)

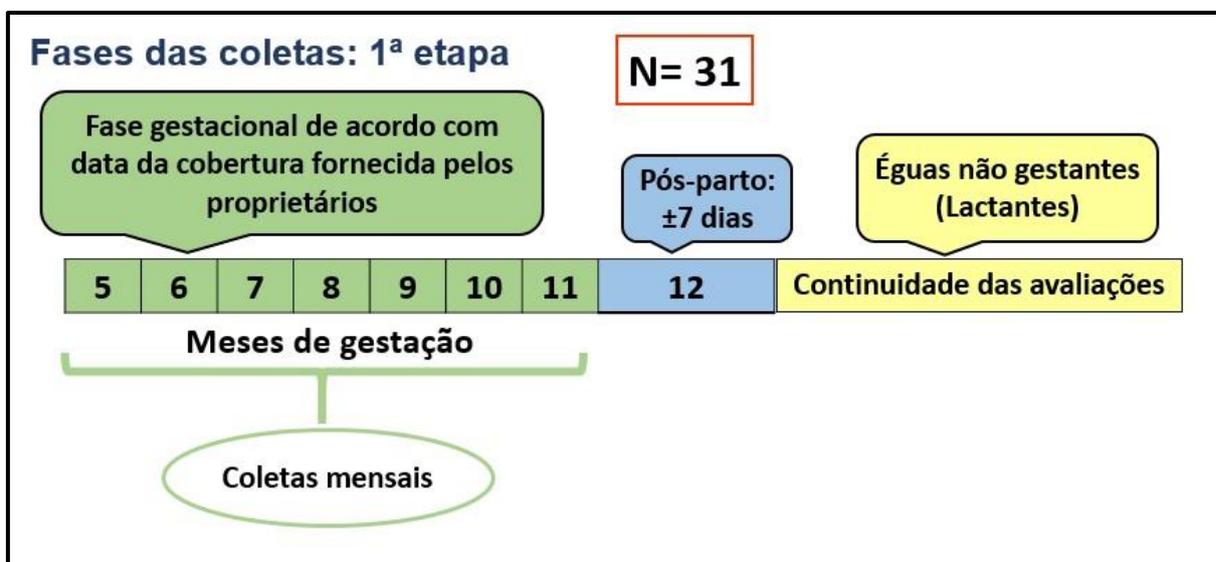


Figura 1. Diagrama das coletas na primeira etapa.

A 2ª etapa do estudo correspondeu à segunda gestação dessas éguas. Elas permaneceram em acompanhamento mensal mesmo após o parto, a fim de diagnosticar uma segunda gestação.

Nesta 2ª etapa foram selecionadas 18 éguas do grupo anterior, que se encontravam lactantes, porém, não gestantes, sendo possível acompanhar a gestação do início ao fim, dentro do período estudado (Figura 1).

As éguas recém copuladas tinham o diagnóstico de gestação confirmado pelo exame de ultrassonografia transretal<sup>6</sup>, com transdutor linear de 5MHz, sendo feita a identificação precoce da vesícula gestacional, que é formada por volta dos 14 dias pós ovulação, conforme descrito por De La Corte et al. (1994). Após a confirmação da prenhez, era iniciada a contagem do período gestacional do primeiro mês ao último mês de gestação (11º mês). O momento não gestante foi considerado o mês imediatamente anterior ao primeiro mês gestacional. Aproximadamente 7 dias depois do parto era realizada uma última coleta denominada pós-parto. Desta forma, o estudo consistiu em 13 momentos de avaliação, conforme Figura 2.

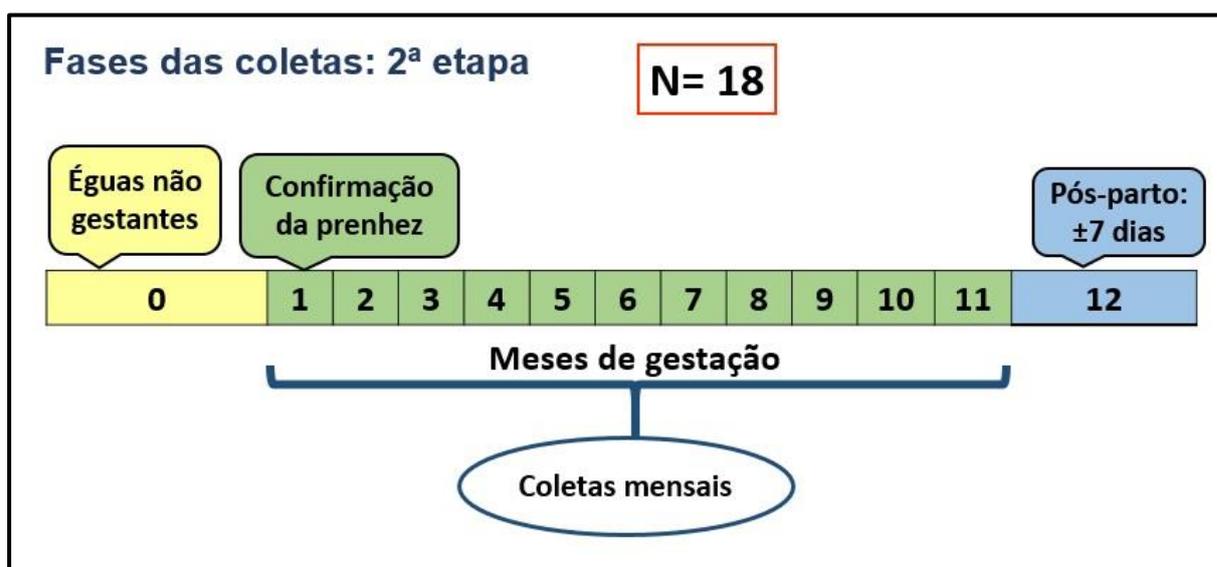


Figura 2. Diagrama das coletas na segunda etapa.

<sup>6</sup> Mindray DP2000, Mindray Medical International Limited, Shenzhen, China.

## 2.5 COLHEITA E PROCESSAMENTO DAS AMOSTRAS

A fim de padronizar os métodos, todas as amostras de líquido peritoneal foram colhidas no período da manhã, nos respectivos momentos supracitados. As amostras foram processadas no setor de Patologia Clínica do Hospital Veterinário da Universidade Estadual do Norte Fluminense “Darcy Ribeiro” (UENF), no mesmo dia da colheita, no período da tarde.

A colheita do líquido peritoneal se deu com o animal em posição quadrupedal, na região epigástrica, aproximadamente 5 cm caudal ao apêndice xifoide. Para a colheita, foi realizada tricotomia do local, seguida da antissepsia com Iodopovidona degermante e álcool iodado. A abdominocentese foi realizada com agulha hipodérmica 40x12 mm descartável, conforme técnica descrita por Rowe e White (2009). O líquido coletado foi acondicionado em uma seringa descartável de 10 mL e distribuído, aproximadamente, 4 mL em um tubo com ácido etilenodiaminotetracético (EDTA)<sup>7</sup> e três alíquotas em tubos Eppendorf® com, aproximadamente, 2 mL cada. Após cada colheita, o LP foi avaliado macroscopicamente, sempre pelo mesmo avaliador, quanto à coloração (amarelo palha, amarelo, laranja ou vermelho) e aspecto (límpido, turvo ou sanguinolento).

As amostras de LP armazenadas em tubo com EDTA foram processadas em analisador hematológico automatizado<sup>8</sup>, onde foi feita a contagem de células nucleadas totais bem como de eritrócitos, quando estes estavam presentes. Para a confecção da lâmina de LP, a amostra foi centrifugada<sup>9</sup> com aceleração de 402,4 g, por cinco minutos. Ao término, o sobrenadante foi desprezado e o concentrado de células no fundo do tubo foi homogeneizado e pipetado sob uma lâmina, para realização do esfregaço pelo método *squash*. Em seguida, a lâmina foi corada com kit panótico rápido<sup>10</sup>. A avaliação citológica do LP foi feita em microscópio óptico<sup>11</sup>, na objetiva de 100x, em óleo de imersão, onde eram apuradas as células nucleadas entre elas neutrófilos, linfócitos, eosinófilos e células mononucleares (células mesoteliais monócitos/macrófagos) até a contagem total de 100 (cem) células.

---

<sup>7</sup> Tubos BD Vacutainer®

<sup>8</sup> SDH3 VET – Labtest Diagnóstica S.A.

<sup>9</sup> Centrífuga modelo RDE B-40. RDE Equipamentos Científicos LTDA.

<sup>10</sup> Panótico Rápido, Laborclin Produtos para Laboratório Ltda, Pinhais, PR, Brasil.

<sup>11</sup> Microscópio óptico Nikon Eclipse E-200. Nikon do Brasil Ltda, São Paulo, SP, Brasil.

As amostras de LP acondicionadas em tubos Eppendorf® (sem anticoagulante) foram utilizadas para aferição da densidade e das concentrações de proteína por meio do refratômetro de Goldberg<sup>12</sup>. Antes da realização dos exames, o refratômetro era calibrado com água destilada. Essas amostras também foram processadas em analisador bioquímico semi-automático de bancada<sup>13</sup> para mensurar proteína total, pelo método colorimétrico de Biureto<sup>14</sup> em reação de ponto final e albumina pelo método colorimétrico em reação de ponto final<sup>15</sup>. A globulina do LP foi estimada através do seguinte cálculo:

$$\text{Globulina LP} = \text{Proteína (Biureto) total do LP} - \text{Albumina}$$

## 2.6 COLETA E ANÁLISE DOS DADOS

Os dados sobre as condições físicas de cada animal e sobre a cor e aspecto do LP foram registrados em fichas de campo (Anexo 1). Os dados sobre os exames laboratoriais do LP foram registrados na ficha de exames do laboratório do setor de Patologia Clínica do Hospital Veterinário da UENF (Anexo 2). Os resultados dos exames do líquido peritoneal realizados no analisador automático foram registrados nos extratos emitidos pelo aparelho. Todos esses dados foram posteriormente tabulados em planilhas do Programa *Microsoft Office Excel*®, versão 2013.

Todos os dados foram submetidos a uma análise de estatística descritiva, usando o procedimento PROC *MEAN* do SAS 9.4 onde foram calculados: Média, Mediana, Desvio Padrão, Erro Padrão, Intervalo de Confiança e Coeficiente de Variação. A proporção de amostras dentro, acima e abaixo dos valores de referência foram calculadas, utilizando o procedimento PROC *FREQ* do SAS 9.4. Para comparar se houve diferença estatística entre pares durante os momentos não gestante, meses gestacionais e pós-parto, foi utilizado o procedimento PROC *MIXED* do SAS 9.4. A significância estatística foi definida por  $p < 0,05$ . Foi feito o teste de correlação de

---

<sup>12</sup> Refratômetro refração e densidade de urina e sangue - Megabrix

<sup>13</sup> Analisador bioquímico semi-automático de bancada BTS-350 BioSystems S.A.

<sup>14</sup> Proteínas Totais – Labtest Diagnóstica S.A.

<sup>15</sup> Albumina Vet – Labtest Diagnóstica S.A.

Pearson entre as variáveis proteína do LP avaliado por refratometria com a proteína do líquido peritoneal, avaliada pelo método de Biureto.

### 3. RESULTADOS

Durante o período proposto para o estudo, foram coletadas 370 amostras de líquido peritoneal ao longo dos 20 momentos de coletas. O estudo inicialmente avaliou 31 éguas gestantes, e dessas, três vieram a óbito, sendo duas por cólica e a outra durante o trabalho de parto. Devido ao critério de exclusão, apenas 18 éguas seguiram para a 2ª etapa do estudo, onde foi possível acompanhar a gestação inteira dentro do período estudado. As análises físico-químicas e celular do líquido peritoneal das éguas em relação à proporção de resultados, segundo seus valores de referência, estão expressos na Tabela 1.

Das 370 amostras analisadas ao longo do experimento, 76,5% (283) apresentaram coloração amarelo palha e 71,4% (264) das amostras estavam límpidas. Foi observado um aumento nas proporções de amostras com aspecto turvo (40%) no 4º mês gestacional. A frequência de distribuição das amostras de acordo com cor e aspecto ao longo dos momentos avaliados está demonstrada na Tabela 2. Na Tabela 3, está expressa a estatística descritiva com as médias e intervalo de confiança da densidade, proteína (g/dL), albumina (g/dL) e globulina (g/dL) do líquido peritoneal nos respectivos períodos observados.

Tabela 1. Análise físico-química e celular do líquido peritoneal de éguas em diversos momentos (não gestante, gestante e pós-parto).

<b>AMOSTRAS DE LÍQUIDO PERITONEAL (n=370)</b>				
<b>Variáveis</b>	<b>Valor de Referência<sup>1</sup></b>	<b>Resultados encontrados</b>		
		<b>Abaixo dos valores de referência % (n)</b>	<b>Entre os valores de referência, % (n)</b>	<b>Acima dos valores de referência, % (n)</b>
Eritrocitos (/μL)	ausente	—	81% (300)	19% (70)
Cél. Nucleadas Total (x 10 <sup>3</sup> /μL)	0,5 - 10,1	45% (166)	55% (204)	—
Albumina (g/dL)	0,3 - 1,0	16% (58)	63% (235)	21% (77)
Globulina (g/dL)	0,7 - 1,4	16% (58)	46% (170)	38% (142)
Proteína método Biureto (g/dL)	0,1 - 2,4	—	84% (310)	16% (60)
<b>Contagem diferencial Cél Nucleadas</b>				
Neutrófilo (%)	22 - 82	17% (64)	83% (306)	—
Linfócito (%)	1 - 19	10% (39)	84% (309)	6% (22)
Célula Mononuclear <sup>a</sup> (%)	19 - 68	—	75% (278)	25% (92)
Eosinófilo (%)	0 - 5	—	88% (326)	12% (44)
Basófilo (%)	Raros	—	—	—
<b>Refratometria</b>				
Densidade (gravidade específica)	1008 - 1012	1% (3)	87% (323)	12% (44)
Proteína (g/dL)	≤ 2,5	—	97% (360)	3% (10)
		<b>Resultados encontrados</b>		
<b>Avaliação Física</b>	<b>Valor de Referência<sup>2</sup></b>	<b>Amostras normais % (n)</b>	<b>Amostras anormais % (n)</b>	
Cor	Amarelo Palha	76% (283)	24% (87)	
Aspecto	Límpido	71% (264)	29% (106)	

1 Adaptado de DeHeer et al, 2002 Peritoneal Fluid - Diagnostic Cytology and Hematology of the Horse 2 ed;

2 Adaptado de Mendes e Peiró, 2008 Semiologia do Sistema Digestório de Equinos – Semiologia Veterinária: A arte do diagnóstico 2 ed.

a Células Mononucleares = Células Mesoteliais e Monócitos.

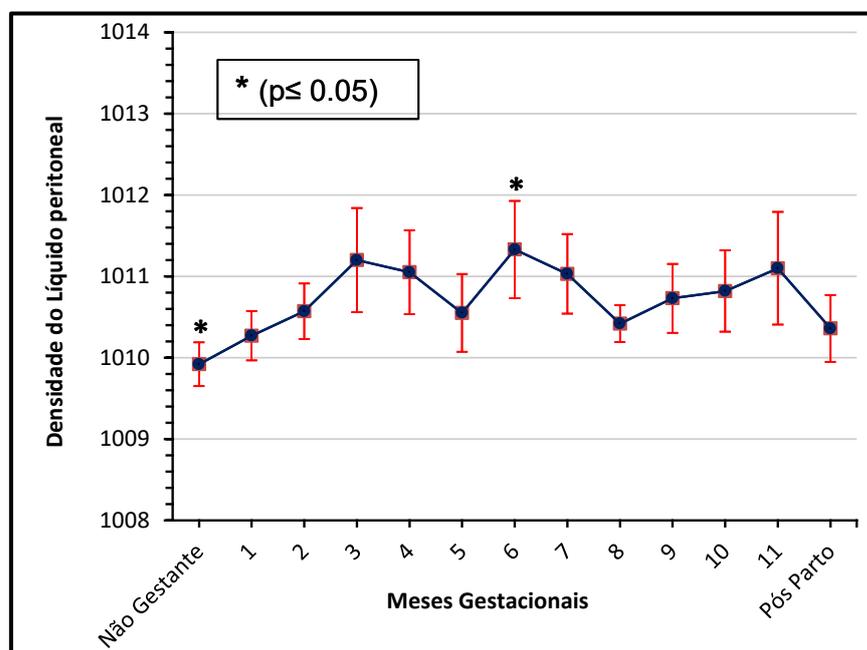
Tabela 2. Classificação do líquido peritoneal quanto a cor e aspecto em cada período observado.

Período observado	n	COR DO LÍQUIDO PERITONEAL				ASPCTO DO LÍQUIDO PERITONEAL		
		Amarelo Palha	Amarelo	Laranja	Vermelho	Limpido	Turvo	Sanguinolento
Não Gestante	25	92% (23)	8% (2)	0% (0)	0% (0)	92% (23)	8% (2)	0%(0)
1	22	73% (16)	13,5% ( 3)	9% (2)	4.5% (1)	68% (15)	27% (6)	5% (1)
2	21	71%(16)	14% (3)	10% (2)	5% (1)	67% (14)	28% (6)	5% (1)
3	20	80% (16)	15% (3)	5% (1)	0% (0)	70% (14)	30% (6)	0% (0)
4	20	65% (13)	25% (5)	5% (1)	5% (1)	55% (11)	40% (8)	5% (1)
5	22	77% (17)	14% (3)	0% (0)	9% (2)	68% (15)	23% (5)	9% (2)
6	24	84% (20)	8% (2)	8% (2)	0% (0)	75% (18)	25%(6)	0% (0)
7	31	81% (25)	10% (3)	6% (2)	3% (1)	77% (24)	20% (6)	3% (1)
8	38	87% (33)	13% (5)	0% (0)	0% (0)	79% (30)	21% (8)	0% (0)
9	41	73% (30)	19,5% (8)	5% (2)	2,5% (1)	66% (27)	32% (13)	2% (1)
10	44	73% (32)	17% (8)	5% (2)	5% (2)	70% (31)	25% (11)	5% (2)
11	29	76% (22)	21% (6)	0% (0)	3% (1)	72% (21)	24% (7)	4% (1)
Pós-parto	33	64% (21)	27% (9)	3% (1)	6% (2)	64% (21)	30% (10)	6% (2)

Tabela 3. Média e ( $\pm$ ) intervalo de confiança das amostras de líquido peritoneal para as variáveis: Densidade, Proteína aferida pelo refratômetro, Proteína aferida pelo método de Biureto, Albumina e Globulina de acordo com o período observado.

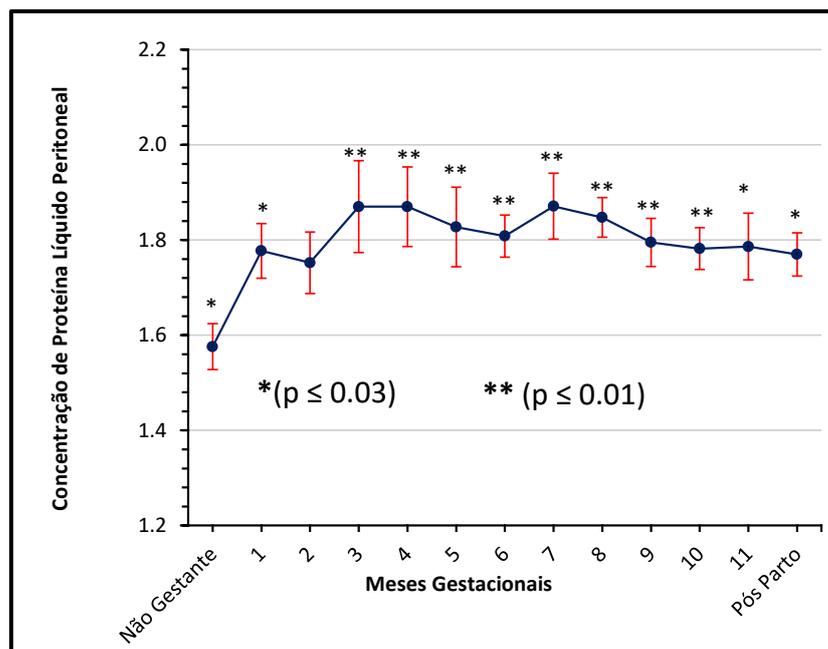
<b>Período observado</b>	<b>n</b>	<b>Densidade</b>	<b>Proteína Refratômetro (g/dL)</b>	<b>Proteína Biureto (g/dL)</b>	<b>Albumina (g/dL)</b>	<b>Globulina (g/dL)</b>
Não Gestante	25	1009.9 ( $\pm$ 0.19)	1.58 ( $\pm$ 0.03)	1.82 ( $\pm$ 0.05)	0.68 ( $\pm$ 0.06)	1.14 ( $\pm$ 0.06)
1	22	1010.3 ( $\pm$ 0.21)	1.78 ( $\pm$ 0.04)	2.15 ( $\pm$ 0.09)	0.83 ( $\pm$ 0.07)	1.32 ( $\pm$ 0.12)
2	21	1010.6 ( $\pm$ 0.23)	1.75 ( $\pm$ 0.04)	2.08 ( $\pm$ 0.09)	0.94 ( $\pm$ 0.09)	1.14 ( $\pm$ 0.1)
3	20	1011.2 ( $\pm$ 0.44)	1.87 ( $\pm$ 0.07)	2.23 ( $\pm$ 0.1)	0.89 ( $\pm$ 0.08)	1.34 ( $\pm$ 0.08)
4	20	1011.1 ( $\pm$ 0.18)	1.87 ( $\pm$ 0.06)	2.45 ( $\pm$ 0.19)	0.89 ( $\pm$ 0.07)	1.57 ( $\pm$ 0.17)
5	22	1010.6 ( $\pm$ 0.33)	1.83 ( $\pm$ 0.06)	1.99 ( $\pm$ 0.14)	0.69 ( $\pm$ 0.07)	1.30 ( $\pm$ 0.12)
6	24	1011.3 ( $\pm$ 0.41)	1.81 ( $\pm$ 0.03)	1.98 ( $\pm$ 0.08)	0.73 ( $\pm$ 0.04)	1.25 ( $\pm$ 0.09)
7	31	1011.0 ( $\pm$ 0.33)	1.87 ( $\pm$ 0.05)	2.03 ( $\pm$ 0.09)	0.73 ( $\pm$ 0.07)	1.30 ( $\pm$ 0.07)
8	38	1010.4 ( $\pm$ 0.15)	1.85 ( $\pm$ 0.03)	1.82 ( $\pm$ 0.03)	0.66 ( $\pm$ 0.03)	1.16 ( $\pm$ 0.05)
9	41	1010.7 ( $\pm$ 0.29)	1.80 ( $\pm$ 0.03)	1.86 ( $\pm$ 0.06)	0.57 ( $\pm$ 0.05)	1.29 ( $\pm$ 0.06)
10	44	1010.8 ( $\pm$ 0.34)	1.78 ( $\pm$ 0.03)	1.93 ( $\pm$ 0.05)	0.58 ( $\pm$ 0.04)	1.35 ( $\pm$ 0.04)
11	29	1011.1 ( $\pm$ 0.47)	1.79 ( $\pm$ 0.05)	2.05 ( $\pm$ 0.07)	0.64 ( $\pm$ 0.07)	1.42 ( $\pm$ 0.06)
Pós-parto	33	1010.4 ( $\pm$ 0.28)	1.77 ( $\pm$ 0.03)	1.94 ( $\pm$ 0.06)	0.69 ( $\pm$ 0.06)	1.26 ( $\pm$ 0.07)

1 Foi observado um aumento significativo ( $p=0,05$ ) nas médias da densidade no  
 2 6º mês gestacional em relação ao momento não gestante (Figura 3). Entretanto, as  
 3 médias da densidade ficaram dentro dos valores de referência.



4  
 5 Figura 3. Média da densidade do LP com Erro Padrão na barra de erros medida pelo refratômetro de  
 6 acordo com os períodos observados.

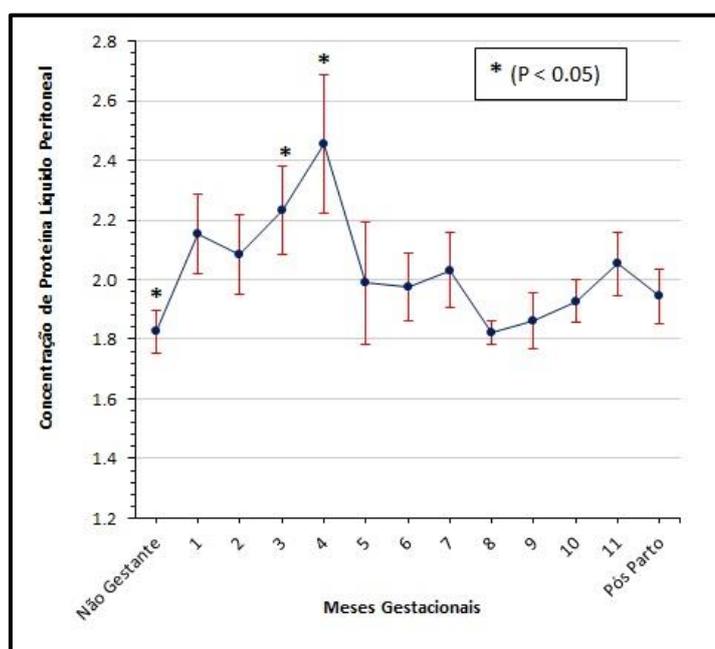
7 As concentrações médias das proteínas aferidas por refratometria  
 8 permaneceram dentro do valor de referência determinado para a espécie equina.  
 9 Ainda assim, houve um aumento significativo ( $p\leq 0,03$ ) em todos os períodos  
 10 observados em relação ao período não gestante, exceto no 2º mês de gestação,  
 11 quando o aumento não foi significativo ( $p=0,06$ ), conforme Figura 4.



1

2 Figura 4. Média da Proteína (g/dL) do LP com Erro Padrão na barra de erros, avaliado por refratometria,  
3 de acordo com os períodos observados.

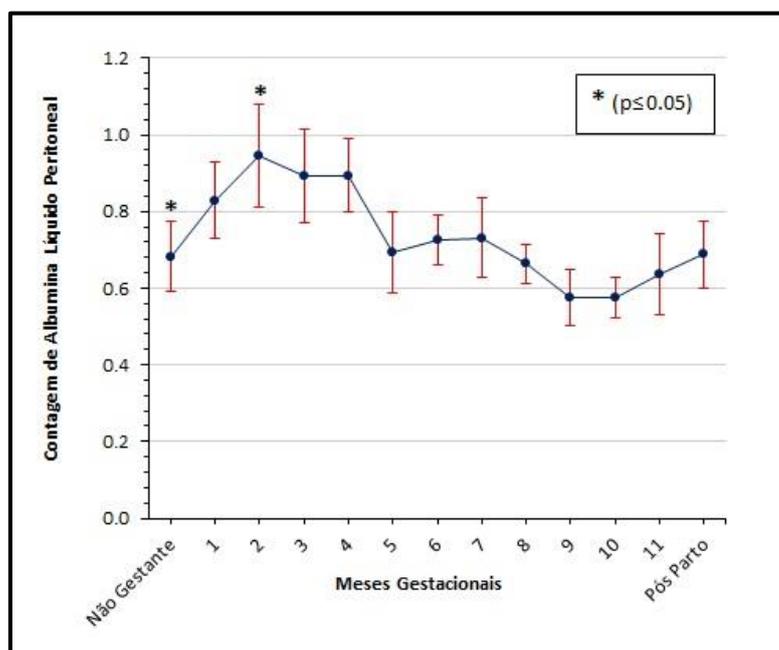
4 Em relação à concentração da proteína do líquido peritoneal pelo método de  
5 Biureto, as médias também permaneceram dentro dos limites de referência. Porém,  
6 foi observado um aumento significativo ( $p=0,05$ ) no 3º e 4º mês gestacional em relação  
7 ao período não gestante. Também foram constatadas diferenças significativas  
8 ( $p \leq 0,05$ ) entre determinados meses durante os períodos avaliados (Figura 5).



9

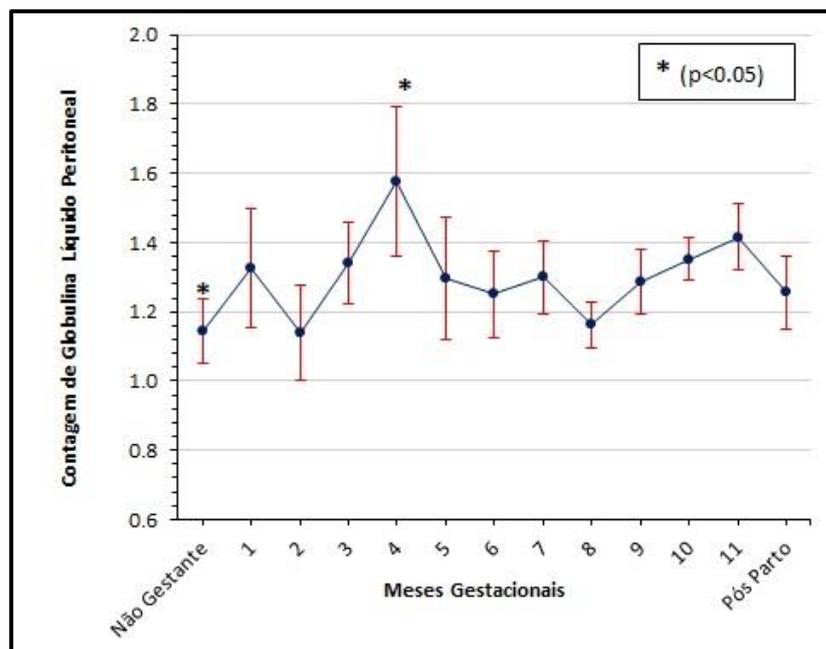
10 Figura 5. Média da Proteína (g/dL) do LP com Erro Padrão na barra de erros, avaliada pelo método de  
11 Biureto, de acordo com os períodos observados.

1 As albuminas avaliadas no líquido peritoneal tiveram suas respectivas  
2 concentrações médias dentro dos limites de referência. Todavia, verificou-se um  
3 aumento significativo ( $p=0,05$ ) do 2º mês gestacional em relação ao período não  
4 gestante. Foi observada uma diminuição significativa ( $p\leq 0,05$ ) entre meses  
5 gestacionais distintos (Figura 6).



6  
7 Figura 6. Média da Albumina (g/dL) do LP com Erro Padrão na barra de erros de acordo com os  
8 períodos observados.

9 Já na avaliação das globulinas, verificou-se que a média do 4º mês gestacional  
10 ficou acima do valor de referência. Ao avaliar se houve diferenças estatísticas entre  
11 as médias, notou-se um aumento significativo ( $p=0,02$ ) do 4º mês gestacional em  
12 relação aos momentos não gestante e 2º mês gestacional, além de uma diminuição  
13 significativa ( $p=0,01$ ) do 8º mês em relação ao 4º mês gestacional, conforme  
14 demonstrado na Figura 7.



1

2 Figura 7. Média da Globulina (g/dL) do LP com Erro Padrão na barra de erros de acordo com os  
3 períodos observados.

4

5 Quanto aos resultados obtidos na avaliação celular do líquido peritoneal,  
6 constatou-se que 81% (300) das amostras não apresentaram eritrócitos em sua  
7 composição (Tabela 1). As médias e intervalo de confiança da contagem de células  
8 nucleadas total ( $\times 10^3/\mu\text{L}$ ) e diferencial (%) nos respectivos momentos estudados,  
estão apresentados na Tabela 4.

Tabela 4. Média e ( $\pm$ ) intervalo de confiança das amostras de líquido peritoneal para as variáveis: Células Nucleadas Totais, Células Mononucleares (Células Mesoteliais e Macrófagos), Neutrófilos, Linfócitos, Eosinófilos e Basófilos de acordo com período observado.

<b>Período observado</b>	<b>n</b>	<b>Células Nucleadas Totais (<math>\times 10^3/\mu\text{L}</math>)</b>	<b>Células Mononucleares (%)</b>	<b>Neutrófilos (%)</b>	<b>Linfócitos (%)</b>	<b>Eosinófilos (%)</b>	<b>Basófilos (%)</b>
Não Gestante	25	0.54 ( $\pm 0.06$ )	50.24 ( $\pm 2.03$ )	40.48 ( $\pm 2.01$ )	8.88 ( $\pm 0.62$ )	0.80 ( $\pm 0.18$ )	0
1	22	0.80 ( $\pm 0.08$ )	58.91 ( $\pm 1.59$ )	32.32 ( $\pm 1.35$ )	5.86 ( $\pm 0.69$ )	2.91 ( $\pm 0.74$ )	0
2	21	0.61 ( $\pm 0.06$ )	64.10 ( $\pm 1.57$ )	28.76 ( $\pm 1.13$ )	5.38 ( $\pm 0.9$ )	1.76 ( $\pm 0.47$ )	0
3	20	0.72 ( $\pm 0.08$ )	67.80 ( $\pm 1.44$ )	27.00 ( $\pm 1.27$ )	4.90 ( $\pm 0.56$ )	0.30 ( $\pm 0.15$ )	0
4	20	0.84 ( $\pm 0.11$ )	63.65 ( $\pm 1.21$ )	29.85 ( $\pm 1.14$ )	4.15 ( $\pm 0.47$ )	2.35 ( $\pm 0.9$ )	0
5	22	0.67 ( $\pm 0.05$ )	62.73 ( $\pm 1.26$ )	30.73 ( $\pm 1.5$ )	4.09 ( $\pm 0.54$ )	2.82 ( $\pm 1.14$ )	0
6	24	0.80 ( $\pm 0.12$ )	65.46 ( $\pm 1.65$ )	27.17 ( $\pm 1.59$ )	5.42 ( $\pm 0.66$ )	1.88 ( $\pm 0.79$ )	0
7	31	0.79 ( $\pm 0.22$ )	62.55 ( $\pm 1.37$ )	30.42 ( $\pm 1.27$ )	4.71 ( $\pm 0.52$ )	2.26 ( $\pm 0.73$ )	0
8	38	0.77 ( $\pm 0.09$ )	58.92 ( $\pm 1.2$ )	32.13 ( $\pm 1.03$ )	7.74 ( $\pm 0.73$ )	1.47 ( $\pm 0.48$ )	0
9	41	0.92 ( $\pm 0.12$ )	60.54 ( $\pm 1.35$ )	29.66 ( $\pm 1.11$ )	6.68 ( $\pm 0.6$ )	2.02 ( $\pm 0.44$ )	0
10	44	0.81 ( $\pm 0.09$ )	60.50 ( $\pm 1.27$ )	29.98 ( $\pm 1.11$ )	7.23 ( $\pm 0.59$ )	2.30 ( $\pm 0.62$ )	0
11	29	0.75 ( $\pm 0.12$ )	55.34 ( $\pm 1.8$ )	30.14 ( $\pm 1.54$ )	13.21 ( $\pm 1.36$ )	1.55 ( $\pm 0.47$ )	0
Pós-parto	33	0.79 ( $\pm 0.08$ )	59.70 ( $\pm 1.78$ )	32.85 ( $\pm 1.62$ )	4.88 ( $\pm 0.41$ )	2.03 ( $\pm 0.51$ )	0

A média da contagem das células nucleadas total permaneceu dentro do valor de referência. Foi identificado um aumento significativo ( $p=0,05$ ) do 9º mês gestacional comparado com o período não gestante (Figura 8).

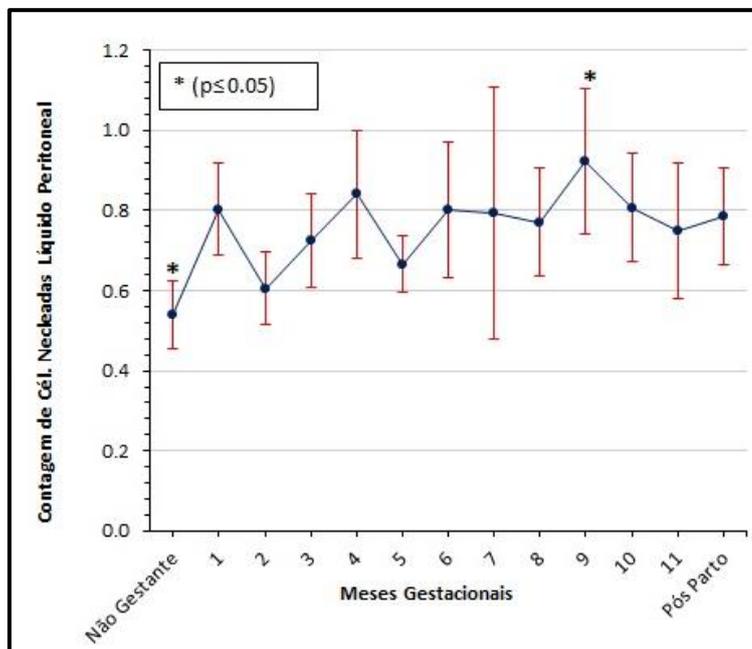


Figura 8. Média da contagem de células nucleadas total ( $\times 10^3/\mu\text{L}$ ) no LP com Erro Padrão na barra de erros, de acordo com os períodos observados.

Na contagem diferencial de células nucleadas notou-se que no percentual de células mononucleares (células mesoteliais monócitos/macrófagos) as respectivas médias em cada período avaliado mantiveram-se dentro dos limites de referência. No entanto, foi constatado um aumento significativo ( $p \leq 0,01$ ) no número de células mononucleares em todos os meses gestacionais e no pós-parto, em relação ao período não gestante. Diferenças significativas também foram notadas entre os diversos meses gestacionais e pós-parto (Figura 9).

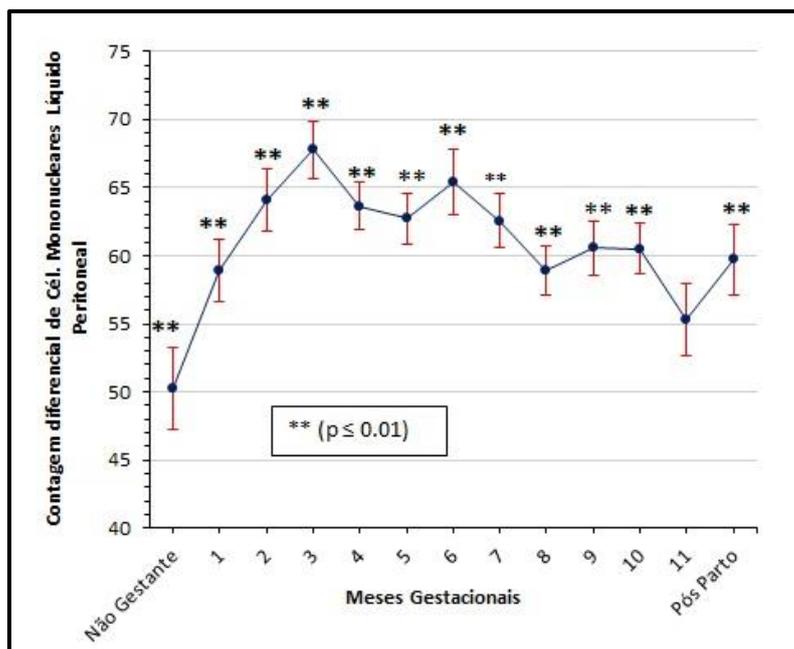


Figura 9. Média das células mononucleares (%) do LP com Erro Padrão na barra de erros, de acordo com os períodos observados.

A média dos percentuais de linfócitos nos seus respectivos momentos, permaneceu dentro dos limites de referência. Notou-se um aumento significativo ( $p \leq 0,01$ ) do 11º mês gestacional comparado com os demais momentos. Também foram constatadas diferenças significativas entre os meses gestacionais e período pós-parto (Figura 10).

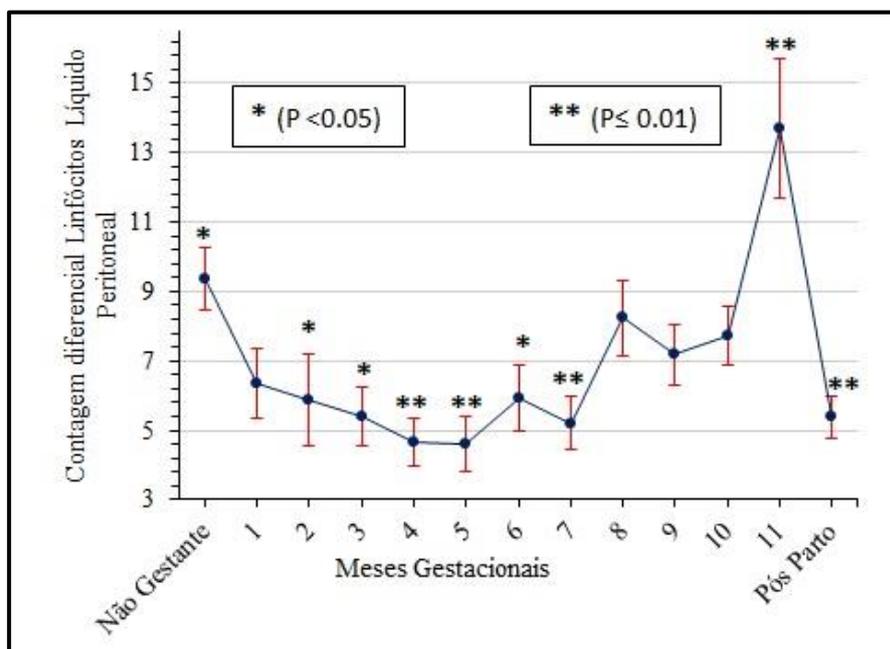


Figura 10. Média dos linfócitos (%) do LP com Erro Padrão na barra de erros, de acordo com os períodos observados.

Não houve alteração na média percentual de neutrófilos em relação aos valores de referência. No entanto, observou-se uma diminuição significativa ( $p \leq 0,01$ ) em todos os meses gestacionais e no período pós-parto, em contraste com o período não gestante (Figura 11).

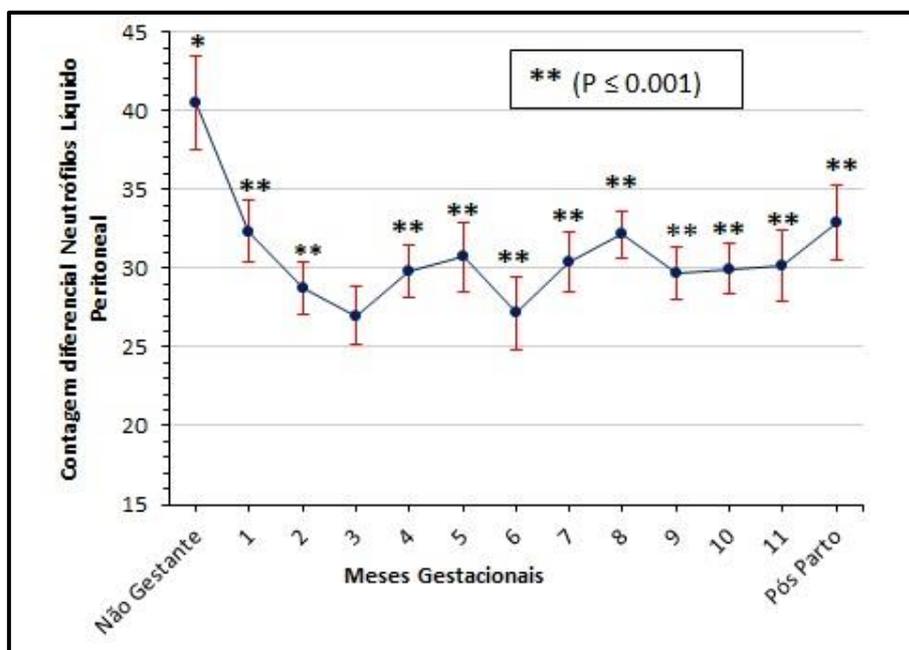


Figura 11. Média dos neutrófilos (%) do LP com Erro Padrão na barra de erros, de acordo com os períodos observados.

Assim, como as demais células, o percentual médio de eosinófilos permaneceu dentro dos valores de referência. Além disso, não houve diferença significativa ( $p > 0,05$ ) entre os momentos estudados (Figura 12). Não foram encontrados basófilos na avaliação citológica das amostras de líquido peritoneal.

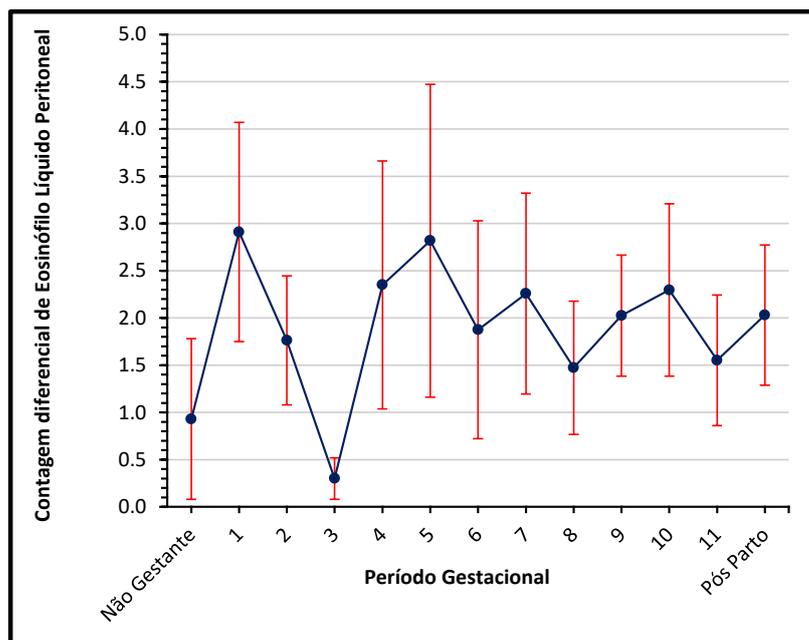


Figura 12. Média dos eosinófilos (%) do LP com Erro Padrão na barra de erros, de acordo com os períodos observados.

Pelo teste de Correlação de Pearson observou-se correlação significativa ( $p < .0001$ ) entre a concentração de proteína do líquido peritoneal avaliada por refratometria e a avaliada pelo método de Biureto ( $r = 0,47$ ).

#### 4. DISCUSSÃO

Durante todo o experimento, nenhuma égua apresentou efeito colateral, como celulite, edema local ou peritonite por contaminação iatrogênica, em função das abdominocenteses repetidas. Complicações referentes a esse procedimento foram relatadas em estudos pretéritos, como realizado por Tulleners (1983) e Schumacher et al. (1985) e, geralmente, ocorrem devido à punção de alguma alça intestinal desvitalizada, levando ao extravasamento de conteúdo intestinal para a cavidade ou quando o procedimento não é realizado com a devida assepsia.

Em relação à avaliação física das amostras de LP, houve um predomínio da cor amarelo palha (76,5%) e aspecto límpido (71,4%), semelhante ao observado por Frazer et al. (1997) ao avaliarem o líquido peritoneal no período periparto e pós-parto de éguas de diferentes raças. Apesar de 7,3% (27) das amostras terem sofrido contaminação iatrogênica por sangue durante a coleta, não foi observada alteração

nos resultados de concentração de proteína e contagem de células nucleadas total dessas amostras. Este fato ratifica os achados encontrados por Malark et al. (1992) que concluíram que até 17% de contaminação do LP com sangue não provoca alteração na concentração de proteína e na contagem de células nucleadas total.

A turbidez do LP é influenciada pela celularidade, pela concentração de proteína e pela presença de lipídeos no líquido (DEHEER et al., 2002). No 4º mês gestacional foi observado um aumento (40%) na proporção do aspecto turvo. Esse aumento foi ocasionado pelo aumento da concentração da proteína no LP durante o 4º mês gestacional.

Apesar das médias da densidade das amostras do LP estarem dentro da faixa de referência, notou-se um aumento significativo apenas no 6º mês. Nos demais meses não houve diferença significativa. Resultado semelhante foi obtido por Van Hoogmoed et al. (1996) ao avaliarem o LP de éguas no período periparto e pós-parto, não detectando diferença estatística na densidade do LP. O aumento observado no 6º mês gestacional se deu muito mais por influência de um resultado mais elevado (1020) do que uma tendência de alta nesse específico mês. Durante a análise dos dados, alguns resultados foram considerados *outliers* e foram retirados da análise. No caso específico da densidade, havia um *outlier* cuja densidade era de 1028 e acabou sendo retirado da análise. O segundo valor mais alto encontrado foi 1020 (12 amostras), porém, esse valor não influenciou nas médias dos demais meses gestacionais.

As proteínas presentes no fluido peritoneal são oriundas do plasma sanguíneo e chegam à cavidade abdominal após passarem pela camada de células mesoteliais e fina lâmina basal do peritônio. Por conta dessa barreira que torna o LP um ultrafiltrado do plasma, é que suas concentrações proteicas são proporcionalmente menores que as do plasma (DEHEER et al., 2002; LHAMAS et al., 2014). Assim sendo, as proteínas do LP são compostas basicamente por albumina e globulinas com uma ínfima quantidade de fibrinogênio (DEHEER et al., 2002).

As concentrações das proteínas no líquido peritoneal podem ser avaliadas tanto pelo refratômetro de Goldberg quanto pelo método de biureto em bancada. Apesar da avaliação por refratometria ser bastante frequente entre os veterinários de campo já que é uma metodologia de fácil execução, rápida e de baixo custo (DEHEER et al., 2002), o método de Biureto tem a vantagem de ser mais preciso nos resultados, sobretudo nas concentrações que variam de 1-10g/dL (KANEKO, 1997).

As médias das concentrações de proteína no LP para ambas metodologias permaneceram dentro do valor de normalidade ( $< 2,5\text{g/dL}$ ) para equinos saudáveis (DEHEER et al., 2002). Assim como as médias das proteínas avaliadas por refratometria foram inferiores a  $2,0\text{ g/dL}$ , semelhante ao encontrado por Duesterdieck-Zellmer et al. (2014), que avaliaram equinos saudáveis e por Van Hoogmoed et al. (1996) e Frazer et al. (1997), que avaliaram éguas gestantes no período periparto e pós-parto. Por outro lado, as médias das proteínas avaliadas pelo método de Biureto permaneceram acima de  $2,0\text{ g/dL}$  em 6 dos 13 períodos observados (Tabela 3). Essa discrepância entre as médias obtidas nos dois métodos pode ter ocorrido devido à maior especificidade do método de Biureto. Apesar do teste de correlação de Pearson entre esses dois métodos ter sido significativo ( $p < 0,0001$ ), houve uma fraca correlação positiva ( $r = 0,47$ ). No entanto, Rose et al. (2016), ao avaliarem a concentração de proteína no LP por refratometria e pelo método de biureto de cães acometidos por doenças inespecíficas, encontraram uma forte correlação significativa ( $p < 0,0001$ ) entre os dois métodos no teste de correlação de Spearman ( $r_s = 0,908$ ).

Embora a literatura relate que os níveis séricos de proteína plasmática tendem a diminuir durante a gestação em função da diminuição dos níveis de albumina (KANEKO, 1997), o mesmo não foi observado, no presente estudo, em relação à concentração de proteína no LP.

Ao avaliar a dinâmica da proteína aferida por refratometria, constatou-se um aumento significativo em praticamente todos os momentos gestacionais (exceto o 2º mês gestacional,  $p = 0,06$ ) e pós-parto, comparado com o momento não gestante. Esse viés de aumento observado pode ter ocorrido em função das demandas metabólicas que uma gestação exige, recrutando mais proteínas carreadoras para transporte de nutrientes para garantir substrato para o desenvolvimento fetal (JAINUDEEN e HAFEZ, 2004).

Ao avaliar a dinâmica da curva da proteína no líquido peritoneal pelo método de Biureto (Figura 5), observamos um decréscimo na concentração proteica no 2º mês gestacional. Essa diminuição coincide com a transição da fase embrionária para a fase fetal e, de certa forma, essa mudança pode ter contribuído para essa queda. O pico na concentração de proteína observado no 4º mês gestacional ocorreu devido ao aumento na concentração de globulina nesse mês.

As albuminas, apesar de serem as proteínas mais abundantes no plasma, tendem a diminuir seus níveis durante a gestação (KANEKO, 1997). Ao analisar a curva da concentração de albumina no LP (Figura 6), observamos que há um aumento na sua concentração no início da gestação, sendo esse significativo ( $p=0,05$ ) no 2º mês gestacional. Esse aumento pode estar relacionado à fase embrionária que possui uma demanda metabólica muito grande, já que a taxa de crescimento é alta (JAINUDEEN e HAFEZ, 2004). Depois, nos meses subsequentes da gestação, constatou-se uma diminuição gradativa nos níveis, corroborando com o descrito por Kaneko (1997). No terço final da gestação, quando há uma série de interações metabólicas entre o feto e a mãe, observou-se uma tendência de elevação nos níveis, apesar desse aumento não ter sido significativo ( $p=0,9$ ).

Seguramente, as globulinas tendem a aumentar discretamente durante a gestação (KANEKO, 1997). Isso se deve à atividade de algumas  $\alpha$ -Globulinas e  $\beta$ -Globulinas que atuam no metabolismo materno e fetal. Dentre as  $\alpha$ -Globulinas que aumentam na gestação, temos a Globulina Ligadora de Tiroxina (TBG) e a  $\alpha_1$ -Fetoproteína produzida pelos hepatócitos do feto, cuja função é desconhecida (KANEKO, 1997). A TBG transporta o hormônio T4, que tem como uma de suas funções, aumentar a taxa de consumo de O<sub>2</sub>, uma vez que as demandas metabólicas estão mais intensas (DICKSON, 1996). Quanto às  $\beta$ -Globulinas, a Transferrina, globulina transportadora de ferro, acaba tendo uma maior produção durante a gestação, já que há uma demanda maior na produção de hemácias. Esses fenômenos talvez expliquem o aumento observado na dinâmica da globulina (Figura 7). A partir do 9º mês de gestação, observou-se uma elevação das concentrações de proteína e, sobretudo, nas concentrações de globulina. De fato, próximo ao parto, profundas alterações na fisiologia gestacional ocorrem e uma delas é um pico na concentração das  $\gamma$ -Globulinas (KANEKO, 1997). Perto do parto, uma série de eventos endócrinos ocorrem no feto, como o aumento da produção da prostaglandina E2 (PGE2). Isto estimula o eixo Adrenal-Hipófise-Hipotalâmico do feto que libera o hormônio adrenocorticotrófico (ACTH) que, por sua vez, atua nas adrenais fetais, liberando cortisol (FOWDEN et al., 2008; JAINUDEEN e HAFEZ, 2004). Esse aumento nos níveis de cortisol fetal, ao chegar à circulação sanguínea materna, resulta numa diminuição da concentração sérica de proteína (KANEKO, 1997). Esse acontecimento ajuda a entender a queda nos níveis de proteína e globulina do LP no momento pós-parto.

Em relação à avaliação celular do líquido peritoneal, as médias permaneceram abaixo de 1000 células/ $\mu\text{L}$ , semelhante ao encontrado por Frazer et al. (1997), no grupo de éguas que pariram sem complicações. Van Hoogmoed et al. (1996) também relataram contagens de células nucleadas menores que 5000 células/ $\mu\text{L}$  nas amostras de LP antes do parto e no pós-parto. Todavia, animais acometidos por síndrome cólica, dependendo da gravidade das alterações, apresentam contagens de células nucleadas acima de 20.000 células/ $\mu\text{L}$  (GARMA-AVIÑA, 1998). No decorrer da análise de dados, foram identificados dois resultados *outliers* (7.160 e 7300 células/ $\mu\text{L}$ ) que foram retirados das análises por estarem interferindo diretamente no resultado das médias, levando a uma análise incorreta na dinâmica das células nucleadas totais. Com isso, o valor mais alto encontrado em todas as amostras foi 5.300 células/ $\mu\text{L}$ , em uma única égua, não interferindo nos resultados.

Quanto a contagem diferencial das células nucleadas, optou-se por classificar no mesmo grupo celular (células mononucleares) as células mesoteliais, monócitos e macrófagos, a exemplo do que foi feito em estudos prévios (BROWNLOW et al., 1981; DEHEER et al., 2002; VAN HOOGMOED et al., 1996). A literatura cita diversos métodos de coloração da lâmina de citologia de líquido peritoneal. Porém, todas derivaram da técnica de Romanowsky. No presente estudo, as lâminas foram coradas pelo corante Panótico rápido, tendo sido bastante eficiente na coloração das células presentes no LP. Durante a leitura das lâminas de LP, não foi identificada a presença de basófilo. Este resultado foi semelhante ao obtido por Frazer et al. (1997), que não relataram a presença de basófilos em suas amostras, e por Grama-Aviña (1998) que, em 100 lâminas pesquisadas, só encontrou 1 basófilo em 2 lâminas analisadas.

Ao analisar a dinâmica citológica do líquido peritoneal, observou-se que as células mononucleares predominaram em todos os momentos, comparando-as com as outras células. Esta observação foi diferente do que foi descrito por Barrelet (1993), onde foi observado um predomínio de polimorfonucleares (neutrófilos) em animais hípidos. Também foi diferente dos resultados encontrados por Van Hoogmoed et al. (1996), que observaram um predomínio médio dos neutrófilos nos momentos periparto e pós-parto. O fato das células mesoteliais não só revestirem todos os órgãos, mas também a superfície parietal da cavidade abdominal, pode levar a crer que durante a gestação, com o aumento do volume do útero, pode ocorrer uma maior descamação de células mesoteliais que o revestem, podendo refletir numa maior proporção desse grupo celular, divergente ao descrito pela literatura. Ao avaliar a curva das células

mononucleares (Figura 9), observou-se um aumento significativo ( $p \leq 0,01$ ) em todos os momentos gestacionais e pós-parto. Exceto no 11º mês, quando foi verificada uma queda acentuada na média. Por outro lado, ao avaliarmos a dinâmica dos linfócitos, observamos um aumento significativo ( $p < 0,0001$ ) no 11º mês gestacional, seguido de uma queda no pós-parto. Possivelmente, esse fenômeno reflete uma modificação sistêmica, uma vez que, próximo ao parto, ocorre um maior recrutamento de  $\gamma$ -Globulinas e, conseqüentemente, um maior número de linfócitos são recrutados para produção de anticorpos. A queda no pós-parto possivelmente ocorreu em função dos elevados níveis de cortisol liberados pelo feto no final da gestação.

Na observação da curva dos neutrófilos (Figura 11), nota-se uma diminuição significativa em todos os momentos em relação ao momento não gestante. Isso se deve a uma maior proporção das células mononucleares que foram observadas ao longo da gestação. Em animais acometidos por peritonite ou por síndrome cólica, frequentemente, essa população celular está presente em maior número (FALEIROS et al., 2011; MENDES et al., 1999). Uma vez na cavidade abdominal, o neutrófilo não retorna mais para circulação sanguínea, portanto, é frequente observar neutrófilos hipersegmentados e, em casos severos de inflamação na cavidade, pode-se encontrar bastões, o que indicaria uma maior severidade do quadro (DEHEER et al., 2002).

Em, aproximadamente, 30% (110) das lâminas de LP analisadas foram encontrados eosinófilos. A presença de eosinófilos no líquido peritoneal pode estar relacionada à migração parasitária e, em alguns casos, pode ser encontrado também em animais com endotoxemia (BARRELET, 1993). Os resultados referentes aos achados de eosinófilos não demonstraram diferença estatística entre as médias nos mais variados momentos, conforme observado na Figura 12. As médias encontradas estiveram abaixo do limite máximo de normalidade. Apesar das éguas serem vermifugadas periodicamente, todas elas eram criadas a pasto, onde o controle parasitário é mais difícil de ser executado. Este fato pode ter contribuído para a identificação de eosinofilia ( $>5\%$ ) em 12% (44) das amostras analisadas.

## 5. CONCLUSÃO

As abdominocenteses repetidas não geraram complicações nas pacientes avaliadas. Desta forma, este procedimento quando realizado em animais sadios e em conformidade com as técnicas de higiene e assepsia preconizadas, representa baixo risco para os animais.

A composição físico-química e celular do líquido peritoneal de éguas gestantes apresentou diferenças estatísticas significativas em praticamente todas as variáveis estudadas, entre o momento não gestante, os diversos momentos gestacionais e momento pós-parto.

Apesar da gestação alterar a dinâmica da composição físico-química e celular do LP, quando comparado com éguas não gestantes, não foi observado um aumento ou diminuição das médias frente aos valores de referência citados na literatura.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BACCARIN, R.Y.A., THOMASSIAN, A., NICOLETTI, J. L. M., GANDOLFI, W., HUSSNI, C. A., LOPES, R. S. Alterações do líquido peritoneal em equinos com desconforto abdominal e suas relações com o tipo de lesão implantada e evolução após tratamento médico ou cirúrgico: análise de 74 casos. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 32, n. 4, p. 256-265, 1995.

BACH, L.G.; RICKETTS, S.W. Paracentesis as an aid to the diagnosis of abdominal disease in the horse. **Equine veterinary journal**, v. 6, n. 3, p. 116-121, 1974.

BARRELET, A. Peritoneal fluid: Part 2 – Cytological examination. **Equine Veterinary Education**, v. 5, n. 3, p.126-128, 1993.

BARTHOLAZZI JUNIOR, A. **Medidas lineares e análise de polimorfismos nos genes Icorl e lasp1 e suas associações com a altura de equinos da raça pônei brasileiro**. Dissertação de Mestrado Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal – Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Campos dos Goytacazes– RJ. 2015.

BRESCIANI, K.D.S.; TONIOLLO, G.H.; VICENTE, W. R. R.; LEZIER, D. H. Ocorrência de distocia em fêmea “miniature horse”. **ARS VETERINARIA**, v. 17, n. 1, p. 28-31, 2001.

BROWNLOW, M.A.; HUTCHINS, D.R.; JOHNSTON, K.G. Reference values for equine peritoneal fluid. **Equine veterinary journal**, v. 13, n. 2, p. 127-130, 1981.

DASCANIO, J.J. Abdominocentesis in the Postpartum Mare. IN John Dascanio and Patrick McCue **Equine Reproductive Procedures** first edition, Wiley & Blackwell Publishing, Ames, Iowa, USA, Chapter 94 p. 312-313, 2014. ISBN 9780470960394 e-book.

DEHEER, H.L., BRUCE W., PARRY, B.W., GRINDEM, C.B. Peritoneal fluid. IN COWELL, R.L. e TYLER, R.D. **Diagnostic Cytology and Hematology of the Horse**, 2th ed. Missouri - St Louis, Mosby Inc, chapter 9, p.127-162, 2002, E-Book. ISBN 0-323-01317-1.

DE LA CORTE, F.D.; ALDA, J.L.; CASTRO, I.N.; BRASS, K.E.; SILVA, C.A.M. Diagnóstico precoce de gestação na égua através da ultra-sonografia. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 31, n. 3-4, p. 282-287, 1994.

DICKSON, W.M. Glândulas Endócrinas IN SWENSON, M.J. & REECE, W.O. **Dukes Fisiologia dos Animais Domésticos**, 2ª ed. Editora Guanabara Koogan Rio de Janeiro – RJ. Cap. 34, p.571-602, 1996.

DI FILIPPO, P.A.; ALVES, A.E.; HERMETO, L.C.; SANTANA, A.E. indicadores bioquímicos séricos e do líquido peritoneal de equinos submetidos à obstrução intestinal **Ciência Animal Brasileira**, v.13, n.4, p. 504-511, 2012.

FALEIROS, R.R., MACORIS, D.G., SAQUETTI, C.H.C., AITA, A.C., FARIAS, A., MALHEIROS, E.B., SAMPAIO, I. Peritoneal fluid changes in horses subjected to small colon distension. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 31, n. 5, p. 367-373, 2011.

FOWDEN, A. L.; FORHEAD, A. J.; OUSEY, J. C. The endocrinology of equine parturition. **Experimental and clinical endocrinology & diabetes**, v. 116, n. 07, p. 393-403, 2008.

FRAZER, G.; BURBA, D.; PACCAMONTI, D.; BLOUIN, D.; LEBLANC, M.; EMBERTSON, R.; HANCE, S. The effects of parturition and peripartum complications on the peritoneal fluid composition of mares. **Theriogenology**, v. 48, n. 6, p. 919-931, 1997.

GARMA-AVIÑA, A. Cytology of 100 samples of abdominal fluid from 100 horses with abdominal disease. **Equine Veterinary Journal**, v. 30, n. 5, p. 435-433, 1998.

GRONDIN, T.M.; DEWITT, S.F. Normal hematology of the horse and donkey. IN WEISS, D.J. e WARDROP, K.J. **Schalm`s Veterinary Hematology**, 6th ed. Ames Iowa USA, Blackwell Publishing Ltd, chapter 106, p.821- 826, 2010.

HOWES, D.A; KERR, T.A., MCQUILLAN, R.; KERR, R.T.; CONNELL, J.S. Successful small intestinal resection and anastomosis in a late term broodmare with colic via a standing left flank laparotomy. **Equine Veterinary Education**, v.30, n. 10, p. 531-535, 2018.

JAINUDEEN, M.R. e HAFEZ, E.S.E. Gestaçã, fisiologia pré-natal e parto. In: \_\_\_\_; HAFEZ, B. **Reproduçã Animal**. 7ª ed. Barueri - SP: Editora Manole, Cap. 10 p.141-155, 2004.

KANEKO, J.J. Serum proteins and the dysproteinemias. In\_\_\_\_; HARVEY, J.W.; BROSS, H.L. **Clinical Biochemistry of Domestic Animals** 5<sup>th</sup> ed. San Diego: Academic Press, cap.5 p.117-138, 1997.

LATSON, K.M., NIETO, J.E., BELDOMENICO, P.M., SNYDER, J.R. Evaluation of peritoneal fluid lactate as a marker of intestinal ischaemia in equine colic. **Equine Veterinary Journal**, v. 37, n. 4, p. 342-346, 2005.

MALARK, J.A., PAYTON, L.C., GALVIN, M.J. Effects of blood contamination on equine peritoneal fluid analysis. **J. Am. Vet. Med. Assoc**, v.201, n.10, p.1545-1556, 1992.

MENDES, L.C.N.; MARQUES, L.C.; BECHARA, G.H.; PEIRÓ, J.R. Experimental peritonitis in horses: peritoneal fluid composition. **Arquivo brasileiro de medicina veterinária e zootecnia**, v. 51, n. 3, p. 217-222, 1999.

MENDES, L.C.N.; PEIRÓ, J.R. Semiologia do Sistema digestório de equinos. IN FEITOSA, F.L.F. **Semiologia Veterinária: A arte do diagnóstico**, 2ª ed. Editora Roca, São Paulo – SP p.139-179, 2008. ISBN 9788572417525.

PELOSO, J.G.; COHEN, N.D. Use of serial measurements of peritoneal fluid lactate concentration to identify strangulating intestinal lesions in referred horses with signs of colic. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 240, n. 10, p. 1208-1217, 2012.

PROUDMAN, C.J., SMITH, J.E., EDWARDS, G.B., FRENCH, N.P. Long-term survival of equine surgical colic cases. Part 1: Patterns of mortality and morbidity. **Equine veterinary. Journal**. v. 34, n.5, p. 432-437, 2002.

ROSE, A.; FUNK, D.; NEIGER, R. Comparison of refractometry and biuret assay for measurement of total protein concentration in canine abdominal and pleural fluid specimens. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 248, n. 7, p. 789-794, 2016.

ROWE, E.L. & WHITE, N.A. Diagnosis of gastrointestinal disease. IN: WHITE, N.A., MOORE, J.N. e MAIR, T.S. **The Equine Acute Abdomen**. Jackson – WY, Teton New Media. Chapter 15 p. 235 – 287, 2009, e-book, ISBN 13: 978-1-4822-4114-3.

SANTSCHI, E.M. Colic and Pregnancy. IN: WHITE, N.A., MOORE, J.N. e MAIR, T.S. **The Equine Acute Abdomen**. Jackson – WY, Teton New Media. Chapter 41 p. 677 – 686, 2009, e-book ISBN 13: 978-1-4822-4114-3.

SCHMITT, C.I.; STRACK, L; SAMPAIO, A.B.; BULLYNG, C.S.; CARDONA, R.O. Distocia em égua pônei (mini horse) – relato de caso. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, v. 28, p. 01-09, 2017.

SCHUMACHER, J.; SPANO, J.S.; MOLL, H.D. Effects of enterocentesis on peritoneal fluid constituents in the horse. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 186, n. 12, p. 1301-3, 1985.

TULLENERS, E. P. Complications of abdominocentesis in the horse. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 182, n. 3, p. 232, 1983.

WHITE, N.A. Decision for Surgery and Referral. IN: BLIKSLAGER, A.T., WHITE, N.A., MOORE, J.N. e MAIR, T.S. **The Equine Acute Abdomen – Third Ed**. John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, NJ, USA Chapter 24 p. 285 – 288, 2017, e-book ISBN 9781119063247.

VAN HOOGMOED, L., SNYDER, J.R., CHRISTOPHER, M., VATISTAS, N. Peritoneal fluid analysis in peripartum mares. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 209, n. 7, p. 1280-1282, 1996.

## ANEXOS

Anexo A - Modelo de Ficha de campo utilizado nas coletas durante o experimento

## FICHA DE CAMPO

2ª gestação

Momento:

Data:

Número Animal	Nome	Peso	EC	EDGCP	Comp "X"	P 25%	P 50%	P 75%	Inserção cauda (A)	Garupa (B)	Costela (C)	Cor LP	Aspecto LP	OBSERVAÇÃO
3	Alicate pampa													
4	Lolita													
5	Estima													
6	Jatai													
9	Granada													
11	Aline													
12	Atena													
14	Heroína													
16	Libra													
18	Rapadura													
21	Baia sem papel													
35	Framboesa													

**Cor:** (1) Amarelo Palha; (2) amarelo; (3) Laranja; (4) Vermelho **Aspecto:** (0) límpido; (1) turvo; (2) sanguinolento

## ANEXO B - Ficha do laboratório setor de Patologia Clínica do Hospital Veterinário da (UENF)



**UENF**  
Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro  
CCTA/LCCA/PATOLOGIA CLINICA





**DERRAMES CAVITÁRIOS      Nº /18**

Nome:	Data: /18
Espécie:	Idade:
Raça:	Sexo:
Proprietário:	
Médico Veterinário: Dr <sup>a</sup> .	

<u>EXAME FÍSICO</u>	
Volume (mL):	
Cor:	
Odor: Característico	
Aspecto:	
Densidade:	
Sedimento:	
Cor do Sobrenadante:	

<u>EXAME QUÍMICO</u>	
Proteínas:	
Glicose:	
pH:	
Hemoglobina:	
Leucócitos:	

<u>CONTAGEM CELULAR</u>	
Células nucleadas: / $\mu$ L	

<u>CITOLOGIA</u>	

CLASSIFICAÇÃO DOS DERRAMES CAVITARIOS (Lopes et al., 2007)			
PARAMETROS	TRANSUDATO	TRANS. MODIFICADO	EXSUDATO
Proteínas Totais (g/dL)	< 2,5	2,5 - 7,5	$\geq$ 3,0
Contagem Total de Cels. Nucleadas / $\mu$ l	< 1.500	1.000 a 7.000	> 7.000
Densidade	< 1017	1017 - 1025	> 1025
Bactérias	Ausentes	Ausentes	Varíavel
Células Predominantes	Mononucleares Mesoteliais	Linfócitos, Monócitos, Mesoteliais, Hemácias	Neutrófilos, Macrófagos Mesoteliais

Proteínas (refratômetro de Abbe):

**REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:**

- LOPES, S.T.A., CUNHA, C.M.A., BIONDO, A.W., FAN, L.C.R. *Patologia Clínica Veterinária*. Santa Maria. 3ª Ed. 2007. 117 p.
- MEYER, D. J.; COLES, E. H.; RICH, L. J. *Medicina de Laboratório Veterinário: Interpretação e diagnóstico*. 1995. Roca. São Paulo. 308 p.
- THRALL, M. A. et al. *Hematologia e Bioquímica Clínica Veterinária*. 2007. Roca. São Paulo. 582 p.
- SINK, C.A.; FELDMAN, B.F. *Urínálise e hematologia laboratorial para o clínico de pequenos animais*. 2006. Roca. São Paulo. 111p.

Prof. Antônio Peixoto Albernaz (DSc.)  
Médico Veterinário – CRMV/RJ 4171  
Matr. UENF 10577-5

Orlando Augusto Melo Junior (MSc.)  
Médico Veterinário – CRMV/RJ 4926  
Matr. UENF 10491-9

Karoline da Silva Gomes  
Médica Veterinária - CRMV/RJ 14241

Loise Lopes de Lima  
Médica Veterinária - CRMV/RJ 13012