



**PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
DOUTORADO EM FISIOPATOLOGIA E SAÚDE ANIMAL**

GLAUCIA PRADA KANASHIRO

**LEVOBUPIVACAÍNA EPIDURAL ASSOCIADA AO SUFENTANIL OU FENTANIL
PARA CESARIANA EM CADELAS DE RAÇAS BRAQUICEFÁLICAS: EFEITOS
MATERNOS E NEONATAIS**

GLAUCIA PRADA KANASHIRO

**LEVOBUPIVACAÍNA EPIDURAL ASSOCIADA AO SUFENTANIL OU FENTANIL
PARA CESARIANA EM CADELAS DE RAÇAS BRAQUICEFÁLICAS: EFEITOS
MATERNOS E NEONATAIS**

Defesa de tese apresentada à Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação, Universidade do Oeste Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor – Área de concentração: Fisiopatologia e Saúde Animal

Orientadora:
Dra. Renata Navarro Cassu

636.089 796 Kanashiro, Glauca Prada.
K16l Levobupivacaína epidural associada ao sufentanil ou
fentanil para cesariana em cadelas de raças
braquicefálicas: efeitos maternos e neonatais / Glauca
Prada Kanashiro. – Presidente Prudente, 2021.
79f.: il.

Dissertação (Doutorado em Fisiopatologia e Saúde
Animal) - Universidade do Oeste Paulista – Unoeste,
Presidente Prudente, SP, 2021.

Bibliografia.
Orientador: Renata Navarro Cassu.

1. Peridural. 2. Cão. 3. Neonato 4. Glicemia. I. Título.

GLAUCIA PRADA KANASHIRO

**LEVOBUPIVACAÍNA EPIDURAL ASSOCIADA AO SUFENTANIL OU FENTANIL
PARA CESARIANA EM CADELAS DE RAÇAS BRAQUICEFÁLICAS : EFEITOS
MATERNOS E NEONATAIS**

Defesa de tese apresentada à Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação, Universidade do Oeste Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutora – Área de concentração: Fisiopatologia e Saúde Animal

Presidente Prudente, 20 de Abril de 2021.

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Renata Navarro Cassu - Orientadora
Universidade do Oeste Paulista – Unoeste
Presidente Prudente-SP

Profa. Dra. Rosa Maria Barilli Nogueira
Universidade do Oeste Paulista – Unoeste
Presidente Prudente -SP

Prof. Dr. Felipe Rydygier de Ruediger
Universidade do Oeste Paulista – Unoeste
Presidente Prudente -SP

Prof. Dr. Stélio Pacca Loureiro Luna
Universidade Estadual Paulista -Unesp
Botucatu - SP

Prof. Dr. André Leguthe Rosa
Oncocane Veterinária
São Paulo - SP

DEDICATÓRIA

A minha mãe Neusa Prada Garcia...

Com todo o meu amor!

AGRADECIMENTOS

As minhas pacientes gestantes que foram tão amáveis em um momento tão delicado de suas vidas.

Ao meu esposo, Marcelo e minhas filhas Kamilla e Gabrielle que fazem tudo parecer mais “leve” e deixam o caminho sempre florido.

A professora e orientadora Renata Navarro Cassu, pela qual tenho muita admiração e respeito. Muito obrigada por toda orientação, paciência, ensinamentos e companheirismo, não somente durante o doutorado, mas por todo o tempo em que trabalhamos juntas.

A Camila Menosi Suesa Lima, ex-aprimorada de Anestesiologia Veterinária, companheira dedicada e comprometida. Muitos méritos desse trabalho eu devo a ela.

A professora Rejane Batista Brinholi pela realização da ultrassonografia nas pacientes e no auxílio nas tomadas de decisões.

Ao professor Gabriel Montoro Nicácio, cirurgião impecável e atencioso, por todas as cirurgias fora de hora.

A professora Rosa Maria Barilli Nogueira, coordenadora do Curso de Medicina Veterinária pelo incentivo.

A toda equipe do setor de Clínica Cirúrgica de Pequenos Animais do Hospital Veterinário.

Agradeço a toda equipe da pós-graduação.

A Universidade do Oeste Paulista pela infraestrutura disponibilizada para o desenvolvimento do projeto, mas principalmente por todo apoio e confiança.

“O mundo não é dos espertos. É das pessoas honestas e verdadeiras. A esperteza um dia é descoberta e vira vergonha. A honestidade se transforma em exemplo para as próximas gerações. Uma corrompe a vida; a outra enobrece a alma”

(Chico Xavier)

RESUMO

Levobupivacaína epidural associada ao sufentanil ou fentanil para cesariana em cadelas de raças braquicefálicas: efeitos maternos e neonatais

Objetivou-se avaliar a eficácia e a segurança da adição de fentanil ou sufentanil a levobupivacaína na anestesia epidural para realização de cesariana eletiva em cadelas braquicefálicas. O protocolo anestésico consistiu de morfina intramuscular (0,2 mg/kg), com posterior administração intravenosa de propofol, em dose suficiente para a realização da punção do espaço lombo-sacro. As cadelas foram distribuídas aleatoriamente em dois tratamentos, sendo efetuada administração epidural de levobupivacaína 0,5% com vasoconstrictor (1 mg/kg) em associação ao fentanil (2,5 µg/kg; GLF: n=9) ou ao sufentanil (1 µg/kg; GLS: n = 11). As parturientes foram monitoradas com relação às variáveis cardiovasculares, respiratórias e hemogasométricas no período perioperatório. Amostras de sangue do cordão umbilical foram colhidas antes da secção do cordão umbilical, para mensuração dos gases sanguíneos, do lactato, da glicemia e do pH. A resposta neurológica reflexa e o escore Apgar neonatal foram mensurados aos 5 e 60 minutos após o nascimento. A taxa de mortalidade neonatal foi registrada durante 48 horas após o nascimento. Os dados foram submetidos à análise variância, teste de Tukey, teste de Mann-Whitney, teste de Friedman, teste exato de Fisher e correlação de Spearman ($P < 0,05$). Os parâmetros cardiorrespiratórios maternos mantiveram-se estáveis durante todo o procedimento anestésico em ambos os grupos. Os valores médios do pH umbilical foram inferiores a 7.2 em ambos os grupos, com incidência de acidemia ($pH < 7$) em 14% e 4% no GLF e GLS, respectivamente. A resposta reflexa neurológica não diferiu entre os grupos, contudo o percentual de neonatos classificados com viabilidade alta no Apgar escore foi superior no GLS ($P = 0,007$). A taxa de mortalidade neonatal não diferiu entre os grupos ($P = 0,11$), sendo registrados 4 óbitos no GLF e nenhum no GLS. Ambos os protocolos anestésicos conferiram segurança materno-fetal representando uma alternativa para cesariana canina. Contudo, a adição do fentanil foi associada à maior depressão neonatal nos primeiros 5 minutos após o nascimento.

Palavras-chave: Apgar escore. Cesárea. Cão. Neonato. Peridural. Lactato. Glicemia.

ABSTRACT

Epidural levobupivacaine combined with sufentanil or fentanyl to canine cesarean section in brachycephalic breeds: maternal and neonatal effects

The aim of this study was to evaluate the maternal and neonatal effects of lumbosacral epidural administration of levobupivacaine combined with sufentanil or fentanyl in brachycephalic dogs undergoing elective cesarean section. The anesthetic protocol consisted of intramuscular morphine (0.2 mg/kg), followed by an intravenous bolus of propofol, in a dose sufficient to allowed the puncture of the lumbosacral space. The dogs were randomly allocated to receive 0.5% levobupivacaine (1 mg/kg) plus fentanyl (2.5 µg/kg; GLF:n = 9) or sufentanil (1 µg/kg; GLS: n = 11). Maternal cardiovascular and respiratory parameters were monitored prior to anesthetic procedure (baseline) and at specific time points during surgery. Maternal arterial and cord umbilical venous blood gases and pH were measured immediately prior to uterine delivery. Neonatal health was evaluated using a modified Apgar score and by the assessment of suction, dorsal flexion, withdrawal and anogenital reflexes at 5 and 60 minutes after birth. Puppies' survival rate was recorded until 48 hours after birth. Data were analyzed using ANOVA, Tukey's test, Mann-Whitney test, Friedman's test, Fisher's exact test and Spearman's correlation ($P < 0.05$). Maternal cardiovascular and respiratory variables were remained stable in both treatment groups. The mean umbilical pH was lower than 7.2 in both groups, with an incidence of acidemia ($pH < 7$) of 14% and 4% in GLF and GLS, respectively. Significantly higher umbilical lactate concentration was observed in GLF. The neurological reflex response did not differ between groups, however the percentage of neonates classified as having high viability in the Apgar score was higher in the GLS ($P = 0.007$). The neonatal mortality rate did not differ between groups ($P = 0.11$), with 4 deaths recorded in the GLF and none in the GLS. Both anesthetic protocols provided maternal-fetal safety, representing an alternative to canine cesarean section. However, the addition of fentanyl was associated with greater neonatal depression in the first 5 minutes after birth.

Keyword: Apgar score. Cesarean section. Dog. Newborn. Epidural. Lactate. Blood glucose.

SUMÁRIO

ARTIGO CIENTÍFICO 1.....	10
ARTIGO CIENTÍFICO 2.....	38
ANEXO 1 NORMAS DA REVISTA JOURNAL OF VETERINARY PHARMACOLOGY AND THERAPEUTICS.....	52
ANEXO 2 NORMAS DA REVISTA THERIOGENOLOGY.....	61

1 **ARTIGO CIENTÍFICO 1**

2 **Eficácia clínica da anestesia epidural com levobupivacaína associada ao fentanil ou**
3 **sufentanil para cesariana eletiva canina.**

4 Kanashiro, G.P.^{a,b}, Lima, C.M.S.L.^b; Nicácio, I.P.G.A.^b; Nicácio, G.M.^a, Ferreira, G.M.^a;
5 Brinholi, R.B.^c; Cassu, R.N.^{a,b}.

6 ^aDepartamento de Cirurgia e Anestesiologia, Faculdade de Ciências Agrárias, Curso de Medicina
7 Veterinária, Universidade do Oeste Paulista (UNOESTE), Presidente Prudente, Brasil

8 ^bPrograma de Pós Graduação em Ciência Animal – Faculdade de Ciências Agrárias -
9 Universidade do Oeste Paulista (UNOESTE), Presidente Prudente, Brasil.

10 ^cDepartamento de Diagnóstico por Imagem, Faculdade de Ciências Agrárias, Curso de Medicina
11 Veterinária, Universidade do Oeste Paulista (UNOESTE), Presidente Prudente, Brasil

12

13 Correspondência: Renata N. Cassu, Departamento de Cirurgia e Anestesiologia Veterinária,
14 Faculdade de Medicina Veterinária, UNOESTE, Presidente Prudente, Brasil.

15 E-mail: navarro@unoeste.br

16

17 **Resumo**

18 Objetivou-se avaliar a eficácia clínica da adição de fentanil ou sufentanil na anestesia epidural
19 com levobupivacaína para realização de cesariana eletiva em cadelas braquicefálicas. Após a
20 pré-medicação com morfina e indução anestésica com propofol, vinte cadelas foram anestesiadas
21 por via epidural lombo-sacra com levobupivacaína 0,5% (1 mg/kg) associada ao fentanil (2,5
22 µg/kg; GLF: n=9) ou sufentanil (1 µg/kg; GLS: n=11). No período perioperatório, as parturientes
23 foram monitoradas em relação aos parâmetros cardiorrespiratórios. A qualidade anestésica foi
24 avaliada por sistema de escore, sendo realizada suplementação com propofol, em caso de
25 anestesia insuficiente. A vitalidade e a taxa de mortalidade neonatal foram registradas. Os dados
26 foram analisados com ANOVA, teste de Tukey, teste de Mann-Whitney, teste de Friedman e
27 teste exato de Fisher ($p < 0,05$). Durante a cirurgia, suplementação anestésica foi necessária em
28 33% e 18% das cadelas no GLF e GLS, respectivamente ($p = 0,61$). A vitalidade neonatal foi
29 comparável entre os grupos, com exceção do Apgar escore, que foi inferior no GLF cinco
30 minutos após o nascimento ($p = 0,004$). A taxa de mortalidade não diferiu entre os grupos ($p =$
31 $0,11$). Ambos os protocolos anestésicos conferiram segurança materno-fetal, representando uma
32 alternativa para cesariana canina.

33 Palavra-chave: Anestesia extradural. Cesariana. Cão. Opióides lipofílicos.

34 **1. INTRODUÇÃO**

35 A realização de cesariana eletiva em raças com alta prevalência de distocia materna e fetal,
36 como Buldogue Francês e Buldogue Inglês (Wydooghe, Bergmans, Rijsselaere & Van Soom,
37 2013), tem sido frequente na rotina obstétrica canina, devido ao elevado risco de complicações
38 durante o parto normal (Batista et al., 2014).

39 Normalmente, a cesariana é realizada com a utilização da anestesia geral inalatória
40 (Martin-Flores et al., 2019; Groppetti et al., 2019), sendo pouco frequente o emprego da
41 anestesia epidural na espécie canina. Contudo, a simplicidade dessa técnica, bem como a mínima
42 exposição dos fetos aos fármacos e manutenção da consciência materna representam algumas
43 das vantagens da anestesia epidural em relação à geral (Luna et al., 2004). No estudo realizado
44 por Vilar et al. (2018), foi observada maior vitalidade neonatal e melhor qualidade anestésica para
45 realização de cesariana em cadelas mantidas sob anestesia epidural associada ao propofol em
46 relação ao uso isolado de propofol ou sevoflurano. No entanto, a impossibilidade da intubação
47 traqueal materna, bem como o risco de hipotensão intraoperatória são fatores que podem limitar
48 o uso dessa técnica na cesariana canina (Vilar et al., 2018).

49 Nos estudos publicados até a data vigente com foco na utilização da epidural na cesariana
50 canina, os anestésicos locais empregados foram a lidocaína ou a bupivacaína (Luna et al., 2004,
51 Vilar et al., 2018, Martin-Flores et al., 2019). Porém, a levobupivacaína apresenta elevada ligação
52 às proteínas plasmáticas, resultando em baixa transferência placentária (Agrawal, Asthana,
53 Sharma, & Gupta, 2016). Ademais, a levobupivacaína está associada a menores efeitos
54 cardiotoxícos e neurotóxicos, além de determinar menor duração de bloqueio motor quando
55 comparada à bupivacaína racêmica (Leone, Di Cianni, Casati & Fanelli, 2008), conferindo
56 maior segurança materno-fetal para cesariana (Levy, 2006). Contudo, o uso isolado de
57 anestésicos locais nem sempre resulta em estabilidade hemodinâmica, sedação e analgesia
58 satisfatória para realização de procedimentos cirúrgicos intra-abdominais (Robertson, 2016).
59 Dessa forma, a associação de anestésicos locais aos opioides tem sido uma conduta frequente
60 tanto na medicina humana (Misirlioglu, Sivrikaya, Hanci & Yalcinkaya, 2013) como na
61 veterinária (Almeida et al., 2007).

62 A adição de opioides altamente lipofílicos na anestesia epidural tem sido descrita na
63 obstetrícia humana, com algumas vantagens em relação aos opioides hidrofílicos, pois resultam

64 em rápido período de latência, com incremento significativo na analgesia intraoperatória, além
65 de curto período de ação, reduzindo os riscos de depressão respiratória neonatal (Agrawal,
66 Asthana, Sharma, & Gupta, 2016). Entre os opioides lipofílicos, o fentanil e o sufentanil são os
67 mais empregados para cesariana em mulheres, sendo demonstrados mínimos efeitos adversos
68 materno-fetais, além de adequada analgesia intraoperatória após a administração desses fármacos
69 por via epidural ou intratecal (Bremerich et al., 2007; D'Ambrosio et al., 2013; Misirlioglu,
70 Sivrikaya, Hanci & Yalcinkaya, 2013). Dados provenientes de um estudo de revisão sistemática
71 e metaanálise, em mulheres em trabalho de parto, demonstraram que a adição do fentanil na
72 anestesia combinada raqui-peridural foi relacionada a menores Apgar escores neonatais aos 5
73 minutos após o nascimento em relação ao sufentanil (Zhi, 2020).

74 Na literatura vigente, há escassez de informação com relação à administração de opioides
75 por via epidural na cesariana canina. Um estudo retrospectivo relatou que a adição de fentanil
76 ou buprenorfina à bupivacaína por via epidural reduziu a necessidade de analgesia suplementar
77 intraoperatória e não aumentou a incidência de hipotensão em relação ao tratamento controle em
78 cadelas submetidas à cesariana (Martin-Flores et al., 2018). Recentemente, um estudo comparou
79 os efeitos da administração da metadona por via epidural à intramuscular, sendo demonstrado
80 resultados semelhantes em termos de analgesia e parâmetros cardiorrespiratórios maternos
81 (Romagnoli et al. 2018).

82 O objetivo do atual estudo foi comparar a qualidade anestésica e os efeitos
83 cardiorrespiratórios da associação da levobupivacaína ao fentanil ou sufentanil em cadelas de
84 raças braquicefálicas submetidas à cesariana. Adicionalmente, objetivou-se comparar o impacto
85 das duas associações farmacológicas propostas sobre a viabilidade e mortalidade neonatal. A
86 hipótese é de que ambos os protocolos são seguros e eficientes para realização da cesariana,
87 contudo a adição do sufentanil na anestesia epidural proporciona menor depressão neonatal
88 quando comparada ao fentanil.

89 2. MATERIAL E MÉTODOS

90 2.1. Animais

91 Após aprovação da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA), sob o protocolo
92 número 3874/2018, em estudo clínico, prospectivo e aleatório foram avaliadas 20 cadelas
93 gestantes, provenientes da rotina cirúrgica do Hospital Veterinário da Universidade do Oeste
94 Paulista. Os tutores assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido concordando com a
95 participação no estudo.

96 Os animais estudados foram selecionados mediante exames físico e laboratorial
97 (hemograma, dosagem sérica de ureia, creatinina, enzimas alaninoaminotransferase,
98 aspartatoaminotransferase e fosfatase alcalina), além de acompanhamento ultrassonográfico.
99 Foram selecionadas para o estudo apenas cadelas com hemograma e perfil bioquímico sérico
100 dentro dos limites de referência para a espécie. A opção pela cesariana foi feita de comum
101 acordo com os proprietários com base na história pregressa de distocia, malformação congênita
102 do trato genital da mãe (hiperplasia vaginal ou septo) e preocupações quanto a complicações
103 maternas e neonatais relacionadas à raça. A cesariana foi realizada após a confirmação
104 ultrassonográfica da viabilidade e maturidade fetal verificada pela frequência cardíaca fetal,
105 diâmetro biparietal, mobilidade digestiva e desenvolvimento renal. Critérios de exclusão: sinais
106 de sofrimento fetal (frequência cardíaca fetal < 180 bpm) ao exame ultrassonográfico,
107 diminuição do líquido amniótico e falha na técnica epidural.

108

109 2.2. Procedimento anestésico

110 Após a confirmação da necessidade da intervenção cirúrgica pelo exame físico e
111 ultrassonográfico, foi realizada a medicação pré-anestésica com 0,2 mg/kg de morfina (Dimorf
112 Cristália Produtos Químicos e Farmacêuticos Ltda) pela via intramuscular (i.m.). Vinte minutos
113 após, foi realizada a cateterização da veia cefálica, pela qual foi iniciada a fluidoterapia com
114 Ringer lactato (5 mL/kg/h), sendo mantida durante todo o procedimento cirúrgico. Para

115 realização da punção epidural, foi administrado propofol (Propovan 1%, Cristália Produtos
116 Químicos e Farmacêuticos Ltda) através do acesso venoso supracitado, em dose suficiente para
117 obtenção de imobilização e relaxamento muscular da paciente. As cadelas foram posicionadas
118 em decúbito esternal, estendendo-se os membros pélvicos cranialmente, seguindo-se a palpação
119 da depressão entre a última vértebra lombar e a primeira sacral, e posterior punção do espaço
120 lombo-sacro mediante um cateter 22-G, cujo correto posicionamento foi confirmado pela
121 aspiração de uma gota de anestésico depositada no canhão da agulha. Em delineamento
122 encoberto, as cadelas foram aleatoriamente distribuídas em dois tratamentos: GLS (n=11):
123 administração epidural de levobupivacaína (1 mg/kg; Novabupi 0,5% com vasoconstrictor,
124 Cristália Produtos Químicos e Farmacêuticos Ltda) associada ao sufentanil (1 µg/kg; Fastfen,
125 Cristália Produtos Químicos e Farmacêuticos Ltda); GLF (n=9): administração epidural de
126 levobupivacaína (1mg/kg) associada ao fentanil (2,5 µg/kg; Fentanest, Cristália Produtos
127 Químicos e Farmacêuticos Ltda). Em ambos os tratamentos, os fármacos foram diluídos em
128 solução salina (0,9%) para obtenção de volume final de 0,25 mL/kg. O antiinflamatório não
129 esteroideal, meloxicam (0,2 mg/kg, i.v.; Movatec Boehringer Ingelheim do Brasil Química e
130 Farmacêutica Ltda) foi administrado cinco minutos antes da incisão cirúrgica.

131

132 2.3 Procedimento cirúrgico

133 O procedimento cirúrgico foi realizado pelo mesmo cirurgião, com utilização da técnica
134 convencionalmente empregada para cesariana. Após a incisão pré-retro-umbilical na linha alba,
135 os cornos uterinos foram expostos, possibilitando a identificação das vesículas gestacionais,
136 seguindo-se a incisão uterina no local de menor vascularização, para evitar a contaminação por
137 sangue. Após a retirada dos neonatos, o trato respiratório foi limpo usando uma compressa
138 cirúrgica esterilizada e cada um deles foi identificado com uma pulseira colorida adaptada no
139 membro torácico direito, de acordo com a ordem de remoção dos cornos uterinos. A síntese da

140 parede uterina foi realizada utilizando-se a sutura simples contínua de Lambert com fio de nylon
141 2-0, na parede muscular foi utilizada sutura simples continua com fio de nylon 2-0, o subcutâneo
142 foi suturado com vicryl nº 2 com sutura de Cushing e a pele foi suturada com Colchoeiro com
143 fio de nylon monofilamentoso de diâmetro compatível com o peso e o tamanho do animal.

144

145 2.4 Monitoramento da parturiente

146 Durante o procedimento cirúrgico, a frequência cardíaca (FC) e a saturação de pulso de
147 oxigênio na hemoglobina (SpO₂) foram monitoradas através do oxímetro de pulso (DX 2020,
148 Dixtal Biomédica Indústria e Comércio Ltda), cujo sensor foi posicionado na mucosa oral do
149 lábio superior, a frequência respiratória (*f*) e a concentração final expirada de dióxido de carbono
150 (ETCO₂) foram aferidas através da adaptação do sensor nasal do capnógrafo (Vamos plus) na
151 narina das gestantes. A pressão arterial sistólica não invasiva (PAS), foi avaliada por meio de
152 Doppler vascular (Doppler 841-A, Parks Medical Electronics), com adaptação do manguito no
153 membro torácico direito, respeitando-se uma relação de 30 a 40% entre a largura do manguito e
154 a circunferência do membro. Esses parâmetros foram avaliados em seis momentos: T0: antes da
155 MPA; T1: 5 minutos após a injeção epidural, T2: incisão da linha alba, T3: exposição do útero;
156 T4: remoção dos neonatos; T5: sutura da cavidade abdominal. Durante a cirurgia, a qualidade da
157 anestesia epidural foi avaliada utilizando um sistema de escore descritivo simples adaptado de
158 Zilberstein et al. (2008), onde 1 = nenhum movimento, 2 = movimento superficial; 3 =
159 movimento intenso; 4 = movimentos repetidos, sendo realizada suplementação com propofol
160 nas cadelas com escore ≥ 2 . Em casos de falha na técnica epidural (ausência de relaxamento do
161 esfíncter anal), o animal foi submetido à anestesia geral inalatória e excluído do estudo.

162 A duração do bloqueio sensitivo foi avaliada com estímulos nociceptivos somáticos,
163 aplicados a cada 15 minutos após o término da cirurgia, na prega interdigital dos membros
164 pélvicos. O estímulo foi aplicado com a pinça Kelly, cujas ranhuras foram protegidas por

165 borracha, sendo realizado o pinçamento da prega interdigital até a primeira cremalheira da pinça
166 ou até resposta positiva do animal, detectada pelo movimento de retirada do membro,
167 vocalização e tentativa de morder (Almeida, Fantoni, Mastrocinque, Tatarunas, Imagawa, 2007).
168 A duração do bloqueio motor foi avaliada por sistema de escore, onde: 1 = resposta motora
169 normal; habilidade para andar, ficar em pé e movimentar os membros pélvicos; 2 = bloqueio
170 motor parcial, presença de ataxia; 3 = completo bloqueio motor; não fica em pé, paralisia dos
171 membros pélvicos (Gómez de Segura, Vazquez, De Miguel, 2009). Essa mensuração foi
172 realizada a cada 30 minutos após o término da cirurgia, até o completo retorno do animal.

173

174 2.5 Monitoramento dos neonatos

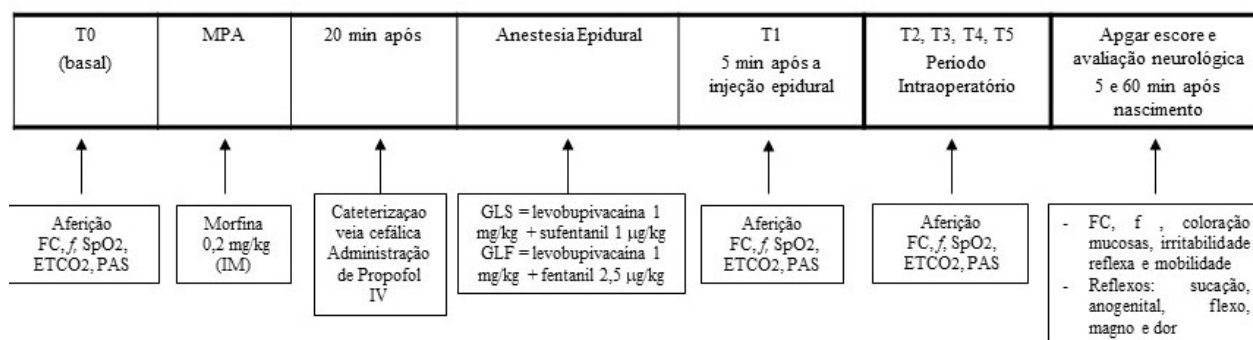
175 A viabilidade neonatal foi avaliada, pelo mesmo avaliador, durante a primeira hora após o
176 nascimento, com mensurações realizadas aos 5 e 60 minutos, utilizando-se um modelo de Apgar
177 escore modificado, conforme descrito em estudos prévios (Veronessi et al., 2009; Batista et al.,
178 2014) e a avaliação da resposta neurológica reflexa dos neonatos (Luna et al., 2004).

179 Para a avaliação do Apgar escore foram mensurados: FC, f , coloração das mucosas,
180 irritabilidade reflexa e mobilidade. Cada item foi pontuado com escores de 0-2.

181 A FC foi avaliada mediante estetoscópio, sendo classificada de acordo com o número de
182 batimentos por minuto (bpm): $FC > 180$ bpm = escore 2; FC entre 120 – 180 bpm = escore 1; FC
183 < 120 bpm = escore 0). Para avaliação da f , foi considerado o número de movimentos torácicos
184 em um minuto (mpm): $f > 15$ mpm = escore 2; f entre 6 – 15 mpm = escore 1; $f < 6$ mpm = escore
185 0. A coloração de mucosas foi avaliada pela inspeção direta da mucosa oral, onde 0 = cianótica
186 ou pálida; 1 = congesta; 2 = normal). O reflexo de irritabilidade foi avaliado pela resposta do
187 neonato perante uma leve compressão na extremidade da pata, onde 0 = ausência de vocalização
188 e resposta ao estímulo; 1 = vocalização e resposta fraca; 2 = vocalização intensa e reflexo
189 imediato. O somatório dos itens resultou em uma pontuação máxima de 10 pontos. A vitalidade

do neonato foi julgada em função da pontuação total obtida: 0-3 (vitalidade fraca), 4-6 (vitalidade moderada) e 7- 10 (vitalidade normal). A mobilidade foi avaliada pela observação de movimentos espontâneos do neonato, onde 0 = ausente ou pouca; 1 = alguns movimentos; 2 = movimentos fortes e ativos (Veronessi et al., 2009). Na avaliação neurológica, foram testados os reflexos de sucção, anogenital, flexão, magno e dor. O reflexo da sucção foi avaliado inserindo-se a ponta de um cotonete na boca do neonato, observando-se a resposta de sucção. O reflexo anogenital foi avaliado através do toque com algodão nos órgãos genitais, observando-se a micção. O reflexo magno foi avaliado com o neonato mantido em decúbito dorsal, rotacionando-se a cabeça para um lado, a resposta normal esperada seria a extensão do membro contralateral e flexão do mesmo membro que foi girado. Para o reflexo de flexão, o neonato foi mantido em posição vertical apoiado pelo pescoço, e a resposta esperada seria a de flexão da coluna vertebral. Todos os reflexos foram avaliados como ausentes ou presentes (Luna et al., 2004).

A sequência experimental está sumarizada na Figura 1.



203

204 2.4 Análise Estatística

205 Considerando-se uma redução de 2 pontos no Apgar score do GLF em relação ao GLS e
 206 adotando-se como parâmetros adicionais, a proporção entre grupos de 1:1, poder do teste de
 207 80%, nível alfa de 5% e desvio padrão de 3 pontos, estimou-se que seriam necessários no
 208 mínimo 35 neonatos em cada grupo. Com base em dados previamente relatados, o número médio
 209 de neonatos/fêmea braquicefálica é 7 (Batista et al., 2014). Dessa forma, seriam necessárias no

210 mínimo 5 cadelas em cada grupo. O desvio-padrão foi estimado com base em um estudo piloto.
211 Os cálculos foram realizados com auxílio do software Biostat 5.3.

212 Os dados foram submetidos ao teste de normalidade Shapiro-Wilk para identificar a sua
213 distribuição. Para comparação entre grupos dos dados (peso e idade materna, FC fetal pré-
214 operatória, dose de propofol, período decorrido entre a indução anestésica e a remoção dos fetos,
215 tempo cirúrgico, duração do bloqueio sensitivo/motor e variáveis hemogasométricas) foi
216 empregado o teste t não pareado. O somatório dos escores do Apgar, os escores de dor e de
217 sedação foram avaliados pelo teste Mann-Whitney para comparação entre grupos, enquanto que
218 o teste de Friedman foi empregado para avaliação ao longo do tratamento para um mesmo grupo,
219 com contrastes verificados pelo teste de Dunn. Para comparar a incidência de suplementação
220 anestésica intraoperatória, a incidência de neonatos com diferentes categorias de Apgar score, a
221 prevalência de neonatos com reflexos neurológicos presentes e a incidência de mortalidade
222 neonatal foi utilizado o teste exato de Fisher. O nível de significância utilizado em todos os testes
223 foi de 5%. Foi utilizado o programa InStat Graphpad 5,1 para a análise estatística.

224

225 3. RESULTADOS

226 Foram selecionadas 22 parturientes para participação no estudo, contudo duas foram
227 excluídas, devido falha na técnica epidural. Foram avaliados 97 filhotes proveniente de 20
228 fêmeas de raças braquicefálicas [Buldogue Francês (GLF, n=5; GLS, n=6), Buldogue Inglês
229 (GLF, n=4; GLS, n=4, Pug (GLS, n=1)].

230 Não houve diferença entre os tratamentos em relação à idade, peso, FC fetal pré-operatória,
231 dose de indução do propofol, tempo entre a indução anestésica e remoção dos fetos, tempo de
232 cirurgia, duração do bloqueio sensitivo e motor ($P < 0,05$) (Tabela 1).

233 As variáveis cardiorrespiratórias estão sumarizadas na figura 1 e 2. A FC e a PAS, a f e
234 a $ETCO_2$ não diferiram entre os tratamentos ao longo do tempo, com exceção dos momentos
235 basal e T1, nos quais a PAS ($P = 0,0037- 0,0263$) e a f ($P = 0,0097- 0,034$) foram mais baixas no

236 GLS, enquanto a $ETCO_2$ ($P = 0,0085-0,0223$) foi mais elevada em relação ao GLF. A SpO_2 foi
237 inferior no T1 em relação aos momentos T3, T4 e T5 no GLF. Na comparação entre grupos,
238 valores superiores de SpO_2 foram observados no GLS no momento basal ($P = 0,030$). Em ambos
239 os grupos, houve redução da FC, da PAS e da f nos momentos T2, T3, T4 e T5 em relação aos
240 valores basais ($P < 0,0001$). No grupo GLF houve aumento da $ETCO_2$ nos momentos T2, T3, T4
241 e T5 em relação aos valores basais ($P = 0,0186$). Durante a cirurgia, houve necessidade de
242 suplementação anestésica com propofol em 25% das parturientes, sendo efetuado um *bolus* de
243 propofol (dose de 2,5 a 5 mg/kg) em 3 e 2 cadelas do GLF e GLS, respectivamente ($P = 0,61$).

244 Em ambos os grupos, houve incremento no Apgar score e na resposta neurológica aos 60
245 minutos em relação aos 5 minutos de avaliação. No grupo GLS, o Apgar score foi superior aos
246 5 minutos em relação ao GLF ($P = 0,004$) (Figura 3). Aos 5 minutos de avaliação, a incidência
247 de fetos com Apgar entre 0-3 foi inferior no GLS, enquanto que entre 7-10 foi superior em
248 relação ao GLF ($P = 0,047- 0,007$) (Tabela 2). Na comparação das diferentes categorias do
249 Apgar score, diferença significativa entre os grupos foi constatada aos 5 minutos com relação à
250 frequência respiratória, coloração da mucosa, mobilidade e irritabilidade reflexa ($P < 0,05$)
251 (Tabela 3). Com relação à resposta neurológica não houve diferença entre os grupos (Tabela 4).

252 A incidência de mortalidade não diferiu entre os grupos ($P = 0,11$), sendo registrados
253 quatro óbitos no grupo GLF na primeira hora após o nascimento, dos quais um apresentava
254 aparente má formação congênita, enquanto nos outros três a causa *mortis* foi desconhecida. Os
255 quatro fetos foram provenientes da mesma gestante da raça Buldogue Inglês.

256

257 4. DISCUSSÃO

258 A hipótese do atual estudo foi parcialmente confirmada, cujos resultados demonstraram que
259 a anestesia epidural com levobupivacaína associada ao sufentanil ou fentanil promoveu efetiva
260 dessensibilização para realização de cesariana em 75% das gestantes, com mínimas alterações

261 cardiorrespiratórias. Paralelamente, com base no Apgar score, a adição do sufentanil resultou
262 em maior vitalidade neonatal aos 5 minutos após o nascimento quando comparado ao fentanil.

263 Os dois protocolos anestésicos foram comparáveis em relação à qualidade de analgesia
264 intraoperatória e taxa de sobrevivência neonatal. Resultados semelhantes foram relatados na
265 cesariana de mulheres anestesiadas com associação de fentanil ou sufentanil a diferentes
266 anestésicos locais pela via epidural ou intratecal (Agrawal, Asthana, Sharma & Gupta, 2016;
267 Braga et al., 2014; Cohen et al., 1996). Não há dados na literatura comparando os efeitos da
268 adição de sufentanil ou fentanil na anestesia epidural para realização de cesariana em cadelas. No
269 atual estudo, a 82% e 67% das cadelas do GLS e GLF, respectivamente, apresentaram
270 comportamento calmo e sonolento durante todo o procedimento cirúrgico, sendo necessária
271 suplementação anestésica intraoperatória em 18% e 33% de cada grupo, sugerindo que ambos os
272 protocolos anestésicos foram suficientes para inibir o processo nociceptivo induzido pela
273 cesariana, na maioria das gestantes.

274 Com relação aos parâmetros maternos, mínimas alterações cardiovasculares e respiratórias
275 foram observada em ambos os tratamentos. A anestesia epidural tem sido associada à redução da
276 pressão arterial e da frequência cardíaca devido bloqueio autonômico simpático (Bosmans et al.,
277 2011; Mercier et al., 2007). No atual estudo, em ambos os tratamentos houve redução da PAS e
278 da FC em relação ao momento basal após a injeção epidural, contudo os valores se mantiveram
279 dentro dos limites fisiológicos para espécie. Hipotensão (PAS < 90 mmHg) intraoperatória foi
280 detectada em apenas uma cadela do GLS após a remoção dos fetos, sendo transitória e
281 responsiva ao incremento da fluidoterapia. Contudo, taquipneia associada a baixos índices de
282 ETCO₂ foi observada em mais de 50% das cadelas de ambos os grupos no período pré-operatório
283 e nos primeiros 5 minutos após a injeção epidural. Durante a gestação ocorre uma elevação de
284 40% no volume corrente e de 10% na frequência respiratória, o que resulta em 50% de
285 incremento na ventilação pulmonar. Paralelamente, observa-se redução na capacidade residual

286 funcional, devido à compressão respiratória exercida pelo deslocamento cranial do diafragma
287 pelo útero gravídico (Meyer, 2007).

288 No atual estudo, a técnica anestésica escolhida foi a epidural, visando minimizar a
289 depressão materno-fetal durante a cesariana. Estudos prévios desenvolvidos em mulheres
290 submetidas à cesariana demonstraram que a técnica epidural utilizando-se diferentes anestésicos
291 locais determinou mínima alteração no fluxo sanguíneo uterino e no cordão umbilical, além de
292 poucas alterações cardiovasculares e neurológicas neonatais (Marquette, Mechas, Charest &
293 Rey, 1994; Morrow, Rolbin, Ritchie & Haley, 1989). Além disso, a escolha pela morfina na
294 medicação pré-anestésica, foi baseada em estudos prévios que observaram mínima depressão
295 neonatal, com a utilização de doses entre 0,2-0,3 mg/kg (Silva, Lucio, Veiga, Rodrigues &
296 Vannucchi, 2009, Batista et al., 2014). Visando menor estresse às parturientes, a punção do
297 espaço lombo-sacro foi realizada após a indução com propofol, conforme descrito por Crissiuma
298 et al. (2006). A dose média utilizada de propofol para indução da anestesia no presente estudo
299 não diferiu entre os grupos, sendo semelhante à reportada previamente em cadelas parturientes
300 (Crissiuma et al., 2006; Groppetti et al., 2010; Luna et al, 2004).

301 O propofol é um dos fármacos mais empregados na indução anestésica de cadelas
302 parturientes e tem sido associado à mínimas alterações materno-fetais (Doebeli, Michel,
303 Bettschart, Hartnack & Reichler, 2013; Groppetti et al., 2010), porém depressão
304 cardiorrespiratória neonatal pode ser detectada após o nascimento (Luna et al, 2004), cuja
305 magnitude está relacionada à dose e ao tempo transcorrido entre a indução anestésica e a
306 remoção dos fetos (Groppetti et al., 2010). Em cadelas submetidas à cesariana, a concentração
307 plasmática de propofol materna e placentária declinou ao longo do tempo, com redução
308 significativa aos 20 e 30 minutos, respectivamente, após a indução anestésica (Groppetti et al.,
309 2010). No atual estudo, o tempo médio transcorrido entre a indução da anestesia e a remoção
310 dos fetos foi de 55 ± 12 e 44 ± 14 minutos para o GLF e GLS, respectivamente. Esses achados

311 sugerem que no momento da remoção dos fetos a concentração placentária de propofol já teria
312 declinado, de modo a induzir poucos efeitos depressores neonatais. Todavia, não só a dose de
313 indução, mas também a suplementação intraoperatória com propofol pode interferir na
314 viabilidade neonatal. Gropetti et al. (2010) reportaram menor Apgar score aos 5 minutos após o
315 nascimento em neonatos caninos cujas mães necessitaram suplementação anestésica com
316 propofol durante a cesariana. Dessa forma, o maior requerimento intraoperatório de propofol no
317 grupo GLF, poderia ter contribuído para a redução do Apgar score aos 5 minutos, com
318 repercussão significativa na *f*, coloração da mucosa, mobilidade e reflexo de irritabilidade fetal.
319 Contudo, a análise estatística dos dados após a exclusão dos neonatos nascidos de gestantes que
320 receberam suplementação com propofol confirmou a diferença no Apgar score entre os grupos
321 aos 5 minutos após o nascimento (GLF = $4,6 \pm 2,1$; GLS = $5,7 \pm 2,0$, $P = 0.034$), sugerindo que
322 o efeito depressor do propofol não teve repercussão significativa na viabilidade neonatal.

323 No atual estudo, a dose de 2 $\mu\text{g}/\text{kg}$ fentanil foi escolhida, buscando a menor dose clínica
324 sugerida para utilização na espécie canina por via epidural, cuja recomendação é de 2-5 $\mu\text{g}/\text{kg}$
325 (Almeida et al., 2007; Martin-Flores et al., 2019). A dose empregada neste estudo foi inferior à
326 relatada por Silva et al. (2009), que observaram pouca depressão neonatal, sendo registrado aos 5
327 minutos após o nascimento Apgar score médio de $7,5 \pm 1$ em neonatos provenientes de cadelas
328 submetidas à cesariana emergencial, sob anestesia epidural com lidocaína associada a 3 $\mu\text{g}/\text{kg}$ de
329 fentanil. Devido à escassez de informação sobre a adição do sufentanil na anestesia epidural para
330 cesariana canina, no presente estudo foi empregada a dose de 1 $\mu\text{g}/\text{kg}$, visando trabalhar com
331 doses equipotentes desses opioides. Dados da obstetrícia humana demonstraram que a doses de
332 25 e 50 μg de sufentanil resultam em efeitos semelhantes às doses de 50 e 100 μg de fentanil,
333 implicando em uma relação de equivalência de 1:2 (Cohen et al., 1996; Madej & Strunin, 1989).
334 Não há dados na literatura com relação à transferência placentária de fentanil ou sufentanil na
335 espécie canina. Estudos prévios demonstraram maior transferência placentária de fentanil em

336 relação ao sufentanil em seres humanos e ovinos (Madej & Strunin, 1989; Palot, Visseaux &
337 Botmans, 1992; Vertommen, Marcus & Aken, 1995), fator que pode, pelo menos em parte,
338 justificar o menor Apgar score registrado no GLF aos 5 minutos após o nascimento. Em ovelhas
339 gestantes (135-140 dias), após a administração epidural lombo-sacra de 50 e 100 µg de fentanil,
340 o pico plasmático materno foi atingido após 60 e 45 minutos, com pico plasmático fetal aos 45 e
341 15 minutos, respectivamente, com declínio gradativo da concentração plasmática materno-fetal
342 até 180 minutos (Craft et al., 1984). Em estudo similar, a administração epidural de 50 µg
343 sufentanil em ovelhas gestantes, resultou em pico plasmático materno após 25 minutos, com
344 níveis indetectáveis no feto (Vertommen, Marcus & Aken, 1995). Resultados semelhantes foram
345 relatados em mulheres em trabalho de parto, cuja transferência placentária de fentanil foi
346 significativamente mais alta em relação ao sufentanil após administração epidural, cuja relação
347 concentração plasmática fetal/concentração plasmática materna foi de $0,54 \pm 0,24$ e $0,33 \pm 0,14$,
348 respectivamente (Palot, Visseaux & Botmans, 1992). Apesar do sufentanil ser mais lipossolúvel
349 que o fentanil, fator que determina rápida absorção sistêmica, a baixa transferência placentária
350 desse opioide pode ser justificada pelo seu alto grau de ligação às proteínas plasmáticas,
351 resultando em menor percentual de fármaco livre capaz de atravessar as barreiras biológicas
352 (Vertommen, Marcus & Aken, 1995).

353 Na literatura vigente, poucos estudos avaliaram os efeitos da anestesia epidural em
354 neonatos caninos. No atual estudo, apesar da maior depressão neonatal observada aos 5 minutos
355 no GLF, esse efeito foi transitório, visto que aos 60 minutos 89% dos neonatos foram
356 classificados com Apgar score acima de 7, sendo comparável ao índice de 94% detectado no
357 GLS. Esses resultados são semelhantes aos detectados em neonatos braquicefálicos provenientes
358 de cesariana eletiva, realizada sob anestesia inalatória (Batista et al., 2014). Com relação à
359 resposta neurológica, em ambos os grupos os escores aferidos aos 5 minutos foram inferiores aos
360 relatados por Luna et al. (2004), em estudo desenvolvido em cadelas submetidas à cesariana

361 anestesiadas com lidocaína por via epidural lombo-sacra. Contudo, no referido estudo, a
362 anestesia epidural foi realizada sem a utilização de opioides ou anestesia geral, fator que pode ter
363 contribuído para menor depressão fetal.

364 A incidência de mortalidade neonatal total no atual estudo foi de 4,1%, sendo similar à
365 reportada por Luna et al. (2004) e inferior à reportada por Batista et al. (2014), cuja taxa total de
366 mortalidade foi de 11,59% dos neonatos braquicefálicos provenientes de cesariana eletiva,
367 mantida sob anestesia geral inalatória. Tanto a raça, quanto o tamanho da ninhada podem ter
368 favorecido a mortalidade neonatal. Batista et al. (2014) relataram maior incidência de
369 mortalidade neonatal em buldogues inglês, bem como em ninhadas com mais de 5 fetos, com
370 incidência de 20,83% de mortalidade neonatal em ninhadas com 9 fetos ou mais. Assim, apesar
371 do óbito ter sido registrado apenas no grupo GLF, não é possível inferir que esse efeito seja
372 consequência direta do protocolo anestésico, uma vez que os quatro fetos que morreram foram
373 provenientes de uma ninhada de 9 fetos, cuja mãe era da raça Buldogue Inglês. Além disso,
374 dados provenientes de mulheres e ovelhas gestantes têm demonstrado mínimos efeitos na
375 circulação uterina e mínima depressão em neonatos provenientes de cesariana, cujas parturientes
376 foram tratadas com fentanil pela via epidural (Craft et al., 1984; Huang et al., 2019).

377

378 4.1 Conclusões

379 A anestesia epidural com levobupivacaína associada ao fentanil ou sufentanil foi efetiva e
380 segura para realização de cesariana eletiva em cadelas braquicefálicas. A adição do sufentanil foi
381 associada à maior proporção de neonatos com vitalidade normal aos 5 minutos após o
382 nascimento, além de índice de sobrevivência de 100% nas primeiras 48 horas após o nascimento.

383 **Agradecimentos**

384 Agradecemos aos tutores das parturientes pela confiança e a Universidade do Oeste Paulista por
385 todo apoio e incentivo aos estudos.

386 **Conflitos de interesse**

387 Os autores do estudo não apresentam conflito de interesses

388

389 **CONTRIBUIÇÃO DO AUTOR**

390 GPK: desenho do estudo, procedimento anestésico, avaliação dos neonatos e redação do
391 manuscrito. CMSL: cuidados perioperatórios, monitoração anestésica, tabulação dos dados.
392 IPGAN: cuidados pós-operatórios. GMN: procedimento cirúrgico. RBB: ultrassonografia das
393 gestantes. GMF: auxiliar do procedimento cirúrgico. RNC: desenho do estudo, análise estatística
394 e preparação do manuscrito. Todos os autores aprovaram o manuscrito final.

395

396 **ORCID**

397 Renata N. Cassu iD <http://orcid.org/0000-0003-0681-0285>

398 **REFERÊNCIAS**

399 Agrawal, A., Asthana, V., Sharma, J.P. & Gupta, V. (2016). Efficacy of lipophilic vs lipophobic
400 opioids in addition to hyperbaric bupivacaine for patients undergoing lower segment
401 caeserean section. *Anesthesia Essays Researches*,10, 420-4. doi.org. 10.4103/0259-
402 1162.176402

403 Almeida, T.F., Fantoni, D.T., Mastrocinque, S., Tatarunas, A.C. & Imagawa, V.H. (2007).
404 Epidural anesthesia with bupivacaine, bupivacaine and fentanyl, or bupivacaine and
405 sufentanil during intravenous administration of propofol for ovariohysterectomy in dogs.
406 *Journal American Veterinary Medicine Association*, 230, 45-51. doi.org.10.2460 /
407 javma.230.1.45.

408 Batista, M., Moreno, C., Vilar, J., Golding, M., Brito, C., Santana, M. & Alamo, D. (2014).
409 Neonatal viability evaluation by Apgar score in puppies delivered by cesarean section in two
410 brachycephalic breeds (English and French bulldog). *Animal Reproduction Science*, 146,
411 218-26. doi.org/10.1016/j.anireprosci.2014.03.003.

- 412 Bosmans T, Schauvliege S, Gasthuys F, Duchateau L, Steblaj B, Gadeyne C. & Polis, I. (2011).
413 Influence of a preload of hydroxyethylstarch 6% on the cardiovascular effects of epidural
414 administration of ropivacaine 0.75% in anaesthetized dogs. *Veterinary Anaesthesia*
415 *Analgesia*, 38, 494–504. doi.org 10.1111 / j.1467-2995.2011.00633.x.
- 416 Braga, A.F., Braga, F.S., Hirata, E.S., Pereira, R.I., Frias, J.A. & Antunes, I.F. (2014).
417 Association of lipophilic opioids and hyperbaric bupivacaine in spinal anaesthesia for elective
418 cesarean section. Randomized controlled study. *Acta Cirurgica Brasileira*, 29, 752-8.
- 419 Bremerich, D.H., Fetsch, N., Zwissler, B.C., Meininger, D., Gogarten, W. & Byhahn, C.
420 (2007). Comparison of intrathecal bupivacaine and levobupivacaine combined with opioids
421 for Caesarean section. *Curr Med Res Opin*, 23, 3047-54. doi.org.10.1185 /
422 030079907X242764.
- 423 Cohen, S., Amar, D., Pantuck, C.B., Pantuck, E.J., Goodman, E.J. & Leung, D.H.Y. (1996).
424 Epidural analgesia for labour and delivery: fentanyl or sufentanil? *Canadian Anaesthesia*,
425 43, 341-6.
- 426 Craft J.B. Jr, Robichaux A.G., Kim H.S., Thorpe, D.H., Mazel, P., William A., Woolf, B.S.
427 (1984). The maternal and fetal cardiovascular effects of epidural fentanyl in the sheep
428 model. *Obstetric Gynecologic*, 148(8), 1098-1103. doi:10.1016 / 0002-9378 (84) 90635-5
- 429 Crissiuma, A.L., Labarthe, N.V., Juppa, C.J., Mannarino, R., Soares, A.M.B., Gershony, L.C.
430 (2006). Analyzing blood gasometry at 3 time points of the fetal-neonatal transitional period
431 of dogs born by elective caesarean parturition. *International Journal of Applied Research*
432 *Veterinary Medicine*, 4(1),15-22.
- 433 D'Ambrosio, A., Spadaro, S., Mirabella, L., Natale, C., Cotoia, A., De Capraris, A., Menga, R.,
434 Salatto, P., Malvasi, A., Brizzi, A., Tinelli, A., Dambrosio, M. & Cinnella, G. (2013). The
435 anaesthetic and recovery profile of two concentrations (0.25% and 0.50%), of intrathecal
436 isobaric levobupivacaine for combined spinal-epidural (CSE) anaesthesia in patients

- 437 undergoing modified Stark method caesarean delivery: a double blinded randomized trial.
438 European Review for Medical and Pharmacological Science, 17, 3229-36.
- 439 Doebeli, A., Michel, E., Bettschart, R., Hartnack, S. & Reichler, I.M. (2013). Apgar score after
440 induction of anesthesia for canine cesarean section with alfaxalone versus propofol.
441 Theriogenology, 80,850-4. doi.org/10.1016/j.theriogenology.2013.07.006.
- 442 Gaudet, D.A. (1985). Retrospective study of 128 cases of canine dystocia. Journal American
443 Animal Hospital Association, 21, 813–8.
- 444 Gómez de Segura, I.A., Vazquez, I. & De Miguel, E. (2009). Antinociceptive and motor-
445 blocking action of epidurally administered IQB-9302 and bupivacaine in the dog. Pain
446 Medicine, 25, 522-8. doi:10.1111/j.1467-2995.2009.00469.x.
- 447 Groppetti, D., Pecile, A., Del Carro, A. P., Copley, K., Minero, M. & Cremonesi, F. (2010).
448 Evaluation of newborn canine viability by means of umbilical veinlactate measurement,
449 apgar score and uterine tocodynamometry. Theriogenology, 74, 1187-96.
450 doi:10.1016/j.theriogenology.2010.05.020.
- 451 Groppetti, D., Di Cesare, F. , Pecile, A., Cagnardi, P., Merlanti, R., D'Urso, E. S., Daniela
452 Gioeni, D., Boracchi, P. & Ravasio. G. (2019). Maternal and neonatal wellbeing during
453 elective C-section inducedwith a combination of propofol and dexmedetomidine: How
454 effectiveis the placental barrier in dogs? Theriogenology, 129, 90-8.
455 https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2019.02.019.
- 456 Huang, J., Liu, X., Ding, S., Zhu, L. & Yan, W. (2019). Small-dose ropivacaine hydrochloride
457 with fentanyl versus large-dose of ropivacaine hydrochloride for cesarean section. Journal of
458 the College of Physicians and Surgeons Pakistan, 29 (4): 301-304. doi: 10.29271 /
459 jcpsp.2019.04.301

- 461 Leone, S., Di Cianni, S., Casati, A. & Fanelli, G. (2008). Pharmacology, toxicology, and
462 clinical use of new long acting local anesthetics, ropivacaine and levobupivacaine. *Acta*
463 *Biomedica*,79, 92-105.
- 464 Levy, D. M. (2006). Emergency cesarean section: best practice. *Anesthesia*, 61, 786-91. Doi:
465 10.11111/j.1365-2044.2006.04711.x
- 466 Luna, S.P., Cassu, R.N., Castro, G.B., Teixeira Neto, F.J., Silva Júnior, J.R. & Lopes, M.D.
467 (2004). Effects of four anaesthetic protocols on the neurological and cardiorespiratory
468 variables of puppies born by caesarean section. *Veterinary Record*,154, 387-9. doi:
469 10.1136/vr.154.13.387
- 470 Madej T.H. & Strunin L. (1987). Comparison of epidural fentanyl with sufentanil. *Analgesia*
471 and side effects after a single bolus dose during elective caesarean section. *Anaesthesia*,
472 42(11), 1156-1161.
- 473 Marquette G.P., Mechas T., Charest J. & Rey E. (1994). Epidural anaesthesia for elective
474 caesarean section does not influence fetal umbilical artery blood flow indices. *Canadian*
475 *Journal Anaesthesia*, 41(11), 1053-56.
- 476 Martin-Flores M., Anderson J.C., Sakai D.M., Campoy, L., Cheong, S. H., Romano, M. &
477 Glead, R.D. (2019). A retrospective analysis of the epidural use of bupivacaine 0.0625-
478 0.125% with opioids in bitches undergoing cesarean section. *Canadian Veterinary Journal*,
479 60(12), 1349-52.
- 480 Mercier F.J., Bonnet M.P., De la Dorie A., Moufouki M., Banu F., Hanaf A, et al. (2007). Spinal
481 anaesthesia for caesarean section: fluid loading, vasopressors and hypotension. *Annales*
482 *Françaises d' Anesthésie et de Réanimation*, 26, 688–93. doi: 10.1016 / j.
483 *annfar*.2007.05.003.
- 484 Meyer, R.E. Caesarean section. *BSAVA Manual of Canine and Feline Anaesthesia and*
485 *Analgesia*. Seymour C; Novakovski T.D. BSAVA, Gloucester, 2^a. ed, 2007, 265-274.

- 486 Misirlioglu, K., Sivrikaya, G., Hanci, A. & Yalcinkaya, A. (2013). Intrathecal low-dose
487 levobupivacaine and bupivacaine combined with fentanyl in a randomised controlled study
488 for caesarean section: blockade characteristics maternal and neonatal effects. *Hippokratia*,
489 17:262-267.
- 490 Morrow R.J., Rolbin S.H., Ritchie J.W. & Haley S. (1989). Epidural anaesthesia and blood flow
491 velocity in mother and fetus. *Canadian Journal Anaesthesia*,36(5), 519-522. doi: 10.1007 /
492 BF03005378.
- 493 Palot M., Visseaux H. & Botmans C. (1992). Placental transfer and neonatal distribution of
494 fentanyl, alfentanil and sufentanil after continuous epidural administration for labor.
495 *Anesthesiology*,77, A991
- 496 Robertson S. (2016). Anaesthetic management for caesarean sections in dogs and cats. In
497 *Practice*, 38, 327-339. doi: 10.1136/inp. i3201.
- 498 Romagnoli, N., Barbarossa, A., Cunto, M., Balotta G., Zambelli, D., Armorini S., Zaghini, A., &
499 Lambertiniet, C. (2019). Evaluation of methadone concentrations in bitches and in umbilical
500 cords after epidural or systemic administration for caesarean section: A randomized trial.
501 *Veterinary Anaesthesia and Analgesia*, (3), 375-383.
502 <https://doi.org/10.1016/j.vaa.2018.10.005>
- 503 Silva, L.C.G., Lúcio, C.F., Veiga, G.A.L., Rodrigues, J.A. & Vannuchi, C.I. (2009). Neonatal
504 clinical evaluation, blood gas and radiographic assessment after normal birth, vaginal
505 dystocia or caesarean section in dogs. *Reproduction Domstic Animal*, 44(2), 160-163. doi:
506 10.1111/j.1439-0531.2009. 01392.x
- 507 Veronesi, M.C., Panzani, S., Fasutini, M., Rota, A. (2009). Na apgar scoring system for routine
508 assessemento of newborn puppy viability and shor-term survival prognosis. *Theriogenology*,
509 72, 401-407. Doi:10.1016/j.theriogenology.2009.03.010

- 510 Vertommen, J.D., Marcus, A.E.M. & Aken, H.V. (1995). The Effects of Intravenous and
511 Epidural Sufentanil in the Chronic Maternal-Fetal Sheep Preparation. *Anesthesia and*
512 *Analgesia*, 80, 71-75. doi: 10.1097 / 00000539-199501000-00012.
- 513 Vilar, J. M., Batista, M., Pérez, R., A. Zagorskaia, A., E. Jouanisson, E., Díaz-Bertrana, L. &
514 Rosales, S. (2018). Comparison of 3 anesthetic protocols for the elective cesarean section in
515 the dog: Effects on the bitch and the newborn puppies. *Animal Reproduction Science*, 190,
516 53-62. doi.org/10.1016/j.anireprosci.2018.01.007
- 517 Wydooghe, E., Bergmans, E., Rijsselaere, T. & Van Soom (2013). A. International breeder
518 inquiry into the reproduction of the English bulldog. *Vlaams Diergen Tijds*, 82, 38–43.
- 519 Zilberstein L.F., Moens Y.P., Leterrier E. (2008). The effect of local anaesthesia on anaesthetic
520 requirements for feline ovariectomy. *Veterinary Journal*, 178, 214-218. doi: 10.1016 /
521 j.tvjl.2007.10.011
- 522 Zhi, M., Diao, Y., Liu, S., Huang, Z., Su, X., Geng, S., Shen, L., Sun, J., Liu, Y. (2020).
523 Sufentanil versus fentanyl for pain relief in labor involving combined spinal-epidural
524 analgesia: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *European*
525 *Journal of Clinical Pharmacology*, 76, pages 501–06. doi: 10.1007 / s00228-019-02806-x

526

527

528

529

530

531

532 Tabela 1. Valores médios e desvio padrão do peso e idade materna, frequência cardíaca (FC)
 533 fetal pré-operatória, dose de propofol, período decorrido entre a indução anestésica e a remoção
 534 dos fetos, tempo cirúrgico, duração do bloqueio sensitivo e motor em cadelas submetidas à
 535 cesariana sob anestesia epidural com levobupivacaína 0,5% associada ao fentanil (GLF, n=9) ou
 536 ao sufentanil (GLS, n=11)

Variáveis	GLF	GLS	Valor de P
Peso (kg)	13 ± 6	10 ± 4	0,18
Idade (anos)	3 ± 1,9	3 ± 2,9	1,00
FC fetal (bat/min)	206 ± 26	200± 20	0,69
Dose de propofol (mg/kg)	5,2 ± 1,4	4,7 ± 1	0,40
Indução/remoção dos fetos (minutos)	55 ± 12	44 ± 14	0,10
Tempo Cirúrgico (minutos)	59,3 ±16	51,7 ± 10	0,22
Bloqueio sensitivo (minutos)	92 ± 46	80 ± 32	0,54
Bloqueio motor (minutos)	177 ± 107	154 ± 64	0,58

537

538 Tabela 2. Percentual (%) de neonatos categorizados nos escores de 0-3, 4-6 e 7-10 de acordo com
 539 o Apgar aferido aos 5 e aos 60 minutos cujas mães foram submetidas à cesariana sob anestesia
 540 epidural com levobupivacaína 0,5% associada ao fentanil (GLF, n=9) ou ao sufentanil (GLS,
 541 n=11)

Apgar	5 minutos			60 minutos		
	GLF	GLS	P	GLF	GLS	P
0-3	30,6 (15/49)	12,5 (6/48) [#]	0,047	2,2 (1/46)	0 (0/48)	0,49
4-9	53,1 (26/49)	45,8 (22/48)	0,54	8,7 (4/46)	6,3 (3/48)	0,71
7-10	16,3 (8/49)	41,7 (20/48) [#]	0,007	89,1 (41/46)	93,7 (45/48)	0,48

543 [#] Diferença significativa entre grupos (teste exato de Fisher, P < 0,05).

544

545 Tabela 3. Percentual (%) de neonatos categorizados nos diferentes parâmetros [frequência
 546 cardíaca (FC), frequência respiratória (f), coloração da mucosa, mobilidade e irritabilidade
 547 reflexa] de acordo com o Apgar aferido aos 5 e aos 60 minutos cujas mães foram submetidas à
 548 cesariana sob anestesia epidural com levobupivacaína 0,5% associada ao fentanil (GLF, n=9) ou
 549 ao sufentanil (GLS, n=11)

550

Apgar	5 minutos			60 minutos		
FC	GLF	GLS	P	GLF	GLS	P
0	20,4 (10/49)	22,9 (11/48)	1,00	0 (0/46)	0 (0/48)	1,00
1	63,2 (31/49)	50,0 (24/48)	0,22	76,1 (35/46)	66,6 (32/48)	0,36
2	16,3 (8/49)	27,1 (13/48)	0,22	23,9 (11/46)	33,3 (16/48)	0,36
FR						
0	4,1 (2/49)	2,1 (1/48)	1,00	0 (0/46)	2,1 (1/48)	1,00
1	30,6 (15/49)	12,5 (6/48) [#]	0,047	8,6 (4/46)	12,5 (6/48)	0,74
2	65,3 (32/49)	85,4 (41/48) [#]	0,033	91,3 (42/46)	85,4 (41/48)	1,00
Mucosa						
0	24,5 (12/49)	6,2 (3/48) [#]	0,02	4,3 (2/46)	2,1 (1/48)	0,61
1	42,8 (21/49)	22,9 (11/48)	0,05	4,3 (2/46)	1 (2/48)	1,00
2	32,6 (16/49)	70,8 (34/48) [#]	0,0001	91,3 (42/46)	93,7 (45/48)	0,71
Mobilidade						
0	63,2 (31/49)	29,1 (14/48) [#]	0,001	2,2 (1/46)	0 (0/48)	1,00
1	22,4 (11/49)	56,2 (27/48) [#]	0,0008	32,6 (15/46)	29,1 (14/48)	0,82
2	14,2 (7/49)	14,5 (7/48)	1,00	65,2 (30/46)	70,8 (34/48)	0,65
Irritabilidade						
0	79,5 (39/49)	52,1 (25/48) [#]	0,005	15,2 (7/46)	12,5 (6/48)	0,77
1	10,2 (5/49)	41,6 (20/48) [#]	0,0005	34,7 (16/46)	29,1 (14/48)	0,65
2	10,2 (5/49)	6,2 (3/48)	0,71	50,0 (23/46)	58,3 (28/48)	0,53

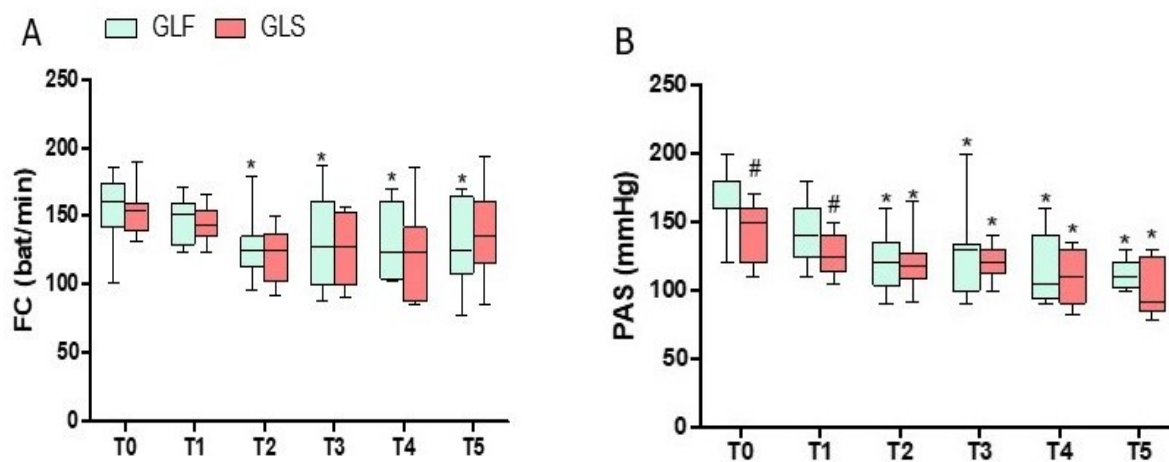
551 [#] Diferença significativa entre grupos (teste exato de Fisher, P < 0,05).

552 Tabela 4. Percentual (%) de neonatos com resposta neurológica presente, de acordo com os
 553 diferentes reflexos aferidos aos 5 e aos 60 minutos cujas mães foram submetidas à cesariana sob
 554 anestesia epidural com levobupivacaína 0,5% associada ao fentanil (GLF, n=9) ou ao sufentanil
 555 (GLS, n=11).

556

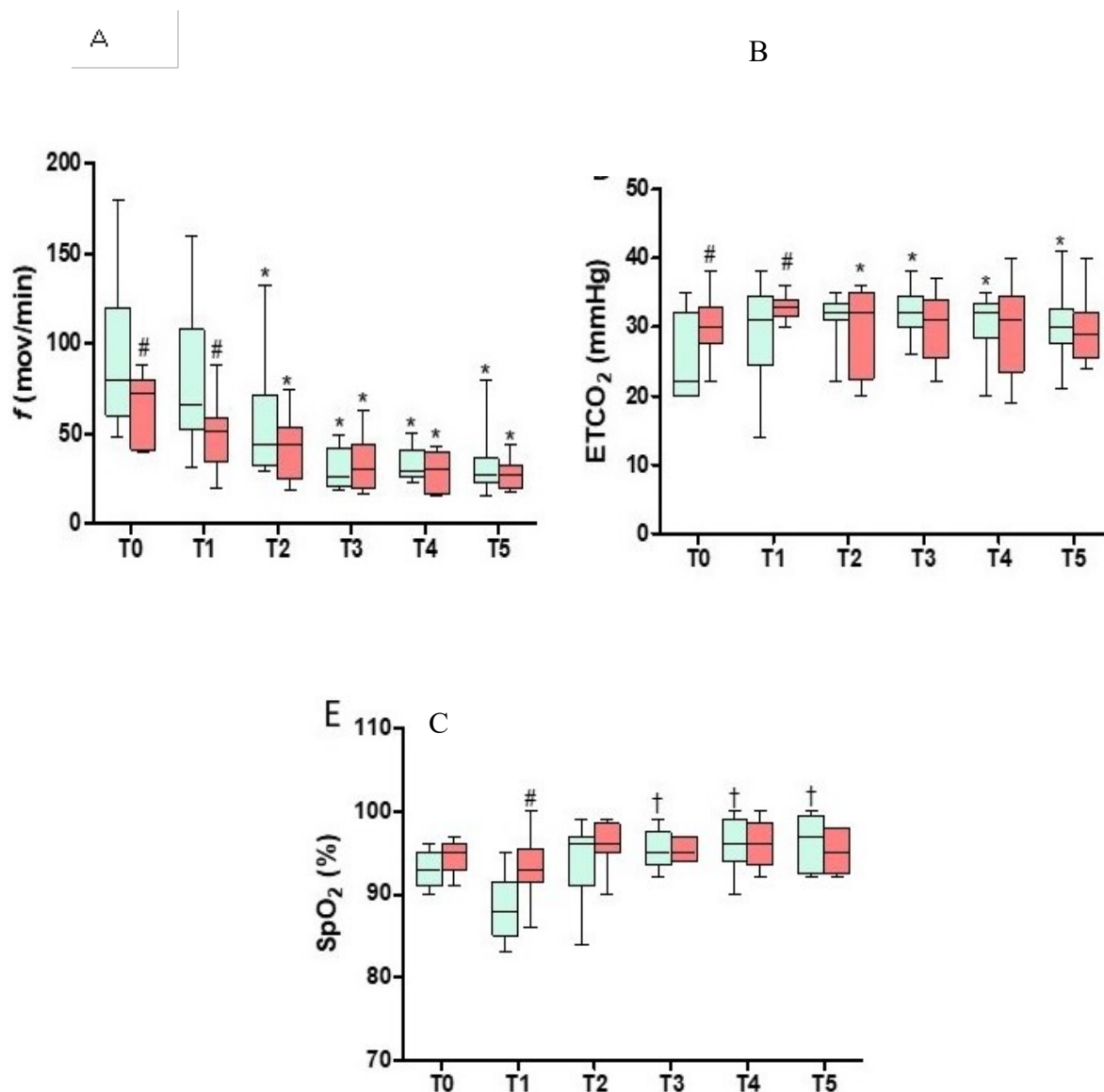
Reflexos	5 minutos			60 minutos		
	GLF	GLS	P	GLF	GLS	P
Sucção	78,2 (36/46)	72,9 (35/48)	0,10	91,3 (42/46)	100 (48/48)	0,48
Genital	50,0 (23/46)	50 (24/48)	1,00	93,4 (43/46)	97,9 (47/48)	0,053
Flexão	45,6 (21/46)	60,4 (29/48)	1,00	97,8 (45/46)	100 (48/48)	0,35
Magno	39,1 (18/46)	50 (24/48)	0,31	97,8 (45/46)	100 (48/48)	0,48
Dor	82,6 (38/46)	91,6 (44/48)	0,14	100 (46/46)	97,9 (47/48)	1,00

557



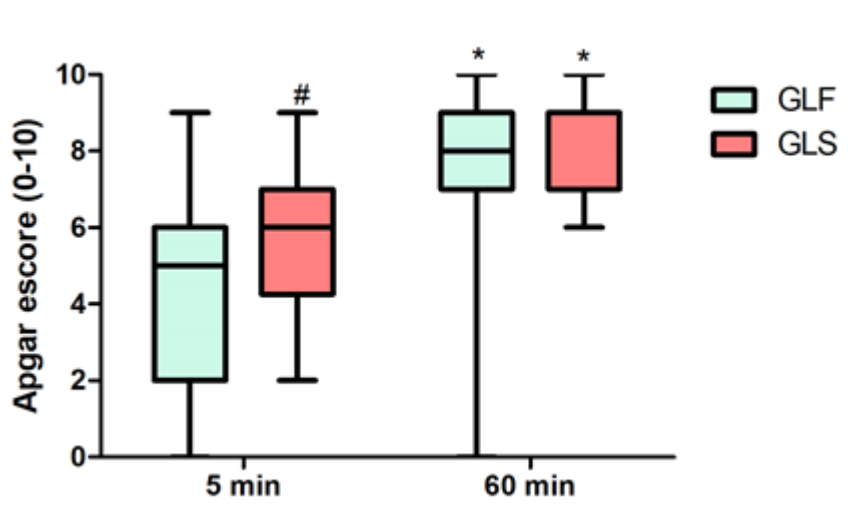
558

559 Figura 1: Valores médios e desvio padrão da frequência cardíaca (FC), pressão arterial
 560 sistólica (PAS) de cadelas submetidas à cesariana sob anestesia epidural com levobupivacaína
 561 0,5% associada ao fentanil (GLF, n=9) ou ao sufentanil (GLS, n=11). *Diferença significativa em
 562 relação ao basal (Teste de Tukey, $P < 0.05$); # Diferença significativa entre os grupos (Teste de
 563 Tukey, $P < 0.05$); † Diferença significativa em relação ao T1 (Teste de Tukey, $P < 0.05$).



564

565 Figura 2: Valores médios e desvio padrão da frequência respiratória (f)(gráfico A), concentração
 566 final expirada de dióxido de carbono (ETCO₂) (gráfico B) e saturação de pulso de oxigênio na
 567 hemoglobina (SpO₂) (gráfico C) de cadelas submetidas à cesariana sob anestesia epidural com
 568 levobupivacaína 0,5% associada ao fentanil (GLF, n=9) ou ao sufentanil (GLS,
 569 n=11).*Diferença significativa em relação ao basal (Teste de Tukey, $P < 0.05$); # Diferença
 570 significativa entre os grupos (Teste de Tukey, $P < 0.05$); † Diferença significativa em relação ao
 571 T1 (Teste de Tukey, $P < 0.05$).



572

573

574 Figura 3. Mediana (min-max) do Apgar escore avaliado aos 5 minutos e aos 60 minutos após o
575 nascimento de neonatos cujas mães foram submetidas à cesariana sob anestesia epidural com
576 levobupivacaína 0,5% associada ao fentanil (GLF, n=9) ou ao sufentanil (GLS, n=11).
577 *Diferença significativa em relação aos 5 minutos de avaliação (Teste de Friedman, $P < 0,05$). #
578 Diferença significativa entre os grupos aos 5 minutos de avaliação (Teste de Mann-Whitney, $P =$
579 0,004)

ARTIGO CIENTÍFICO 2

Impacto do equilíbrio ácido base e da concentração de lactato umbilical na viabilidade neonatal de filhotes braquicefálicos nascidos por cesariana sob anestesia epidural

Kanashiro, G.P.^{a,b}, Lima, C.M.S^b.; Nicácio, I.P.G.A^b.; Nicácio, G.M.^a, Ferreira, G.M.^a; Brinholi, R.B^c.; Cassu, R.N^a.

^aDepartamento de Cirurgia e Anestesiologia, Faculdade de Ciências Agrárias, Curso de Medicina Veterinária, Universidade do Oeste Paulista (UNOESTE), Presidente Prudente, Brasil

^bPrograma de Pós Graduação em Ciência Animal – Faculdade de Ciências Agrárias - Universidade do Oeste Paulista (UNOESTE), Presidente Prudente, Brasil.

^cDepartamento de Diagnóstico por Imagem, Faculdade de Ciências Agrárias, Curso de Medicina Veterinária, Universidade do Oeste Paulista (UNOESTE), Presidente Prudente, Brasil

Correspondência: Renata N. Cassu, Departamento de Cirurgia e Anestesiologia, Faculdade de Medicina Veterinária, UNOESTE, Presidente Prudente, Brasil.

E-mail: navarro@unoeste.br

Resumo

Objetivou-se avaliar a influência do tamanho da ninhada, da concentração de lactato e de glicose e do equilíbrio ácido-base sobre a viabilidade e mortalidade em neonatos braquicefálicos durante 48 horas após o nascimento por cesariana eletiva. Foram coletadas amostras do sangue venoso umbilical (2 mL) de 98 neonatos para mensuração dos gases sanguíneos, pH, déficit de base (BE), concentração de lactato (UL) e glicose (UGLU). A viabilidade neonatal foi avaliada 5 e 60 minutos após o nascimento por meio de Apgar score, sendo classificada como baixa, moderada e normal. Os dados foram analisados utilizando-se o teste de Spermann, o teste qui-quadrado ANOVA e teste de Tukey ($p < 0,05$). Aos 5 minutos, o percentual de neonatos com viabilidade moderada (49,5%) foi superior em relação à viabilidade baixa (21,6%) e normal (28,9%) ($P < 0,0001$). A taxa de mortalidade foi de 4,01%. Houve correlação negativa entre a pCO_2 e o Apgar score ($P = 0,0017$, $r = -0,37$) e entre pH e pCO_2 ($P < 0,0001$, $r = -0,77$) e correlação positiva entre UL e UGLU ($P = 0,0001$, $r = 0,46$). Valores inferiores de pH umbilical ($P = 0,036$) e superiores de UL e pCO_2 ($P = 0,004-0,039$) foram detectados em neonatos com baixa viabilidade. Neonatos de ninhadas com cinco ou mais filhotes apresentaram concentrações superiores de UL ($P = 0,001$) e valores inferiores de pO_2 ($P = 0,005$). O lactato, o pH e a pCO_2 umbilical foram indicadores de baixa viabilidade neonatal, sendo correlacionados com baixo Apgar score aos 5 minutos após o nascimento. O tamanho da ninhada foi associado ao aumento do risco de sofrimento neonatal e mortalidade em filhotes braquicefálicos nascidos por cesariana eletiva.

Palavra-chaves: Lactatemia. Glicemia. Acidose. Neonato.

1. Introdução

A cesariana é frequentemente necessária na prática de pequenos animais, especialmente em raças braquicefálicas devido ao alto risco de distocia relacionado à sua conformação anatômica [1,2]. O Bulldog Francês e o Bulldog Inglês estão entre as 10 raças com as maiores taxas de cesariana eletiva, com prevalência de 80% ou mais [3].

A viabilidade neonatal e a sobrevivência após a cesariana estão intimamente relacionadas com as anomalias congênitas, duração do parto, tamanho da ninhada, sofrimento fetal, condições obstétricas, cuidados e complicações perioperatórias [4,5]. Estudos recentes têm relatado correlação significativa entre o tamanho da ninhada e o índice de mortalidade neonatal, sendo demonstrado que ninhadas grandes exercem um impacto negativo sobre a viabilidade de neonatos nascidos de cesariana ou parto normal [1,6].

O Apgar score é uma ferramenta útil, prática e amplamente utilizada para avaliar a condição física dos filhotes após o nascimento [1,6-8]. Normalmente, as avaliações são realizadas 1, 5, 10 e 60 minutos após o parto [1,7,8], das quais o score aos 5 minutos tem apresentado relação com a sobrevivência neonatal [7,9]. Além do Apgar score, a concentração de lactato umbilical e a hemogasometria também têm sido recomendados para avaliar a saúde neonatal, auxiliando na identificação de neonatos com baixa viabilidade [6,7,10,11].

A hipóxia fetal intraparto e a hipoperfusão estão associadas à alta concentração de lactato no sangue do cordão umbilical e a acidose láctica, que frequentemente reflete um risco aumentado de morbidade e mortalidade neonatal [10,12,13]. O lactato é o produto final da glicólise anaeróbica e tem sido considerado um importante marcador de sofrimento neonatal em obstetrícia humana [14]. A hiperlactatemia umbilical sugere o uso de vias secundárias de oxigenação relacionada a ocorrência de hipóxia durante o parto [14]. Apesar dos limites críticos de concentração de lactato na veia umbilical variarem amplamente na literatura [6,15], dados de estudos em humanos e caninos demonstraram que 5 mmol/L pode ser usado como um valor de corte para classificar um recém-nascido como saudável ou debilitado [6,16].

Além disso, a gasometria e o pH umbilical ao nascimento também têm sido relacionados com o risco de morbidade e mortalidade neonatal humana em 48 horas [17]. Estudos provenientes da obstetrícia humana têm sugerido como limites críticos, pH umbilical < 7,0 e déficit de base ≤ -12 mmol/L, para definir a acidose fetal metabólica [18]. Até o momento, poucos estudos relataram o impacto do equilíbrio ácido-base e da concentração de lactato e suas implicações na viabilidade e mortalidade neonatal [6,10,19]. Além disso, há informações limitadas sobre esses parâmetros em cães braquicefálicos.

O objetivo deste estudo foi avaliar a gasometria umbilical, o pH, as concentrações de lactato e glicose, bem como a correlação desses parâmetros com o Apgar score e a taxa de mortalidade até 48 horas após o nascimento em neonatos braquicefálicos nascidos por cesariana eletiva sob anestesia epidural. Além disso, a interferência do tamanho da ninhada na viabilidade neonatal também foi avaliada.

2. Material e Método

2.1 Animais

O estudo foi realizado seguindo as orientações do CONCEA (Conselho Nacional de Controle em Experimentação Animal) e o procedimento experimental foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (protocolo 3926/2017). O termo de consentimento livre e esclarecido foi assinado por todos os tutores antes do início do estudo.

Em estudo clínico, prospectivo e randomizado, foram avaliados 98 neonatos provenientes de vinte cadelas gestantes (Bulldog Francês, n = 11; Bulldog Inglês, n = 8; Pug, n = 1) encaminhadas para cesariana eletiva. Foram selecionadas para o estudo apenas cadelas com hemograma e perfil bioquímico hepático e renal dentro dos limites de referência para a espécie. A opção pela cesariana foi feita de comum acordo com os proprietários com base na história pregressa de distúrcia, malformação congênita do trato genital da mãe (hiperplasia vaginal ou septo) e preocupações quanto a complicações maternas e neonatais relacionadas à

raça. A cesariana foi realizada após a confirmação ultrassonográfica da viabilidade e maturidade fetal verificada pela frequência cardíaca fetal, diâmetro biparietal, mobilidade digestiva e desenvolvimento renal (Traas, 2008).

2.2 Procedimento anestésico e cirúrgico da parturiente

Após medicação pré-anestésica com 0,2 mg/kg de morfina intramuscular (im) (Dimorf, Cristália Produtos Químicos e Farmacêuticos Ltda, Brasil), a anestesia foi induzida com propofol (Propovan 1%, Cristália Produtos Químicos e Farmacêuticos Ltda, Brasil) em dose suficiente para permitir a punção lombossacra para a realização do bloqueio epidural com levobupivacaína (1 mg/kg) associado ao fentanil (2,5 µg/kg) ou sufentanil (1 µg/kg). Oxigênio (2 L/minuto) foi fornecido por máscara facial a todas as cadelas. A técnica cirúrgica empregada foi a convencional e realizada pelo mesmo cirurgião e consistiu a incisão da linha alba pré-retro umbilical e após a incisão dos cornos uterinos no local de menor vascularização. Após o nascimento, cada neonato foi identificado com uma pulseira colorida no membro torácico e posteriormente limpos utilizando uma compressa cirúrgica. A frequência cardíaca (FC), frequência respiratória (f_r) e pressão arterial sistólica não invasiva (PAS) maternas foram monitoradas continuamente durante a anestesia por meio de monitor multiparamétrico (Dixtal D2021, Brasil).

A duração do parto (tempo decorrido da indução anestésica até a extração do último filhote) e o tempo de cirurgia (tempo decorrido da primeira incisão até a realização do último ponto de sutura) também foram registrados.

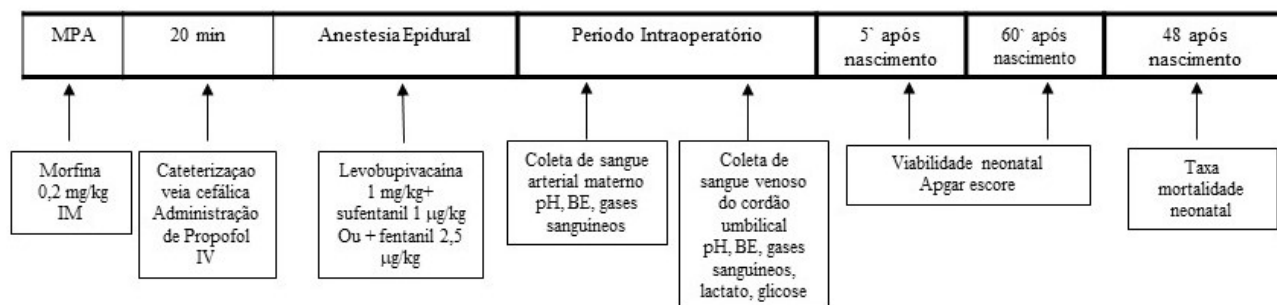
2.3 Coleta das amostras de sangue

Amostras de sangue arterial materno (1 mL) coletado da artéria uterina foram coletadas com seringas heparinizadas imediatamente antes da extração do primeiro filhote para mensuração dos gases sanguíneos, pH e excesso de base (BE). Amostras de sangue venoso do cordão umbilical (1 mL) foram coletadas imediatamente após a retirada de cada recém-nascido para mensuração dos gases sanguíneos, pH, BE, concentração de lactato (UL) e glicose (UGLU). As mensurações de pH sanguíneo, pressão parcial de oxigênio e dióxido de carbono (pO₂ e pCO₂) e BE foram realizadas utilizando-se um hemogasômetro (Cobas B121, Roche, Brasil) A concentração de lactato umbilical (UL) e glicose foram mensuradas utilizando método colorimétrico enzimático (Cobas C111, Roche, Brasil).

2.4 Apgar escore e monitoramento fetal

Após o nascimento, as vias aéreas superiores neonatais foram limpas e os filhotes foram mantidos aquecidos em aproximadamente 35°C utilizando-se um sistema de ar quente circulante (Sistema de Aquecimento de Ar Automático Veterinário, Warm Air WA-7001, Hefei Longshore Tech Co., Ltd., China). A viabilidade neonatal foi avaliada 5 e 60 minutos após o nascimento por meio de Apgar escore modificado [1], baseado na frequência cardíaca (FC), frequência respiratória (f_r), coloração da mucosa, irritabilidade reflexa e mobilidade. Cada parâmetro foi avaliado em uma escala de 0–2 e a soma total resultou em uma pontuação final variando de 0 a 10. A viabilidade neonatal foi classificada de acordo com o Apgar escore, da seguinte forma: viabilidade baixa (0-3), viabilidade moderada (4-6) e viabilidade normal (7-10). A taxa de mortalidade dos filhotes foi registrada até 48 horas após o nascimento.

Figura 1:



2.5 Análise Estatística

O teste de Shapiro-Wilk foi realizado para avaliar a normalidade das variáveis. O teste de Spermann foi utilizado para avaliar a correlação entre o Apgar escore e as variáveis sanguíneas do cordão umbilical (pCO_2 , pO_2 , pH, BE, UL e UGLU) e entre o UL e o pH, gases sanguíneos e UGLU. O teste qui-quadrado de Pearson foi utilizado para comparar o número de recém-nascidos em cada categoria do Apgar escore (viabilidade baixa, moderada e normal) aos 5 e 60 minutos. Os valores médios de UL, UGLU, pH, BE, pCO_2 e pO_2 obtidos em cada categoria do Apgar escore, os valores médios de UL e da pO_2 nos diferentes tamanhos de ninhada (até 4, 5 a 8, > 8 filhotes) e os valores médios de pCO_2 e UL obtidos nos neonatos com diferentes intervalos de pH (pH < 7, pH 7,0-7,19, pH \geq 7,2) foram comparados por análise de variância (ANOVA) seguida pelo teste de Tukey. Todas as análises foram realizadas no GraphPad InStat 5.1 (GraphPad Software Inc., CA, EUA). As diferenças foram consideradas significativas quando $p < 0,05$.

3. Resultados

Das 22 cadelas inicialmente incluídas no estudo, a anestesia epidural foi realizada com sucesso em 20 delas. Duas cadelas necessitaram de anestesia geral e foram retiradas do estudo. A idade das gestantes variou de 1 a 7 anos ($2,5 \pm 1,5$ anos) e o peso corporal de 6,5 a 23,5 kg ($11,6 \pm 4,7$ kg). No período intraoperatório, os parâmetros maternos foram mantidos nos limites de referência [FC (129 ± 24 batimentos/min), PAS (111 ± 13 mmHg), f_r (35 ± 13 movimentos/min), pCO_2 (32 ± 3 mmHg), pO_2 (184 ± 66 mmHg), pH ($7,38 \pm 0,03$), BE ($-4,8 \pm 1,6$ mmol /L) e SaO₂ ($97,7 \pm 3,380$)].

Dos 98 filhotes avaliados, 64% e 36% eram fêmeas e machos, respectivamente. O tamanho da ninhada variou de 2 a 9 filhotes por gestante ($4,25 \pm 2,29$ filhotes/gestante). O período transcorrido entre a retirada do primeiro e último neonato foi 53 ± 13 minutos. O tempo cirúrgico foi 76 ± 13 minutos. Durante as primeiras 48 horas após o nascimento, a taxa de mortalidade foi de 4,01%, sendo detectados 4 óbitos (1 natimorto que apresentou fenda palatina e os outros três sem causas conhecidas). Os quatro neonatos que morreram foram provenientes da mesma ninhada com 8 fetos.

Com base nas categorias do Apgar escore aos 5 minutos, o percentual de neonatos com viabilidade moderada (49,5%) foi superior em relação à viabilidade baixa (21,6%) e normal (28,9%) ($P < 0,0001$). Aos 60 minutos, o percentual de filhotes com viabilidade normal (91,49%) foi significativamente maior do que 1,06% e 7,45% registrados como baixa e moderada viabilidade, respectivamente ($P < 0,0001$). A coleta de sangue venoso do cordão umbilical foi realizada com sucesso em 75% dos neonatos. A correlação de Spearman

detectou correlação negativa significativa entre pCO₂ e Apgar score (P=0,0017), e entre pH e pCO₂ (P < 0,0001), enquanto correlação positiva foi detectada entre UL e UGLU (P = 0,0001) (Tabela 1).

Nos neonatos diagnosticados com baixa viabilidade foram detectados menores valores de pH e pO₂ umbilical (P = 0,024-0,036) e valores superiores de UL e pCO₂ (P = 0,004-0,039) em relação aos com viabilidade normal, enquanto os valores de UGLU e BE não diferiram nas diferentes categorias de Apgar score (P = 0,41-0,98) (Tabela 2). A concentração de UL foi significativamente maior em ninhadas com 5 ou mais filhotes (P = 0,001), enquanto a pO₂ e o pH foram significativamente menores (P = 0,002-0,010). Ninhadas com 8 ou mais filhotes apresentaram valores inferiores de BE em relação às ninhadas de até 4 filhotes (P = 0,010) (Tabela 3). Os valores de UL, pH e BE dos neonatos sobreviventes (UL = 7,0 ± 2,7; pH = 7,14 ± 0,1; BE = - 8,2 ± 3,9) não diferiram das registradas nos neonatos mortos (UL = 6,5 ± 2,6; pH = 7,02 ± 0,1; BE = -11,4 ± 3,9).

4. Discussão

Os achados deste estudo demonstraram que o tamanho da ninhada representa um fator de grande impacto para o sofrimento fetal, sendo consistente com resultados previamente reportados em caninos e ovinos [6,20]. A incidência de hiperlactatemia, hipercapnia e hipoxemia foi mais evidente em ninhadas com cinco ou mais filhotes, corroborando dados previamente relatados em ovelhas, nas quais maior concentração de UL associada à menor pO₂ foi observada em trigêmeos em comparação com gestações únicas ou gemelares [20]. Tendência semelhante foi relatada em cães, sendo detectados níveis mais elevados de UL em ninhadas com oito neonatos ou mais [6]. Em suínos, foi demonstrada relação negativa entre o fluxo sanguíneo uterino por feto e o número de fetos por corno uterino, com impacto mais evidente em ninhadas a partir de 10 fetos [21]. Esses dados sugerem que em ninhadas grandes, o fornecimento de oxigênio para o feto pode ser prejudicado em função da diminuição da troca circulatória uteroplacentária e fetal, devido à redução do fluxo sanguíneo placentário, resultando em resposta metabólica à hipóxia, reconhecida pelo aumento da concentração de UL e acidose.

Estudos recentes têm demonstrado que o aumento da concentração de UL representa um dos mais importantes sinalizadores do sofrimento fetal, com conseqüente incremento na morbidade e redução da taxa de sobrevivência neonatal na espécie canina [6,10,15]. No atual estudo, a concentração média de UL dos neonatos sobreviventes foi semelhante à dos não sobreviventes, concordando com os resultados relatados por Mila et al. [22]. No entanto, devido à reduzida taxa de mortalidade no presente estudo, esse resultado deve ser interpretado com cautela, visto que o UL teve um impacto negativo na viabilidade neonatal, cujas maiores concentrações de UL foram mensuradas nos filhotes com baixo Apgar score (0-3), corroborando outros estudos que também demonstraram correlação negativa entre essas variáveis [6,10]. Até a data vigente, não há um consenso com relação aos limites ideais de lactato para neonatos caninos provenientes de cesariana ou parto normal [6, 10, 11,13]. A concentração média de UL de 6,8 ± 2,5 mmol/L registrada neste estudo foi inferior à relatada por Castagnetti et al. [10] em neonatos braquicefálicos (7,0 ± 3,4 mmol / L) e superior à relatada por Groppetti et al. [6] em neonatos de outras raças (3,5 ± 1,2 mmol/L) nascidos por cesariana eletiva sob anestesia geral. A variabilidade dos dados pode estar associada a fatores raciais, condições clínicas da gestante e tempo do trabalho de parto, como também pelo método e o momento da mensuração da concentração do lactato [12]. Bueno et al. (2012) detectaram maior concentração de lactato em neonatos de diferentes raças, quando a mensuração foi realizada pelo analisador portátil em relação ao

método colorimétrico enzimático. Além disso, as maiores concentrações de lactato têm sido registradas nos estudos em que as amostras são colhidas diretamente do cordão umbilical durante o parto, enquanto concentrações mais baixas estão associadas à colheita da amostra da veia jugular do neonato após o parto [7]. Paralelamente, no atual estudo foi detectada correlação positiva entre o lactato e a glicose do sangue umbilical, sugerindo a ocorrência de estresse perioperatório. Resultados semelhantes foram observados em neonatos braquicefálicos nascidos por cesariana, cujas gestantes foram mantidas sob anestesia inalatória com isoflurano [10]. Contudo, apesar da correlação positiva entre essas variáveis, a glicemia umbilical não foi um indicador importante de sofrimento fetal no atual estudo, visto que os valores foram mantidos dentro dos limites de referência para neonatos caninos (76-155 mg/dL) e não houve correlação entre o Apgar score e a UGLU, divergindo dos resultados encontrados por Castagnetti et al. [10], que detectaram maior UGLU em animais com baixo Apgar score. Contudo, esses autores não observaram diferenças na UGLU ao compararem neonatos que foram à óbito aos sobreviventes, o que é consistente com nossos achados.

O pH do sangue umbilical também é considerado um importante marcador do sofrimento fetal intraparto tanto em seres humanos como em animais [9,23,24,25] Consistente com dados da obstetrícia humana [17], no atual estudo o pH do sangue umbilical teve importante repercussão na vitalidade dos recém-nascidos, de modo que os menores índices de Apgar foram registrados nos filhotes com pH abaixo de 7,2, confirmando a interferência do equilíbrio ácido-base na morbidade neonatal [23]. Em caso de sofrimento fetal, a acidemia umbilical pode ser metabólica, devido ao incremento do lactato, ou mista, como consequência da elevação da pCO₂ durante o trabalho de parto [17; 26]. Nossos resultados demonstraram que a pCO₂ foi significativamente correlacionada com o pH e ambos os parâmetros tiveram um efeito negativo na vitalidade dos neonatos, concordando com achados prévios relatados em seres humanos [27]. Aos 5 minutos após o nascimento, os níveis mais altos de pCO₂ e os valores mais baixos de pH foram registrados nos filhotes com Apgar score de 0-3, sugerindo que a acidose hipercapnica também pode ser um importante indicador de neonatos críticos. No atual estudo, acidemia grave (pH <7,0/déficit de base ≤ - 12 mmol/L) relacionada com acidose mista (respiratória e metabólica) foi diagnosticada em 13,6% (10/73) dos neonatos, dos quais 50% apresentaram Apgar score entre 0-3, contudo apenas um deles morreu em 48 horas.

Apesar da detecção de sofrimento fetal no atual estudo, a taxa de mortalidade neonatal foi de apenas 4,1%, sendo semelhante à observada por Luna et al. (2004) [28] em estudo desenvolvido com neonatos de diferentes raças nascidos por cesariana de emergência, com utilização de anestesia epidural lombo-sacra com lidocaína. Em neonatos das raças Buldogue Inglês e Francês provenientes de cesariana eletiva e emergencial, a taxa de mortalidade total foi de 11,6%, porém esse índice foi elevado pela alta incidência de neonatos malformados que contribuiu para 6,95% dos óbitos registrados [1]. No presente estudo, a taxa de mortalidade relacionada à malformação congênita foi de apenas 1,02%, sendo semelhante a 1-3% registrada em recém-nascidos de diferentes raças [8,29,30]. Se considerarmos a remoção dos neonatos com defeitos congênitos do percentual total de óbito neonatal, no atual estudo a taxa de mortalidade reduz para 3,06%, sendo discretamente inferior ao percentual de 4,98%, que foi observado por Baptista et al [1], em neonatos braquicefálicos provenientes de cesariana mantida sob anestesia geral. Esses dados sugerem que a anestesia epidural lombo-sacra pode ser considerada uma alternativa segura e de custo acessível para cesariana de cadelas das raças Buldogue Francês e Inglês.

Dados da obstetrícia humana e canina sugerem que a hipotensão materna é uma das principais preocupações com relação à anestesia epidural, devido à redução do fluxo sanguíneo uterino, podendo contribuir para acidose fetal [31,32]. No presente estudo, a hipotensão aparentemente não interferiu na perfusão placentária, uma vez que PAS materna permaneceu dentro dos limites de referência para a espécie canina. Ademais, a impossibilidade de intubação traqueal da gestante com a utilização da anestesia epidural pode aumentar o risco de hipóxia, sobretudo em cadelas braquicefálicas, cuja troca gasosa já pode ser comprometida devido às características anatômicas raciais das vias aéreas superiores [33]. Apesar da detecção de hipóxia intraparto neste estudo, a oxigenação materna não foi prejudicada pela impossibilidade da intubação traqueal, sendo detectados valores maternos de PO_2 a PCO_2 dentro dos limites fisiológicos para a espécie. Dessa forma, a hipóxia parece ter sido agravada tanto pelo tamanho da ninhada como também pelo momento da intervenção cirúrgica, que apesar do acompanhamento pela ultrassonografia pode ter sido um pouco tardio em algumas cadelas, que chegavam ao hospital veterinário já com alguns sinais de trabalho de parto. Estudos prévios em seres humanos e cães têm demonstrado que as contrações uterinas favorecem a ocorrência da hipóxia isquêmica na circulação placentária, com consequente hiperlactatemia e acidose fetal [6,34]. Contudo, aparentemente tanto a hipóxia quanto a hiperlactatemia e a acidemia tiveram pouca relevância clínica, uma vez a taxa de mortalidade foi baixa e nenhum dos filhotes sobreviventes exigiu qualquer intervenção adicional.

Uma das limitações deste estudo foi a análise parcial dos parâmetros sanguíneos do cordão umbilical, sendo realizada em apenas 75% dos filhotes. A perda de dados ocorreu devido a algumas dificuldades com relação à cordocentese, incluindo sangramento umbilical e amostras de sangue hemolisadas em decorrência do longo tempo de coleta. Além disso, o impacto do equilíbrio ácido-base e do lactato umbilical na vitalidade neonatal poderia ser melhor esclarecido se esses parâmetros também fossem analisados aos 60 minutos. Outros parâmetros como peso corporal e temperatura também têm sido utilizados como preditores de morbimortalidade neonatal e seu monitoramento poderia fornecer mais informações sobre a viabilidade neonatal.

4.1. Conclusão

O lactato, o pH e a pCO_2 umbilical foram indicadores de baixa viabilidade neonatal, sendo correlacionados com baixo Apgar score aos 5 minutos após o nascimento. O tamanho da ninhada (≥ 5 fetos) foi associado ao aumento do risco de sofrimento neonatal e mortalidade em filhotes braquicefálicos nascidos por cesariana eletiva.

Agradecimentos

Agradecemos a todos os proprietários das cadelas que concordaram em participar desse projeto e a Universidade do Oeste Paulista por todo apoio e incentivo a estudos.

Conflitos de interesse

Os autores do estudo não apresentam conflito de interesses.

Referências

- [1] Batista M, Moreno C, Vilar J, Golding M, Brito C, Santana M, Alamo D. Neonatal viability evaluation by Apgar score in puppies delivered by cesarean section in two brachycephalic breeds (English and French bulldog). *Anim Rep Sci* 2014;146(3-4): 218–26.
- [2] Bergstrom A, Nødtvedt A, Lagerstedt A.S, Egenvall A. Incidence and breed predilection for dystocia and risk factors for cesarean section in a swedish population of insured dogs. *Vet Surg* 2006; 35:786-91.
- [3] Evans KM, Adams VJ. Proportion of litters of purebred dogs born by caesarean section. *J Small Anim Pract* 2010;11(2):113-8.
- [4] Robertson S. Anaesthetic management for cesarean ssections in dogs and cats. *Practice* 2016; 38:327-39.
- [5] Moon PF, Erb HN, Ludders JW, Glead RD, Pascoe PJ. Perioperative risk factors for puppie delivered by cesarean section in the United States and canada. *J Am Anim Hosp Assoc* 2000; 36:359-68.
- [6] Groppetti D, Pecile A, de Carro AP, Copley K, Minero M, Cremonesi F. Evaluation of newborn canine viability by means of umbilical vein lactate measurement, Apgar score and uterine tocodynamometry. *Theriogenol* 2010; 70, 1187-96.
- [7] Silva LCG, Lucio CF, Veiga GAL, Rodrigues JA, Vannucchi CI. Neonatal Clinical Evaluation, Blood Gas and Radiographic Assessment After Normal Birth, Vaginal Dystocia or Caesarean Section in Dogs. *Reprod Dom Anim* 2009; 44 (Supl. 2):160-7.
- [8] Veronesi MC, Panzani S, Faustini M, Rota A. An apgar scoring system for routine assessment of newborn puppy viability and short-term survival prognosis. *Theriogenol* 2009; 72:401-7.
- [9] Lucio CF, Silva LC, Rodrigues JA, Veiga GA, Vannucchi CI. Acid-base changes in canine neonates following normal birth or dystocia. *Reprod Domest Anim* 2009;44 (Suppl.2): 208-10.
- [10] Castagnetti C, Cunto M, Bini C, Mariella J, Capolongo S, Zambelli D. Time-dependent changes and prognostic value of lactatemia during the first 24 h of life in brachycephalic newborn dogs. *Theriogenol* 2017; 94, 100–4.
- [11] Oliva VNS, Queiroz, MC VG, Albuquerque VB, Carreira JT, Souza TFB, Ferreira, GTNM, Abimussi, CJX, Vides JP. Vitality evaluation methods for newborn puppies after cesarean section performed under general inhalation anesthesia. *Pesq Vet Bras* 2018; 38(6), 1172-7.
- [12] Vassalo FG, Simões CRB, Sudano MJ, Prestes NC, Lopes MD, Chiacchio SB, Lourenço MLG. Topics in the Routine Assessment of Newborn Puppy Viability. *Topics in Compan Na Med* 2015;30;16–21.
- [13] Nordström L, Achanna S, Naka K, Arulkumaran S. Fetal and maternal lactate increase during active second stage of labour. *Br J Obstet Gynaecol* 2001;108 263-8.
- [14] Armstrong L, Stenson B, BlicksteinI, Green T. Effect of delayed sampling on umbilical cord arterial an venous lactate and blood gases in clamped and unclamped vessels. *Arch Dis Child Fetal Neonat* 2006;91 (15);F342-5.
- [15] Vivan MCR, Vides JP, Souza TFB, Albuquerque, VB, Oliva VNLS. Umbilical lactate in the assessment of fetal stress during delivery in dogs. *World Congress of Veterinary Anaesthesia* 2009; Glasgow, UK, p.137.
- [16] Zanardo V, Mari G, de Luca, F, Scambia G, Guerrini P, Straface G. Lactate in cord blood and its relation to fetal gluconeogenesis in at term deliveries. *Early Human Development* 2015;91; 165–8.
- [17] Kro GAB, Yli BM, Rasmussen S, Noraen H, Amer-Wahlin I, Rosaen, KG et al. Association between umbilical cord artery pCO₂ and the Apgar score; elevated levels of pCO₂ may be beneficial for neonatal vitality after moderate acidemia. *Acta Obstetricia et Gynecologica Scand.* 2013;92; 662-70.

- [18] Locatelli A, Incerti M, Ghidini A, Greco M, Villa E, Paterlini G. Factors associated with umbilical artery acidemia in term infants with low Apgar scores at 5 min. *Reprod Biol.* 2008;139; 146–150.
- [19] Kuttan KV, Joseph M, Simon S, Ghosh KN, Rajan A. Effect of intrapartum fetal stress associated with obstetrical interventions on viability and survivability of canine neonates. *Vet World* 2010; 9:1485-88.
- [20] Rurak D, Bessette NW. Changes in fetal lamb arterial blood gas and acid-base status with advancing gestation. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2013; 304:908-16.
- [21] Père MC, Eienne M. Uterine blood flow in sows: Effects of pregnancy stage and litter size. *Reprod. Nutr. Dev.* 2000 40: 369–82.
- [22] Mila H, Grellet A, Delebarre M, Mariani C, Feugier A, Chastant-Maillard S. Monitoring of the newborn dog and prediction of neonatal mortality. *Prev Vet Med* 2017;143: 11-20.
- [23] Sabol BA, Caughey AB. Acidemia in neonates with a 5-minute apgar score of 7 or greater-What are the outcomes? *Am. J. of Obstet Gynecol.* 2016; 1-23.
- [24] Allason ER, Waqar T, WhiteA CRH, Tuncalp O, Dickinson JE. Umbilical lactate as a measure of acidosis and predictor of neonatal risk: a systematic review. *Na Intern J of Obstet and Gynaecol.* 2017:124;584-94.
- [25] Crissiuma AL, Labarthe NV, Juppa CJ, Mannarino R, Soares AMB, Gershony LC. Analyzing blood gasometry at 3 tie points of the fetal-neonatal transitional period of dogs born by elective caesarean parturition. *Intern J Appl Res Vet Med* 200;4; 15-22./
- [26] Victory R, Penava D, Da SO, Natale R, Richardson B. Umbilical cord pH and base excess values in relation to adverse outcome events for infants delivering at term. *Am J Obstet Gynecol.* 2004;191:2021–8.
- [27] Bueno LMC, Lopes MD, Lourenço ML, Prestes NC, Takahira RK, Derussi AAP, Sudano MJ. Concentração de lactato e glicemia em cadelas e neonatos nascidos de cesariana. *Arq Bras Med Vet Zootec* 2012; 64(6):1442-8.
- [28] Luna SP, Cassu RN, Castro GB, Teixeira Neto FJ, Silva Junior JR, Lopes MD. Effects of four anaesthetic protocols on the neurological and cardiorespiratory variables of 6puppies borns by caesarean section. *Vet Rec* 2004; 154:387-9.
- [29] Vilar JM, Batista M, Pérez R, Zagorskaia A, Jouanisson E, Díaz-Bertrana L, Rosales S. Comparison of 3 anesthetic protocols for the elective cesareansection in the dog: Effects on the bitch and the newborn puppies. *Anim Reprod Sci* 2018; 190:53-62.
- [30] Bluden TS. Neonato defectos congenitos y mortalidade neonatal. In: Simpson GM, England, GCM, Harvey MJ, editors. *Manual de reproduction y neonatologia em pequenos animales.* Harcourt: Spain, 2000.p193-208.
- [32] Moya F, Smith BE. Maternal hypotension and the newborn infant, proceedings of the Third World Congress of Anesthesiology. 1964:01(2); 94-97.
- [33] Packer RMA, Hendricks A, Tivers MS, Burn CC. Impact of Facial Conformation on Canine Health: Brachycephalic Obstructive Airway Syndrome. *Plos One* 2015; 1-21.
- [34] Bakker PCAM, Kurver PHJ, Kuik DJ, Van Geijin HP. Elevated uterine activity increase the risk of fetal acidosis at birth. *Am J Obstet Gynecol.* 2007:196(4);313.e1-313 e6.

Tabela 1:

Coeficiente de Correlação de Spearman entre as variáveis mensuradas no sangue venoso do cordão umbilical: pressão parcial de CO₂ (pCO₂), pH, concentração de lactato umbilical (UL), concentração de glicose umbilical (UGLU) de neonatos e o Apgar score aos cinco minutos após o nascimento.

Correlação de Spearman (P < 0,05)		
pCO₂ x Apgar score	r = -0,37	P = 0,0017
pH x pCO₂	r = -0,77	P < 0,0001
pH x Apgar score	r = -0,03	P = 0,81
pH x UL	r = -0,07	P = 0,59
UL x Apgar score	r = - 0,14	P = 0,22
UGLU x Apgar score	r = 0,16	P = 0,36
UL x UGLU	r = 0,46	P = 0,0001

Tabela 2:

Valores médios e desvio padrão do pH, excesso de base (BE), pressão parcial de dióxido de carbono (pCO₂), pressão parcial de oxigênio (pO₂), lactato (UL) e glicose (UGLU) mensurados no sangue venoso do cordão umbilical de neonatos classificados nas diferentes categorias de Apgar escore aos cinco minutos após o nascimento.

Apgar	0-3 (n=20)	4-6 (n=45)	7-10 (n=30)	P
pH (unidades)	7.08±0.12 ^a	7.14±0.11 ^a	7.17±0.09 ^a	0.096
BE (mmol/L)	- 8.8±4.7 ^a	-8.7±3.8 ^a	- 8.6±4.8 ^a	0.988
pCO ₂ (mmHg)	74±19 ^a	65±17 ^{a,b}	54±11 ^b	0.004
pO ₂ (mmHg)	8.8±4.1 ^a	15.8±8.6 ^b	17.5±8.5 ^b	0.024
UL (mmol/L)	7.8±3.4 ^a	6.3±2.0 ^{a,b}	5.6±2.5 ^b	0.039
UGLU (dl/L)	96,3±48,7	123±61,8	49,3±70	0.36

Diferença significativa entre grupos em relação aos valores seguidos por letras distintas na mesma linha diferem significativamente (teste de Tukey, $P < 0,05$); Apgar 0-3: viabilidade baixa; Apgar 4-6: viabilidade intermediária; Apgar 7-10: viabilidade normal

Tabela 3: Valores médios e desvio padrão da concentração de lactato umbilical (UL) e da pressão parcial de oxigênio (pO₂), mensurados no sangue venoso do cordão umbilical de neonatos nascidos de ninhadas de diferentes tamanhos.

Tamanho de ninhada	Número de filhotes			P
	1- 4 (n=11)	5-8 (n=7)	>8 (n=2)	
UL	5.5±1.6 ^a	7.7±2.7 ^b	7.4±1.1 ^b	0.001
pO ₂	15.4±5.5 ^a	8.9±2.2 ^b	11.3±3.3 ^b	0.0002
BE	-6,5±4 ^a	-8,7±6 ^{a,b}	-10,9 ±3 ^b	0.010
pCO ₂	61±13 ^a	71±20 ^a	64±15 ^a	0,091
pH	7.18±0,07 ^a	7.06±0,11 ^b	7.06±0,07 ^b	0,010

Valores seguidos por letras distintas na mesma linha diferem significativamente (teste de Tukey, $P < 0,05$).

ANEXO 1 – NORMAS PARA PUBLICAÇÃO JOURNAL OF VETERINARY PHARMACOLOGY AND THERAPEUTICS

1. SUBMISSION

Thank you for your interest in the *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*. Note that submission implies that the content has not been published or submitted for publication elsewhere except as a brief abstract in the proceedings of a scientific meeting or symposium.

Once you have prepared your submission in accordance with the Guidelines, manuscripts should be submitted online at <https://mc.manuscriptcentral.com/jvpt>

The submission system will prompt you to use an ORCID (a unique author identifier) to help distinguish your work from that of other researchers. Click [here](#) to find out more.

[Click here](#) for more details on how to use ScholarOne.

For help with submissions, please contact the Editorial Office: JVPT.office@wiley.com

2. AIMS AND SCOPE

The *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics (JVPT)* is an international journal devoted to the publication of scientific papers in the basic and clinical aspects of veterinary pharmacology and toxicology. The Journal is a forum for recent scientific information and developments in the discipline of veterinary pharmacology, including toxicology and therapeutics.

3. MANUSCRIPT CATEGORIES AND REQUIREMENTS

Scientific Papers: the abstract should not exceed 200 words and should include a list of 5 keywords. The main sections should follow the general outline of a scientific paper, starting with an Introduction, Materials and Methods, followed by Results and Discussion, Acknowledgements and References. These sections could be divided into sub-sections where appropriate.

Short Communications: these should differ from full papers on the basis of scope or completeness, rather than quality of data. They may report significant new data arising from problems with narrow, well-defined limits, or important findings that warrant rapid publication before broader studies are complete. The text should neither exceed 1,500 words nor be divided up into conventional sections. A standard abstract not to exceed 200 words is required and should include a list of five keywords. To aid rapid publication the Editors may undertake responsibility for correcting proofs. When submitting short communications, authors should make it clear that their work is to be treated as such.

Letters to the Editor and Commentaries: Letters to the Editor should be in response to issues arising from a specific recently published article. Commentaries should be a short, free-standing piece expressing an opinion. No abstract is required, and text should be formatted in one continuous section. These articles are limited to 1,000 words.

Reviews: the journal welcomes reviews providing an updated state of the art on topics associated with Veterinary Pharmacology, Veterinary Therapy and Veterinary Toxicology. It is however recommended that authors who are planning or preparing larger review-type articles should contact the Review Editor for detailed information.

Mark Papich

Email: mark_papich@ncsu.edu

Pharmacokinetic Reports: the aim of Pharmacokinetic Reports is to efficiently report on the pharmacokinetics of a drug from a defined study using a single dose by a single route of administration in a single species. The goal is to reduce lengthy introductions and discussions. More complex comparative studies (multiple doses, route comparisons, multiple species, and disease effects) should be submitted as full papers. The layout should be as follows:

- **Abstract** - The abstract should not exceed 200 words.
- **Introduction** - Introduce the drug class and provide a very short summary of the clinical applications.
- **Material and Methods** – Overview of experimental design, analytical methods, pharmacokinetic modeling approach and software used and statistical criteria for optimal model selection.

- **Results** - Provide both a table of pharmacokinetic parameters (without repeating parameters in the text) and plots of model predicted versus observed data or other graphical approaches to demonstrate model fit.
- **Discussion** - Limit to 4-5 paragraphs, compare results to previous publications and briefly discuss implications of the analysis.
- **References** - References should follow the format detailed below.
- **Supplemental Data** - Provide individual raw data files to be published as supporting information alongside the article on the Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics' webpage on Wiley Online Library. Supplementary materials should be uploaded with the manuscript and labelled as 'Supplementary File'.

Any authors who are concerned that their manuscripts may exceed the recommended page limits should contact the [Editor-in-Chief](#) prior to submission to discuss options. These will be assessed on a case-by-case basis in consultation with the author and the Editor, and the Editor's decision will be final.

4. PREPARING YOUR SUBMISSION

Manuscripts must be submitted as a Word or rtf file and should be written in English. The manuscript should be submitted in separate files: main text file; figures.

Text File

The text file should be presented in the following order:

- (i) Title;
- (ii) a short running title of less than 70 characters;
- (iii) the full names of the authors;
- (iv) the author's institutional affiliations at which the work was carried out, (footnote for author's present address if different to where the work was carried out);
- (v) abstract;
- (vi) main text;
- (vi) acknowledgements;
- (vii) conflict of interest statement;
- (viii) author contribution statement
- (ix) references;
- (x) tables (each table complete with title and footnotes);
- (xi) figure legends;
- (xii) appendices (if relevant);

Figures and supporting information should be supplied as separate files.

Title

The title should be a short informative title that contains the major key words. The title should not contain abbreviations (see [Wiley's best practice SEO tips](#)).

Authorship

Please refer to the journal's authorship policy in the Editorial Policies and Ethical Considerations section for details on eligibility for author listing.

Acknowledgements

Contributions from anyone who does not meet the criteria for authorship should be listed, with permission from the contributor, in an Acknowledgments section. See section on Authorship for more detail. Financial and material support should also be mentioned. Thanks to anonymous reviewers are not appropriate.

Conflict of Interest Statement

You will be asked to provide a conflict of interest statement during the submission process. See the section 'Conflict of Interest' in the Editorial Policies and Ethical Considerations section for details on what to include in this section. Please ensure you liaise with all co-authors to confirm agreement with the final statement. The Conflict of Interest statement should be included within the main text file of your submission.

Authors' contributions

The individual contributions of each author must be specified in the Authors' contributions statement. Please use authors' initials and state that all authors have read and approved the final manuscript. See the section 'Authorship' in the Editorial Policies and Ethical Considerations section for details on what constitutes authorship. Please ensure you liaise with all co-authors to confirm agreement with the final statement. The Authors' Contribution statement should be included within the main text file of your submission.

Summary

Please supply a summary of up to 200 words for all articles. A summary should be a concise summary of the whole paper, not just the conclusions, and it must be understandable without reference to the rest of the paper. It should contain no citation to any other published work.

Keywords

Include up to six keywords that describe your paper for indexing purposes and list them in alphabetical order. Keywords should be taken from those recommended by the US National Library of Medicine's Medical Subject Headings (MeSH) browser list at <https://www.nlm.nih.gov/mesh/>.

Main Text

Where possible, the text should be divided into the following sections: Summary, Introduction, Materials and Methods, Results, Discussion, Acknowledgements, Conflict of Interest Statement and References.

References

References should be prepared according to the *Publication Manual of the American Psychological Association* (6th edition). This means in text citations should follow the author-date method whereby the author's last name and the year of publication for the source should appear in the text, for example, (Jones, 1998). The complete reference list should appear alphabetically by name at the end of the paper.

A sample of the most common entries in reference lists appears below. Please note that a DOI should be provided for all references where available. For more information about APA referencing style, please refer to the [APA FAQ](#). Please note that for journal articles, issue numbers are not included unless each issue in the volume begins with page one.

Journal article

Beers, S. R., & De Bellis, M. D. (2002). Neuropsychological function in children with maltreatment-related posttraumatic stress disorder. *The American Journal of Psychiatry*, 159, 483–486. doi:[10.1176/appi.ajp.159.3.483](https://doi.org/10.1176/appi.ajp.159.3.483)

Book

Bradley-Johnson, S. (1994). *Psychoeducational assessment of students who are visually impaired or blind: Infancy through high school* (2nd ed.). Austin, TX: Pro-ed.

Internet Document

Norton, R. (2006, November 4). How to train a cat to operate a light switch [Video file]. Retrieved from <https://www.youtube.com/watch?v=-wK5LTTn5YM>

Tables

Tables should be self-contained and complement, but not duplicate, information contained in the text. They should be supplied as editable files, not pasted as images. Legends should be concise but comprehensive – the table, legend and footnotes must be understandable without reference to the text. All abbreviations must be defined in footnotes. Footnote symbols: †, ‡, §, ¶, should be used (in that order) and *, **, *** should be reserved for P-values. Statistical measures such as SD or SEM should be identified in the headings.

Figure Legends

Legends should be concise but comprehensive – the figure and its legend must be understandable without reference to the text. Include definitions of any symbols used and define/explain all abbreviations and units of measurement.

Preparing Figures

Although we encourage authors to send us the highest-quality figures possible, for peer-review purposes we are happy to accept a wide variety of formats, sizes, and resolutions.

[Click here](#) for the basic figure requirements for figures submitted with manuscripts for initial peer review, as well as the more detailed post-acceptance figure requirements.

Colour figures:

Figures submitted in colour may be reproduced in colour online free of charge. Please note, however, that it is preferable that line figures (e.g. graphs and charts) are supplied in black and white so that they are legible if printed by a reader in black and white. If you wish to have figures printed in colour in hard copies of the journal, a fee will be charged by the Publisher.

Appendices

Appendices will be published after the references. For submission they should be supplied as separate files but referred to in the text. Supporting Information

Supporting Information

Supporting information is information that is not essential to the article but that provides greater depth and background. It is hosted online, and appears without editing or typesetting. It may include tables, figures, videos, datasets, etc. [Click here](#) for Wiley's FAQs on supporting information.

General Style Points

The following links provide general advice on formatting and style.

- **Formatting:** Admissions are required to be double spaced and have numbered lines.
- **Abbreviations:** In general, terms should not be abbreviated unless they are used repeatedly and the abbreviation is helpful to the reader. Initially use the word in full, followed by the abbreviation in parentheses. Thereafter use the abbreviation only.
- **Units of measurement:** Measurements should be given in SI or SI-derived units. Visit the Bureau International des Poids et Mesures (BIPM) website at <http://www.bipm.fr> for more information about SI units.
- **Trade Names:** Chemical substances should be referred to by the generic name only. Trade names should not be used. Drugs should be referred to by their generic names. If proprietary drugs have been used in the study, refer to these by their generic name, mentioning the proprietary name, and the name and location of the manufacturer, in parentheses.

Wiley Author Resources

Wiley has a range of resources for authors preparing manuscripts for submission available [here](#). In particular, authors may benefit from referring to Wiley's best practice tips on [Writing for Search Engine Optimization](#).

Editing, Translation and Formatting Support

[Wiley Editing Services](#) can greatly improve the chances of your manuscript being accepted. Offering expert help in English language editing, translation, manuscript formatting and figure preparation, Wiley Editing Services ensures that your manuscript is ready for submission.

5. EDITORIAL POLICIES AND ETHICAL CONSIDERATIONS

Editorial Review and Acceptance

The acceptance criteria for all papers is the quality and originality of the research and its significance to our readership. Except where otherwise stated, manuscripts are single-blind peer reviewed. Papers will only be sent to review if the Editor-in-Chief determines that the paper meets the appropriate quality and relevance requirements. Wiley's policy on confidentiality of the review process is [available here](#).

Data Sharing and Accessibility

The journal encourages authors to share the data and other artefacts supporting the results in the paper by archiving it in an appropriate public repository. Authors should include a data accessibility statement, including a link to the repository they have used, in order that this statement can be published alongside their paper.

Ethics

A statement explicitly describing the ethical background to this study and any institutional or national ethical committee approval must be included within the manuscript.

Animal Studies

A statement indicating that the protocol and procedures employed were ethically reviewed and approved, and the name of the body giving approval, must be included in the Methods section of the manuscript. We encourage authors to adhere to animal research reporting standards, for example the [ARRIVE reporting guidelines](#) for reporting study design and statistical analysis; experimental procedures; experimental animals and housing and husbandry. Authors should also state whether experiments were performed in accordance with relevant institutional and national guidelines and regulations for the care and use of laboratory animals:

- US authors should cite compliance with the US National Research Council's [Guide for the Care and Use of Laboratory Animals](#), the US Public Health Service's [Policy on Humane Care and Use of Laboratory Animals](#), and [Guide for the Care and Use of Laboratory Animals](#).
- UK authors should conform to UK legislation under the [Animals \(Scientific Procedures\) Act 1986 Amendment Regulations \(SI 2012/3039\)](#).
- European authors outside the UK should conform to [Directive 2010/63/EU](#).

Animal ethics-based criteria for manuscript consideration

Manuscripts will be considered for publication only if the work detailed therein:

- 1) Follows international, national, and/or institutional guidelines for humane animal treatment and complies with relevant legislation
- 2) Has been approved by the ethics review committee at the institution or practice at which the studies were conducted where such a committee exists
- 3) For studies using client-owned animals, demonstrates a high standard (best practice) of veterinary care and involves informed client consent

Prior to acceptance of a manuscript, to verify compliance with the above policies, the authors must specify in Materials and Methods the ethical review committee approval process and the international, national, and/or institutional guidelines followed.

Animal ethics-based criteria for manuscript rejection

- 1) Manuscripts and authors that fail to meet the aforementioned requirements
- 2) Studies that involve unnecessary pain, distress, suffering, or lasting harm to animals
- 3) The Editors retain the right to reject manuscripts on the basis of ethical or welfare concerns

Clinical Trial Registration

We require that clinical trials are prospectively registered in a publicly accessible database and clinical trial registration numbers should be included in all papers that report their results. Please include the name of the trial register and your clinical trial registration number at the end of your abstract. If your trial is not registered, or was registered retrospectively, please explain the reasons for this.

Research Reporting Guidelines

Accurate and complete reporting enables readers to fully appraise research, replicate it, and use it. We encourage authors to adhere to the following research reporting standards.

Research Reporting Guidelines

Accurate and complete reporting enables readers to fully appraise research, replicate it, and use it. We encourage authors to adhere to the following research reporting standards.

- [CONSORT](#)
- [SPIRIT](#)
- [PRISMA](#)
- [PRISMA-P](#)
- [STROBE](#)
- [CARE](#)
- [COREQ](#)
- [STARD](#) and [TRIPOD](#)
- [CHEERS](#)
- [the EQUATOR Network](#)
- [Future of Research Communications and e-Scholarship \(FORCE11\)](#)
- [ARRIVE guidelines](#)
- [National Research Council's Institute for Laboratory Animal Research guidelines: the Gold](#)

Standard Publication Checklist from Hooijmans and colleagues

- **Minimum Information Guidelines from Diverse Bioscience Communities (MIBBI) website: Biosharing website**
- **REFLECT statement**

Species Names

Upon its first use in the title, abstract and text, the common name of a species should be followed by the scientific name (genus, species and authority) in parentheses. For well-known species, however, scientific names may be omitted from article titles. If no common name exists in English, the scientific name should be used only.

Genetic Nomenclature

Sequence variants should be described in the text and tables using both DNA and protein designations whenever appropriate. Sequence variant nomenclature must follow the current HGVS guidelines; see <http://varnomen.hgvs.org/>, where examples of acceptable nomenclature are provided.

Nucleotide Sequence Data

Nucleotide sequence data can be submitted in electronic form to any of the three major collaborative databases: DDBJ, EMBL or GenBank. It is only necessary to submit to one database as data are exchanged between DDBJ, EMBL and GenBank on a daily basis. The suggested wording for referring to accession-number information is: 'These sequence data have been submitted to the DDBJ/EMBL/GenBank databases under accession number U12345'. Addresses are as follows:

DNA Data Bank of Japan (DDBJ) <http://www.ddbj.nig.ac.jp>

EMBL Nucleotide Sequence Submissions <http://www.ebi.ac.uk>

GenBank <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>

Protein Sequence Data

Proteins sequence data should be submitted to either of the following repositories:

- Protein Information Resource (PIR): pir.georgetown.edu
- SWISS-PROT: expasy.ch/sprot/sprot-top

Conflict of Interest

The *Journal of Veterinary Pharmacology & Therapeutics* requires that all authors disclose any potential sources of conflict of interest. Any interest or relationship, financial or otherwise that might be perceived as influencing an author's objectivity is considered a potential source of conflict of interest. These must be disclosed when directly relevant or directly related to the work that the authors describe in their manuscript. Potential sources of conflict of interest include, but are not limited to, patent or stock ownership, membership of a company board of directors, membership of an advisory board or committee for a company, and consultancy for or receipt of speaker's fees from a company. The existence of a conflict of interest does not preclude publication. If the authors have no conflict of interest to declare, they must also state this at submission. It is the responsibility of the corresponding author to review this policy with all authors and collectively to disclose with the submission ALL pertinent commercial and other relationships. The Conflict of Interest statement should be included within the main text file of your submission.

Funding

Authors should list all funding sources in the Acknowledgments section. Authors are responsible for the accuracy of their funder designation. If in doubt, please check the Open Funder Registry for the correct nomenclature: <http://www.crossref.org/fundingdata/registry.html>

Authorship

The list of authors should accurately illustrate who contributed to the work and how. All those listed as authors should qualify for authorship according to the following criteria:

- 1) Have made substantial contributions to conception and design, or acquisition of data, or analysis and interpretation of data;
- 2) Been involved in drafting the manuscript or revising it critically for important intellectual content;
- 3) Given final approval of the version to be published. Each author should have participated sufficiently in the work to take public responsibility for appropriate portions of the content; and

4) Agreed to be accountable for all aspects of the work in ensuring that questions related to the accuracy or integrity of any part of the work are appropriately investigated and resolved.

Contributions from anyone who does not meet the criteria for authorship should be listed, with permission from the contributor, in an Acknowledgments section (for example, to recognize contributions from people who provided technical help, collation of data, writing assistance, acquisition of funding, or a department chairperson who provided general support). Prior to submitting the article all authors should agree on the order in which their names will be listed in the manuscript.

Methods of recognizing contributors have been proposed (*Lancet* 1995; **345**: 668). The Editors believe that those with a peripheral association with the work should simply be acknowledged in an Acknowledgements section (*BJS* 2000; **87**: 1284-6).

Additional authorship options

Joint first or senior authorship: In the case of joint first authorship a footnote should be added to the author listing, e.g. 'X and Y should be considered joint first author' or 'X and Y should be considered joint senior author.'

ORCID

As part of our commitment to supporting authors at every step of the publishing process, The *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics* requires the submitting author (only) to provide an ORCID iD when submitting a manuscript. This takes around 2 minutes to complete. [Find more information](#).

Publication Ethics

The *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics* is a member of the [Committee on Publication Ethics \(COPE\)](#). Note this journal uses iThenticate's CrossCheck software to detect instances of overlapping and similar text in submitted manuscripts. Read our Top 10 Publishing Ethics Tips for Authors [here](#). Wiley's Publication Ethics Guidelines can be found at <https://authorservices.wiley.com/ethics-guidelines/index.html>

6. AUTHOR LICENSING

If your paper is accepted, the author identified as the formal corresponding author will receive an email prompting them to log in to Author Services, where via the Wiley Author Licensing Service (WALS) they will be required to complete a copyright license agreement on behalf of all authors of the paper.

Authors may choose to publish under the terms of the journal's standard copyright agreement, or [OnlineOpen](#) under the terms of a Creative Commons License.

General information regarding licensing and copyright is available [here](#). To review the Creative Commons License options offered under OnlineOpen, please [click here](#). (Note that certain funders mandate that a particular type of CC license has to be used; to check this please click [here](#).)

Self-Archiving definitions and policies. Note that the journal's standard copyright agreement allows for self-archiving of different versions of the article under specific conditions. Please click here for more detailed information about self-archiving definitions and policies.

Open Access fees: If you choose to publish using OnlineOpen you will be charged a fee. A list of Article Publication Charges for Wiley journals is available [here](#).

Funder Open Access: Please click [here](#) for more information on Wiley's compliance with specific Funder Open Access Policies.

7. PUBLICATION PROCESS AFTER ACCEPTANCE

Accepted article received in production

When your accepted article is received by Wiley's production team, you (corresponding authors) will receive an email asking you to login or register with [Author Services](#). You will be asked to sign a publication licence at this point.

Proofs

Once your paper is typeset you will receive email notification of the URL from where to download a PDF typeset page proof, associated forms and full instructions on how to correct and return the file.

Please note that you are responsible for all statements made in your work, including changes made during the editorial process and thus you must check your proofs carefully. Note that proofs should be returned 48 hours from receipt of first proof.

Publication Charges

Colour figures may be published online free of charge, however the journal charges for publishing figures in colour in print. If you supply colour figures you will be sent a [Colour Work Agreement](#) once your accepted paper moves to the production process. If your Colour Work Agreement is not returned by the specified date figures will be converted to black and white for print publication.

Early View

The journal offers rapid speed to publication via Wiley's Early View service. [Early View](#) (Online Version of Record) articles are published on Wiley Online Library before inclusion in an issue. Note there may be a delay after corrections are received before your article appears online, as Editors also need to review proofs. Once your article is published on Early View no further changes to your article are possible. Your Early View article is fully citable and carries an online publication date and DOI for citations.

Video

Bring your research to life by creating a video abstract for your article! Wiley partners with Research Square to offer a service of professionally produced video abstracts. Learn more about video abstracts at www.wileyauthors.com/videoabstracts and purchase one for your article at <https://www.researchsquare.com/wiley/> or through your Author Services Dashboard. If you have any questions, please direct them to videoabstracts@wiley.com.

Abstracts

8. POST PUBLICATION

Access and sharing

When your article is published online:

- You receive an email alert (if requested).
- You can share your published article through social media.
- As the author, you retain free access (after accepting the Terms & Conditions of use, you can view your article).
- The corresponding author and co-authors can nominate up to ten colleagues to receive a publication alert and free online access to your article.

Now is the time to start promoting your article. Find out how to do that [here](#). Wiley also helps you measure the impact of your research through our specialist partnerships with [Kudos](#) and [Altmetric](#).

9. DATA PROTECTION AND PRIVACY

By submitting a manuscript to, or reviewing for, this publication, your name, email address, institutional affiliation, and other contact details the publication might require, will be used for the regular operations of the publication, including, when necessary, sharing with the publisher (Wiley) and partners for production and publication. The publication and the publisher recognize the importance of protecting the personal information collected from users in the operation of these services, and have practices in place to ensure that steps are taken to maintain the security, integrity, and privacy of the personal data collected and processed. You can learn more at <https://authorservices.wiley.com/statements/data-protection-policy.html>.

10. EDITORIAL & PRODUCTION OFFICE CONTACT DETAILS

Editorial Contact Details

JVPT.office@wiley.com

Production Contact Details

Pauline Retnados

paretnados@wiley.com

ANEXO 2 - NORMAS PARA PUBLICAÇÃO THERIOGENOLOGY



THERIOGENOLOGY
An International Journal of Animal Reproduction

AUTHOR INFORMATION PACK

TABLE OF CONTENTS



- **Description**
- **Audience**
- **Impact Factor**
- **Abstracting and Indexing**
- **Editorial Board**
- **Guide for Authors**

DESCRIPTION

Theriogenology provides an international forum for researchers, clinicians, and industry professionals in **animal reproductive biology**. This acclaimed journal publishes articles on a wide range of topics in **reproductive and developmental biology**, of domestic mammal, avian, and aquatic species as well as wild species which are the object of veterinary care in research or conservation programs.

AUDIENCE

Individuals involved in animal reproduction biology.

IMPACT FACTOR

2019: 2.094 © Clarivate Analytics Journal Citation Reports 2020

ABSTRACTING AND INDEXING

Focus on: Veterinary Science and Medicine AGRICOLA

CAB International

Global Health (Index Veterinarius, Veterinary Bulletin) PubMed/Medline

BIOSIS Citation Index Chemical Abstracts

Current Contents - Agriculture, Biology & Environmental Sciences Elsevier BIOBASE
Science Citation Index
Derwent Biotechnology Abstracts Scopus

EDITORIAL BOARD

Editor-in-Chief

F. Gandolfi, University of Milan, Department of Agricultural and Environmental Sciences - Production, Landscape, Agroenergy, Milano, Italy

Associate Editors

L. Brito, Madison, WI, United States

M-A. Driancourt, Astek, Boulogne Billancourt, France

Editorial Board

J. F. Asturiano, Polytechnic University of Valencia, Valencia, Spain

C. Aurich, University of Veterinary Medicine Vienna, Wien, Austria

M.R. Bakst, USDA-ARS Beltsville Agricultural Research Center, Beltsville, Maryland, United States

I. Barrier Battut, National Professional School of Haras, Exmes, France

A. Blitek, Institute of Animal Reproduction and Food Research of the Polish Academy of Sciences, Department of Hormonal Action Mechanisms, Olsztyn, Poland

R. Boni, University of Basilicata, Potenza, Italy

S. Chastant, National Veterinary School Toulouse, Toulouse, France

P. Comizzoli, Smithsonian's National Zoo & Conservation Biology Institute, Washington, District of Columbia, United States

R.A. Dailey, West Virginia University, Morgantown, West Virginia, United States

S. Eghbalsaied, Islamic Azad University Isfahan Branch, Department of Animal Science, Isfahan, Iran, Islamic Republic of

F.C. Gwazdauskas, Virginia Polytechnic Institute and State University, Blacksburg, Virginia, United States

S. Hochi, Shinshu University - Ueda Campus, Ueda, Japan

R. Kasimanickam, Washington State University, Pullman, Washington, United States

K. Kikuchi, National Institute of Agrobiological Sciences, Tsukuba, Japan

A. K. McNeel, Zoetis Genetics, Kalamazoo, Michigan, United States

A. Menchaca, Institute of Animal Reproduction of Uruguay, Montevideo, Uruguay

S. Nagy, Pannon University Department of Animal Sciences, Keszthely, Hungary

C.E. Pope, Audubon Nature Institute, New Orleans, Louisiana, United States

V. H. Rao, Sri Venkateswara Veterinary University, Tirupati, India

J. Roca, University of Murcia, Department of Medicine and Animal Surgery, Murcia, Spain

M. Sharafi, Tarbiat Modares University, Department of Animal Science, Tehran, Iran, Islamic Republic of

A. Snider, University of Nebraska-Lincoln, Lincoln, Nebraska, United States

N. Songsasen, Smithsonian Conservation Biology Institute, Front Royal, United States

L. Spicer, Oklahoma State University, Department of Animal and Food Sciences, Stillwater, Oklahoma, United States

R. Ungerfeld, University of the Republic, Department of Veterinary Biosciences, Montevideo, Uruguay

B. K. Whitlock, The University of Tennessee Knoxville Institute of Agriculture, Knoxville, Tennessee, United States

M. Yeste, University of Girona, Girona, Spain

GUIDE FOR AUTHORS

Introduction

Please consult this Guide for Authors for further details on the requirements for submitting your paper to *Theriogenology*. The guidelines described in this document should be adhered to carefully, to ensure high-quality and rapid publication of your manuscript.

Aims and Scope

Theriogenology is an international, peer-reviewed journal that publishes papers regarding the study of reproduction in domestic and non-domestic mammals, birds, reptiles, and fish. *Theriogenology* publishes only material that has never been previously published and is not currently being considered for publication elsewhere; the exception would be limited disclosure (e.g. publication of an abstract or in the proceedings of a scientific conference, with limited circulation).

Types of Articles

Original Research Papers should report the results of original research. The material should not have been previously published elsewhere, except in a preliminary form.

Review Articles should cover subjects within the scope of the journal that are of active current interest. They are usually invited, but prospective Authors may contact the Editors with proposals.

Letters to the Editor offering comment or useful critique on material published in the journal are welcomed. The decision to publish submitted letters rests purely with the Editors. It is hoped that the publication of such letters will permit an exchange of views which will be of benefit to both the journal and its readers.

Page charges

This journal has no page charges.

Submission Checklist

You can use this list to carry out a final check of your submission before you send it to the journal for review. Please check the relevant section in this Guide for Authors for more details.

Ensure that the following items are present:

One author has been designated as the corresponding author with contact details:

- E-mail address
- Full postal address

All necessary files have been uploaded:

Manuscript:

It is recommended that the manuscript should be submitted in Word document

- Include keywords
- All figures (include relevant captions)
- All tables (including titles, description, footnotes)
- Ensure all figure and table citations in the text match the files provided
 - Indicate clearly if color should be used for any figures in print *Graphical Abstracts / Highlights files* (where applicable) *Supplemental files* (where applicable)

Further considerations

- Manuscript has been 'spell checked' and 'grammar checked'
- All references mentioned in the Reference List are cited in the text, and viceversa
- Permission has been obtained for use of copyrighted material from other sources (including the Internet)
 - A competing interests statement is provided, even if the authors have no competing interests to declare
- Journal policies detailed in this guide have been reviewed
- Referee suggestions and contact details provided, based on journal requirements For further information,

visit our [Support Center](#).

BEFORE YOU BEGIN

Ethics in publishing

Please see our information pages on [Ethics in publishing](#) and [Ethical guidelines for journal publication](#).

Studies in humans and animals

If the work involves the use of human subjects, the author should ensure that the work described has been carried out in accordance with [The Code of Ethics of the World Medical Association](#) (Declaration of Helsinki) for experiments involving humans. The manuscript should be in line with the [Recommendations for the Conduct, Reporting, Editing and Publication of Scholarly Work in Medical Journals](#) and aim for the inclusion of representative human populations (sex, age and ethnicity) as per those recommendations. The terms [sex and gender](#) should be used correctly.

Authors should include a statement in the manuscript that informed consent was obtained for experimentation with human subjects. The privacy rights of human subjects must always be observed.

All animal experiments should comply with the [ARRIVE guidelines](#) and should be carried out in accordance with the U.K. Animals (Scientific Procedures) Act, 1986 and associated guidelines, [EU Directive 2010/63/EU for animal experiments](#), or the National Institutes of Health guide for the care and use of Laboratory animals (NIH Publications No. 8023, revised 1978) and the authors should clearly indicate in the manuscript that such guidelines have been followed. The sex of animals must be indicated, and where appropriate, the influence (or association) of sex on the results of the study.

Declaration of interest

All authors must disclose any financial and personal relationships with other people or organizations that could inappropriately influence (bias) their work. Examples of potential competing interests include employment, consultancies, stock ownership, honoraria, paid expert testimony, patent applications/registrations, and grants or other funding. Authors must disclose any interests in two places: 1. A summary declaration of interest statement in the title page file (if double-blind) or the manuscript file (if single-blind). If there are no interests to declare then please state this: 'Declarations of interest: none'. This summary statement will be ultimately published if the article is accepted.

2. Detailed disclosures as part of a separate Declaration of Interest form, which forms part of the journal's official records. It is important for potential interests to be declared in both places and that the information matches. [More information](#).

Submission declaration and verification

Submission of an article implies that the work described has not been published previously (except in the form of an abstract, a published lecture or academic thesis, see '[Multiple, redundant or concurrent publication](#)' for more information), that it is not under consideration for publication elsewhere, that its publication is approved by all authors and tacitly or explicitly by the responsible authorities where the work was carried out, and that, if accepted, it will not be published elsewhere in the same form, in English or in any other language, including electronically without the written consent of the copyright- holder. To verify originality, your article may be checked by the originality detection service [Crossref Similarity Check](#).

Preprints

Please note that [preprints](#) can be shared anywhere at any time, in line with Elsevier's [sharing policy](#). Sharing your preprints e.g. on a preprint server will not count as prior publication (see '[Multiple, redundant or concurrent publication](#)' for more information).

Use of inclusive language

Inclusive language acknowledges diversity, conveys respect to all people, is sensitive to differences, and promotes equal opportunities. Content should make no assumptions about the beliefs or commitments of any reader; contain nothing which might imply that one individual is superior to another on the grounds of age, gender, race, ethnicity, culture, sexual orientation, disability or health condition; and use inclusive language throughout. Authors should ensure that writing is free from bias, stereotypes, slang, reference to dominant culture and/or cultural assumptions. We advise to seek gender neutrality by using plural nouns ("clinicians, patients/clients") as default/wherever possible to avoid using "he, she," or "he/she." We recommend avoiding the use of descriptors that refer to personal attributes such as age, gender, race, ethnicity, culture, sexual orientation, disability or health condition unless they are relevant and valid. These guidelines are meant as a point of reference to help identify appropriate language but are by no means exhaustive or definitive.

Author contributions

For transparency, we encourage authors to submit an author statement file outlining their individual contributions to the paper using the relevant CRediT roles: Conceptualization; Data curation; Formal analysis; Funding acquisition; Investigation; Methodology; Project administration; Resources; Software; Supervision; Validation; Visualization; Roles/Writing - original draft; Writing - review & editing. Authorship statements should be formatted with the names of authors first and CRediT role(s) following. [More details and an example](#)

Authorship

All authors should have made substantial contributions to all of the following: (1) the conception and design of the study, or acquisition of data, or analysis and interpretation of data, (2) drafting the article or revising it critically for important intellectual content, (3) final approval of the version to be submitted.

Changes to authorship

Authors are expected to consider carefully the list and order of authors **before** submitting their manuscript and provide the definitive list of authors at the time of the original submission. Any addition, deletion or rearrangement of author names in the authorship list should be made only **before** the manuscript has been accepted and only if approved by the journal Editor. To request such a change, the Editor must receive the following from the **corresponding author**: (a) the reason for the change in author list and (b) written confirmation (e-mail, letter) from all authors that they agree with the addition, removal or rearrangement. In the case of addition or removal of authors, this includes confirmation from the author being added or removed.

Only in exceptional circumstances will the Editor consider the addition, deletion or rearrangement of authors **after** the manuscript has been accepted. While the Editor considers the request, publication of the manuscript will be suspended. If the manuscript has already been published in an online issue, any requests approved by the Editor will result in a corrigendum.

Copyright

Upon acceptance of an article, authors will be asked to complete a 'Journal Publishing Agreement' (see [more information](#) on this). An e-mail will be sent to the corresponding author confirming receipt of the manuscript together with a 'Journal Publishing Agreement' form or a link to the online version of this agreement.

Subscribers may reproduce tables of contents or prepare lists of articles including abstracts for internal circulation within their institutions. [Permission](#) of the Publisher is required for resale or distribution outside the institution and for all other derivative works, including compilations and translations. If excerpts from other copyrighted works are included, the author(s) must obtain written permission from the copyright owners and credit the source(s) in the article. Elsevier has [preprinted forms](#) for use by authors in these cases.

For gold open access articles: Upon acceptance of an article, authors will be asked to complete an 'Exclusive License Agreement' ([more information](#)). Permitted third party reuse of gold open access articles is determined by the author's choice of [user license](#).

Author rights

As an author you (or your employer or institution) have certain rights to reuse your work.
[More information.](#)

Elsevier supports responsible sharing

Find out how you can [share your research](#) published in Elsevier journals.

Role of the funding source

You are requested to identify who provided financial support for the conduct of the research and/or preparation of the article and to briefly describe the role of the sponsor(s), if any, in study design; in the collection, analysis and interpretation of data; in the writing of the report; and in the decision to submit the article for publication. If the funding source(s) had no such involvement then this should be stated.

Open access

Please visit our [Open Access page](#) for more information.

Elsevier Researcher Academy

[Researcher Academy](#) is a free e-learning platform designed to support early and mid-career researchers throughout their research journey. The "Learn" environment at Researcher Academy offers several interactive modules, webinars, downloadable guides and resources to guide you through the process of writing for research and going through peer review. Feel free to use these free resources to improve your submission and navigate the publication process with ease.

Language (usage and editing services)

Please write your text in good English (American or British usage is accepted, but not a mixture of these). Authors who feel their English language manuscript may require editing to eliminate possible grammatical or spelling errors and to conform to correct scientific English may wish to use the [English Language Editing service](#) available from Elsevier's Author Services.

Submission

Our online submission system guides you stepwise through the process of entering your article details and uploading your files. The system converts your article files to a single PDF file used in the peer-review process. Editable files (e.g., Word, LaTeX) are required to typeset your article for final publication. All correspondence, including notification of the Editor's decision and requests for revision, is sent by e-mail.

Submit your article

Please submit your article via <https://ees.elsevier.com/therio/default.asp>.

Referees

Please submit the names and institutional e-mail addresses of several potential referees. For more details, visit our [Support site](#). Note that the editor retains the sole right to decide whether or not the suggested reviewers are used.

PREPARATION

Use of word processing software

It is important that the file be saved in the native format of the word processor used. The text should be in single-column format. Keep the layout of the text as simple as possible. Most formatting codes will be removed and replaced on processing the article. In particular, do not use the word processor's options to justify text or to hyphenate words. However, do use bold face, italics, subscripts, superscripts etc. When preparing tables, if you are using a table grid, use only one grid for each individual table and not a grid for each row. If no grid is used, use tabs, not spaces, to align columns. The electronic text should be prepared in a way very similar to that of conventional manuscripts (see also the [Guide to Publishing with Elsevier](#)). Note that source files of figures, tables and text graphics will be required whether or not you embed your figures in the text. See also the section on Electronic artwork.

To avoid unnecessary errors you are strongly advised to use the 'spell-check' and 'grammar-check' functions of your word processor.

Pages and lines should be numbered.

Article structure

Subdivision - numbered sections

Divide your article into clearly defined and numbered sections. Subsections should be numbered

1.1 (then 1.1.1, 1.1.2, ...), 1.2, etc. (the abstract is not included in section numbering). Use this numbering also for internal cross-referencing: do not just refer to 'the text'. Any subsection may be given a brief heading. Each heading should appear on its own separate line.

Introduction

State the objectives of the work and provide an adequate background, avoiding a detailed literature survey or a summary of the results.

Material and methods

Provide sufficient details to allow the work to be reproduced by an independent researcher. Methods that are already published should be summarized, and indicated by a reference. If quoting directly from a previously published method, use quotation marks and also cite the source. Any modifications to existing methods should also be described.

Results

Results should be clear and concise.

Discussion

This should explore the significance of the results of the work, not repeat them. A combined Results and Discussion section is often appropriate. Avoid extensive citations and discussion of published literature.

Conclusions

The main conclusions of the study may be presented in a short Conclusions section, which may stand alone or form a subsection of a Discussion or Results and Discussion section.

Essential title page information

- **Title.** Concise and informative. Titles are often used in information-retrieval systems. Avoid abbreviations and formulae where possible.
- **Author names and affiliations.** Please clearly indicate the given name(s) and family name(s) of each author and check that all names are accurately spelled. You can add your name between parentheses in your own script behind the English transliteration. Present the authors' affiliation addresses (where the actual work was done) below the names. Indicate all affiliations with a lower- case superscript letter immediately after the author's name and in front of the appropriate address. Provide the full postal address of each affiliation, including the country name and, if available, the e-mail address of each author.
- **Corresponding author.** Clearly indicate who will handle correspondence at all stages of refereeing and publication, also post-publication. This responsibility includes answering any future queries about Methodology and Materials. **Ensure that the e-mail address is given and that contact details are kept up to date by the corresponding author.**
- **Present/permanent address.** If an author has moved since the work described in the article was done, or was visiting at the time, a 'Present address' (or 'Permanent address') may be indicated as a footnote to that author's name. The address at which the author actually did the work must be retained as the main, affiliation address. Superscript Arabic numerals are used for such footnotes.

Highlights

Highlights are optional yet highly encouraged for this journal, as they increase the discoverability of your article via search engines. They consist of a short collection of bullet points that capture the novel results of your research as well as new methods that were used during the study (if any). Please have a look at the examples here: [example Highlights](#).

Highlights should be submitted in a separate editable file in the online submission system. Please use 'Highlights' in the file name and include 3 to 5 bullet points (maximum 85 characters, including spaces, per bullet point).

Abstract

A concise and factual abstract is required. The abstract should state briefly the purpose of the research, the principal results and major conclusions. Since an abstract is often presented separately from the article, it must be able to stand alone. For this reason, references should

generally be avoided, but if essential, they must be cited in full, without reference to the reference list. Also, non-standard or uncommon abbreviations should be avoided, but if their use is essential, they must be defined at their first mention in the abstract itself. Abstracts must be limited to a single paragraph with no more than 2,500 keystrokes (characters plus spaces).

Keywords

Immediately after the abstract, provide a maximum of 6 keywords, using American spelling and avoiding general and plural terms and multiple concepts (avoid, for example, 'and', 'of'). Be sparing with abbreviations: only abbreviations firmly established in the field may be eligible. These keywords will be used for indexing purposes.

Acknowledgements

Collate acknowledgements in a separate section at the end of the article before the references; therefore, do not include them on the title page, as a footnote to the title, etc.. List individuals who provided help during the research (e.g., providing language help, writing assistance or proof reading the article, etc.), sources of financial support, and donations of products and materials.

Formatting of funding sources

List funding sources in this standard way to facilitate compliance to funder's requirements:

Funding: This work was supported by the National Institutes of Health [grant numbers xxxx, yyyy]; the Bill & Melinda Gates Foundation, Seattle, WA [grant number zzzz]; and the United States Institutes of Peace [grant number aaaa].

It is not necessary to include detailed descriptions on the program or type of grants and awards. When funding is from a block grant or other resources available to a university, college, or other research institution, submit the name of the institute or organization that provided the funding.

If no funding has been provided for the research, please include the following sentence:

This research did not receive any specific grant from funding agencies in the public, commercial, or not-for-profit sectors.

Nomenclature and units

Follow internationally accepted rules and conventions: use the international system of units (SI). If other quantities are mentioned, give their equivalent in SI. You are urged to consult [IUB: Biochemical Nomenclature and Related Documents](#) for further information.

Math formulae

Please submit math equations as editable text and not as images. Present simple formulae in line with normal text where possible and use the solidus (/) instead of a horizontal line for small fractional terms, e.g., X/Y. In principle, variables are to be presented in italics. Powers of e are often more conveniently denoted by exp. Number consecutively any equations that have to be displayed separately from the text (if referred to explicitly in the text).

Footnotes

Footnotes should be used sparingly. Number them consecutively throughout the article. Many word processors can build footnotes into the text, and this feature may be used. Otherwise, please indicate the position of footnotes in the text and list the footnotes themselves separately at the end of the article. Do not include footnotes in the Reference list.

Artwork

Image manipulation

Whilst it is accepted that authors sometimes need to manipulate images for clarity, manipulation for purposes of deception or fraud will be seen as scientific ethical abuse and will be dealt with accordingly. For graphical images, this journal is applying the following policy: no specific feature within an image may be enhanced, obscured, moved, removed, or introduced. Adjustments of brightness, contrast, or color b

alance are acceptable if and as long as they do not obscure or eliminate any information present in the original. Nonlinear adjustments (e.g. changes to gamma settings) must be disclosed in the figure legend.

Electronic artwork General points

- Make sure you use uniform lettering and sizing of your original artwork.
- Embed the used fonts if the application provides that option.
 - Aim to use the following fonts in your illustrations: Arial, Courier, Times New Roman, Symbol, or use fonts that look similar.
- Number the illustrations according to their sequence in the text.
- Use a logical naming convention for your artwork files.
- Provide captions to illustrations separately.
- Size the illustrations close to the desired dimensions of the published version.
- Submit each illustration as a separate file.
- Ensure that color images are accessible to all, including those with impaired colorvision.

A detailed [guide on electronic artwork](#) is available.

You are urged to visit this site; some excerpts from the detailed information are given here.

Formats

If your electronic artwork is created in a Microsoft Office application (Word, PowerPoint, Excel) then please supply 'as is' in the native document format.

Regardless of the application used other than Microsoft Office, when your electronic artwork is finalized, please 'Save as' or convert the images to one of the following formats (note the resolution requirements for line drawings, halftones, and line/halftone combinations given below):

EPS (or PDF): Vector drawings, embed all used fonts.

TIFF (or JPEG): Color or grayscale photographs (halftones), keep to a minimum of 300 dpi.

TIFF (or JPEG): Bitmapped (pure black & white pixels) line drawings, keep to a minimum of 1000 dpi. TIFF (or JPEG): Combinations bitmapped line/half-tone (color or grayscale), keep to a minimum of 500 dpi.

Please do not:

- Supply files that are optimized for screen use (e.g., GIF, BMP, PICT, WPG); these typically have a low number of pixels and limited set of colors;
- Supply files that are too low in resolution;
- Submit graphics that are disproportionately large for the content.

Color artwork

Please make sure that artwork files are in an acceptable format (TIFF (or JPEG), EPS (or PDF), or MS Office files) and with the correct resolution. If, together with your accepted article, you submit usable color figures then Elsevier will ensure, at no additional charge, that these figures will appear in color online (e.g., ScienceDirect and other sites) regardless of whether or not these illustrations are reproduced in color in the printed version. **For color reproduction in print, you will receive information regarding the costs from Elsevier after receipt of your accepted article.** Please indicate your preference for color: in print or online only. [Further information on the preparation of electronic artwork.](#)

Figure captions

Ensure that each illustration has a caption. Supply captions separately, not attached to the figure. A caption should comprise a brief title (**not** on the figure itself) and a description of the illustration. Keep text in the illustrations themselves to a minimum but explain all symbols and abbreviations used.

Text graphics

Text graphics may be embedded in the text at the appropriate position. If you are working with LaTeX and have such features embedded in the text, these can be left. See further under Electronic artwork.

Tables

Please submit tables as editable text and not as images. Tables can be placed either next to the relevant text in the article, or on separate page(s) at the end. Number tables consecutively in accordance with their appearance in the text and place any table notes below the table body. Be sparing in the use of tables and ensure that the data presented in

them do not duplicate results described elsewhere in the article. Please avoid using vertical rules and shading in table cells.

References

Citation in text

Please ensure that every reference cited in the text is also present in the reference list (and vice versa). Any references cited in the abstract must be given in full. Unpublished results and personal communications are not recommended in the reference list, but may be mentioned in the text. If these references are included in the reference list they should follow the standard reference style of the journal and should include a substitution of the publication date with either 'Unpublished results' or 'Personal communication'. Citation of a reference as 'in press' implies that the item has been accepted for publication.

Web references

As a minimum, the full URL should be given and the date when the reference was last accessed. Any further information, if known (DOI, author names, dates, reference to a source publication, etc.), should also be given. Web references can be listed separately (e.g., after the reference list) under a different heading if desired, or can be included in the reference list.

Data references

This journal encourages you to cite underlying or relevant datasets in your manuscript by citing them in your text and including a data reference in your Reference List. Data references should include the following elements: author name(s), dataset title, data repository, version (where available), year, and global persistent identifier. Add [dataset] immediately before the reference so we can properly identify it as a data reference. The [dataset] identifier will not appear in your published article.

References in a special issue

Please ensure that the words 'this issue' are added to any references in the list (and any citations in the text) to other articles in the same Special Issue.

Reference management software

Most Elsevier journals have their reference template available in many of the most popular reference management software products. These include all products that support [Citation Style Language styles](#), such as [Mendeley](#). Using citation plug-ins from these products, authors only need to select the appropriate journal template when preparing their article, after which citations and bibliographies will be automatically formatted in the journal's style. If no template is yet available for this journal, please follow the format of the sample references and citations as shown in this Guide. If you use reference management software, please ensure that you remove all field codes before submitting the electronic manuscript. [More information on how to remove field codes from different reference management software.](#)

Users of Mendeley Desktop can easily install the reference style for this journal by clicking the following link:

<http://open.mendeley.com/use-citation-style/theriogenology>

When preparing your manuscript, you will then be able to select this style using the Mendeley plug-ins for Microsoft Word or LibreOffice.

Reference style

Text: Indicate references by number(s) in square brackets in line with the text. The actual authors can be referred to, but the reference number(s) must always be given.

List: Number the references (numbers in square brackets) in the list in the order in which they appear in the text.

Examples:

Reference to a journal publication:

[1] Van der Geer J, Hanraads JAJ, Lupton RA. The art of writing a scientific article. *J Sci Commun* 2010;163:51–9. <https://doi.org/10.1016/j.Sc.2010.00372>.

Reference to a journal publication with an article number:

[2] Van der Geer J, Hanraads JAJ, Lupton RA. The art of writing a scientific article. *Heliyon*. 2018;19:e00205. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2018.e00205>

Reference to a book:

[3] Strunk Jr W, White EB. *The elements of style*. 4th ed. New York: Longman; 2000. Reference to a chapter in an edited book:

[4] Mettam GR, Adams LB. How to prepare an electronic version of your article. In: Jones BS, Smith RZ, editors. *Introduction to the electronic age*, New York: E-Publishing Inc; 2009, p. 281–304. Reference to a website:

[5] Cancer Research UK. Cancer statistics reports for the UK, <http://www.cancerresearchuk.org/aboutcancer/statistics/cancerstatsreport/>; 2003 [accessed 13 March 2003].

Reference to a dataset:

[dataset] [6] Oguro M, Imahiro S, Saito S, Nakashizuka T. Mortality data for Japanese oak wilt disease and surrounding forest compositions, Mendeley Data, v1; 2015. <https://doi.org/10.17632/xwj98nb39r.1>.

Note shortened form for last page number. e.g., 51–9, and that for more than 6 authors the first 6 should be listed followed by 'et al.' For further details you are referred to 'Uniform Requirements for Manuscripts submitted to Biomedical Journals' (*J Am Med Assoc* 1997;277:927–34) (see also [Samples of Formatted References](#)).

Journal Abbreviation Source

Journal names should be abbreviated according to Index Medicus journal abbreviations: <http://www.nlm.nih.gov/tsd/serials/lji.html>; List of serial title word abbreviations: <http://www.issn.org/2-22661-LTWA-online.php>; CAS (Chemical Abstracts Service): <http://www.cas.org/sent.html>

Video

Elsevier accepts video material and animation sequences to support and enhance your scientific research. Authors who have video or animation files that they wish to submit with their article are strongly encouraged to include links to these within the body of the article. This can be done in the same way as a figure or table by referring to the video or animation content and noting in the body text where it should be placed. All submitted files should be properly labeled so that they directly relate to the video file's content. In order to ensure that your video or animation material is directly usable, please provide the file in one of our recommended file formats with a preferred maximum size of 150 MB per file, 1 GB in total. Video and animation files supplied will be published online in the electronic version of your article in Elsevier Web products, including [ScienceDirect](#). Please supply 'stills' with your files: you can choose any frame from the video or animation or make a separate image. These will be used instead of standard icons and will personalize the link to your video data. For more detailed instructions please visit our [video instruction pages](#). Note: since video and animation cannot be embedded in the print version of the journal, please provide text for both the electronic and the print version for the portions of the article that refer to this content.

Supplementary material

Supplementary material such as applications, images and sound clips, can be published with your article to enhance it. Submitted supplementary items are published exactly as they are received (Excel or PowerPoint files will appear as such online). Please submit your material together with the article and supply a concise, descriptive caption for each supplementary file. If you wish to make changes to supplementary material during any stage of the process, please make sure to provide an updated file. Do not annotate any corrections on a previous version. Please switch off the 'Track Changes' option in Microsoft Office files as these will appear in the published version.

Research data

This journal encourages and enables you to share data that supports your research publication where appropriate, and enables you to interlink the data with your published articles. Research data refers to the results of observations or experimentation that validate research findings. To facilitate reproducibility and data reuse, this journal also encourages you to share your software, code, models, algorithms, protocols, methods and other useful materials related to the project.

Below are a number of ways in which you can associate data with your article or make a statement about the availability of your data when submitting your manuscript. If you are sharing data in one of these ways, you are encouraged to cite the data in your manuscript and reference list. Please refer to the "References" section for more information about data citation. For more information on depositing, sharing and using research data and other relevant research materials, visit the [research data](#) page.

Data linking

If you have made your research data available in a data repository, you can link your article directly to the dataset. Elsevier collaborates with a number of repositories to link articles on ScienceDirect with relevant repositories, giving readers access to underlying data that gives them a better understanding of the research described.

There are different ways to link your datasets to your article. When available, you can directly link your dataset to your article by providing the relevant information in the submission system. For more information, visit the [database linking page](#).

For [supported data repositories](#) a repository banner will automatically appear next to your published article on ScienceDirect.

In addition, you can link to relevant data or entities through identifiers within the text of your manuscript, using the following format: Database: xxxx (e.g., TAIR: AT1G01020; CCDC: 734053; PDB: 1XFN).

Mendeley Data

This journal supports Mendeley Data, enabling you to deposit any research data (including raw and processed data, video, code, software, algorithms, protocols, and methods) associated with your manuscript in a free-to-use, open access repository. During the submission process, after uploading your manuscript, you will have the opportunity to upload your relevant datasets directly to *Mendeley Data*. The datasets will be listed and directly accessible to readers next to your published article online.

For more information, visit the [Mendeley Data for journals page](#).

Data in Brief

You have the option of converting any or all parts of your supplementary or additional raw data into one or multiple data articles, a new kind of article that houses and describes your data. Data articles ensure that your data is actively reviewed, curated, formatted, indexed, given a DOI and publicly available to all upon publication. You are encouraged to submit your article for *Data in Brief* as an additional item directly alongside the revised version of your manuscript. If your research article is accepted, your data article will automatically be transferred over to *Data in Brief* where it will be editorially reviewed and published in the open access data journal, *Data in Brief*. Please note an open access fee of 600 USD is payable for publication in *Data in Brief*. Full details can be found on the [Data in Brief website](#). Please use [this template](#) to write your Data in Brief.

Data statement

To foster transparency, we encourage you to state the availability of your data in your submission. This may be a requirement of your funding body or institution. If your data is unavailable to access or unsuitable to post, you will have the opportunity to indicate why during the submission process, for example by stating that the research data is confidential.

The statement will appear with your published article on ScienceDirect. For more information, visit the [Data Statement page](#).

Additional Style Notes

Please use the following words, phrases, abbreviations, and stylistic conventions

- Avoid the word "injected," (e.g., "Cows were injected with cloprostenol") but include the generic name, proprietary name, dosage and route of administration (e.g., "Cows were treated with cloprostenol [Estrumate 500 µg im]").
- Either cite a P value (recommended for Abstract and for Results) or use the term 'significant' (recommended for Discussion), but generally avoid doing both.
- Terms with a specific statistical meaning (i.e. significant, tended and correlated), should only be used in a strict statistical context.
- Numbers less than 10 are written as a word, unless followed by an abbreviation for unit of measure, e.g. five embryos, 5 min

Use the following expressions

- transrectal palpation, not rectal palpation
- nucleus transfer, not nuclear transplant
- estrus (noun) synchronization, but, estrous (adjective) behavior
- sperm can be used as both noun and adjective
- 120 to 125, not 120-125
- treatment by period, not treatment X period
- gravity: 100 X g (in lieu of speed for centrifugation)
- magnification: X 100
- identification number of an animal: No. 10, but 30 animals: n = 30
- 3 d, Day 3 (define Day 0)

Standard definitions

- oogonium: female gamete before meiosis
- oocyte, primary: female gamete from onset of the first maturation division (meiosis) to extrusion of the first polar body
- oocyte secondary: female gamete from onset of second meiosis to extrusion of the second polar body
- ovum: female gamete from the end of both meiotic divisions until the union of the male and female pronuclei (differs from the common use of ovum as a general term for any female gamete)
- germinal vesicle: nucleus of the ovum
- zygote: a fertilized ovum, from fusion of the male and female gamete to completion of first cleavage
- embryo: a conceptus from the 2-cell stage to the stage when cell migration and differentiation are largely complete
- fetus: a conceptus after organogenesis is mostly complete (primarily increasing in size)
- conceptus: an embryo or fetus with all its membranes and accessory structures
- abortion: expulsion of a conceptus incapable of independent life
- premature parturition: expulsion (before full term) of a conceptus capable of independent life
- stillbirth: avoid this term (use fetal death or abortion)

Abbreviations

Never use an abbreviation to start a sentence. Some abbreviations may be used anywhere else, including the manuscript's title and in figures, table titles and legends, without definition; others may not be used in the title, but may be used in the text without definition. In general, abbreviations must be defined when used for the first time (this may be avoided in the ABSTRACT if necessary to conserve space). To make reading the paper more pleasant, avoid using excessive abbreviations and acronyms; instead use short synonyms, for instance: for "Cesarean section" instead of "CS" use "section" or "hysterotomy."

The following abbreviations may be used in the text without definition (note that abbreviations exclude periods):

theriochart.jpgchart

Units of Measure

cpm - counts per min

dpm - disintegrations per min g - gram

ga - gauge of hypodermic needle h - hour

kg - kilogram L - liter

mL - milliliter μ L - microliter m - meter min - minute mo - month

s - second

v:v - volume ratio wk - week

wt/vol - weight per volume y - year

Routes of treatment

id - intradermal im - intramuscular iu - intrauterine

iv - intravenous sc - subcutaneous po - oral

Statistical expressions ANOVA - analysis of variance CV - coefficient of variation df - degrees of freedom

F - variance ratio NS - not significant P - probability

SD - standard deviation

SEM - standard error of the mean r - correlation coefficient

r^2 - coefficient of regression

Additional information

- For issues of style and format not addressed here, please consult *Scientific Style and Format: The CBE Manual for Authors, Editors, and Publishers, Sixth Edition*.
- For spelling, word formation and divisions, plurals, possessives, meanings and usage, consult the CBE Manual or a current English language (collegiate-level or higher) dictionary.
- For conflicts between instructions in this Guide and any of the references, the Guide takes precedence. Do not hesitate to contact the Editorial Office if you have any questions regarding preparation of your manuscript.

AFTER ACCEPTANCE

Online proof correction

To ensure a fast publication process of the article, we kindly ask authors to provide us with their proof corrections within two days. Corresponding authors will receive an e-mail with a link to our online proofing system, allowing annotation and correction of proofs online. The environment is similar to MS Word: in addition to editing text, you can also comment on figures/tables and answer questions from the Copy Editor. Web-based proofing provides a

faster and less error-prone process by allowing you to directly type your corrections, eliminating the potential introduction of errors.

If preferred, you can still choose to annotate and upload your edits on the PDF version. All instructions for proofing will be given in the e-mail we send to authors, including alternative methods to the online version and PDF.

We will do everything possible to get your article published quickly and accurately. Please use this proof only for checking the typesetting, editing, completeness and correctness of the text, tables and figures. Significant changes to the article as accepted for publication will only be considered at this stage with permission from the Editor. It is important to ensure that all corrections are sent back to us in one communication. Please check carefully before replying, as inclusion of any subsequent corrections cannot be guaranteed. Proofreading is solely your responsibility.

Offprints

The corresponding author will, at no cost, receive a customized [Share Link](#) providing 50 days free access to the final published version of the article on [ScienceDirect](#). The Share Link can be used for sharing the article via any communication channel, including email and social media. For an extra charge, paper offprints can be ordered via the offprint order form which is sent once the article is accepted for publication. Both corresponding and co-authors may order offprints at any time via Elsevier's [Author Services](#). Corresponding authors who have published their article gold open access do not receive a Share Link as their final published version of the article is available open access on ScienceDirect and can be shared through the article DOI link.

AUTHOR INQUIRIES

Visit the [Elsevier Support Center](#) to find the answers you need. Here you will find everything from Frequently Asked Questions to ways to get in touch.

You can also [check the status of your submitted article](#) or find out [when your accepted article will be published](#).