

Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” - UNESP
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia
Campus Botucatu

THAYNÁ CUNHA DE ALMEIDA

**AVALIAÇÃO DE MARCADORES DE IMATURIDADE PULMONAR NO
LÍQUIDO AMNIÓTICO DE FETOS CANINOS**

Botucatu
2025

THAYNÁ CUNHA DE ALMEIDA

**AVALIAÇÃO DE MARCADORES DE IMATURIDADE PULMONAR NO
LÍQUIDO AMNIÓTICO DE FETOS CANINOS**

Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação
apresentado à Faculdade de Medicina Veterinária e
Zootecnia da Universidade “Júlio de Mesquita Filho”,
Campus de Botucatu, SP, para obtenção do grau de
Médica Veterinária.

Preceptor: Prof. Dra. Maricy Apparício Ferreira

Botucatu, 2025

D279a

de Almeida, Thayná Cunha

Avaliação de marcadores de imaturidade pulmonar no líquido amniótico de fetos caninos / Thayná Cunha de Almeida. -- Botucatu, 2025

25 p. : fotos

Trabalho de conclusão de curso (Bacharelado - Medicina Veterinária) - Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu

Orientadora: Maricy Apparício Ferreira

1. Líquido amniótico. 2. Cesariana. 3. Maturidade fetal. I. Título.

THAYNÁ CUNHA DE ALMEIDA

**AVALIAÇÃO DE MARCADORES DE IMATURIDADE PULMONAR NO
LÍQUIDO AMNIÓTICO DE FETOS CANINOS**

Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação apresentado à Universidade "Júlio de Mesquita Filho", Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu - SP, para obtenção do título de Bacharel em Medicina Veterinária

Área de Concentração: Reprodução Animal

Data da defesa: 10/11/2025

Banca Examinadora:

Profa. Dra. Maricy Apparicio Ferreira

UNESP - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia - Campus de Botucatu

Pós- Graduanda Elisa de Castro Bachegga

UNESP - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia - Campus de Botucatu

Pós- Graduando Matheus Lopes Ribeiro

UNESP - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia - Campus de Botucatu

RESUMO

Raças braquicefálicas passaram por constantes modificações genéticas para realçar algumas características selecionadas, o que as tornou predispostas a problemas de saúde, como distúrbios no parto, anomalias cardíacas e complicações no trato digestório e respiratório. Por isso, a cesariana eletiva é frequentemente necessária para essas raças. O líquido amniótico é considerado uma matriz promissora para o diagnóstico e prognóstico da maturidade canina, mas existem poucos estudos sobre o tema. Compreender sua composição pode ajudar a elucidar a maturidade fetal e identificar alterações, melhorando os cuidados neonatais e aumentando a sobrevivência de neonatos com alterações fisiológicas. O objetivo deste estudo foi avaliar marcadores de imaturidade pulmonar no líquido amniótico de fetos caninos, empregando o Teste de Clements, a coloração pelo Azul de Nilo e a dosagem de cortisol, além de correlacionar esses achados com o tipo de parto e a vitalidade neonatal, por meio do escore de Apgar adaptado. Neste estudo, foram acompanhadas 26 cadelas gestantes: 18 realizaram cesariana terapêutica, seis realizaram cesarianas eletivas, e duas finalizaram em parto normal, apesar do encaminhamento inicial para cirurgia. Como métodos, foram utilizados o Teste de Clements, citologia com coloração pelo Azul de Nilo, escore de Apgar e níveis de cortisol. O Teste de Clements é um método bioquímico empregado na avaliação da maturidade pulmonar fetal, baseado na formação ou ausência de halos de bolhas resultantes da interação do surfactante pulmonar com a solução utilizada. Já a citologia com coloração pelo Azul de Nilo é aplicada para a quantificação de células orangiófilas, originárias da descamação da pele fetal, em que se observa aumento quantitativo proporcionalmente ao avanço da maturidade fetal. Na avaliação dos neonatos pelo escore Apgar, a média para as cesarianas eletivas foi de 8,37, enquanto nas cesarianas emergenciais foi de 9,30, refletindo a necessidade de maior suporte neonatal em alguns casos. A maturidade pulmonar foi avaliada pelo Teste de Clements, que mostrou resultados positivos em 23 das 30 amostras, incluindo 20 de raças braquicefálicas submetidas a cesariana eletiva. Em 10 amostras com presença de mecônio, os filhotes mantiveram um escore Apgar acima de 7, o que descartou estresse fetal. No teste de coloração com Azul de Nilo, não foram encontradas células alaranjadas indicativas de maturidade fetal, devido a possíveis interferências anatômicas e ao método de coloração. Por fim, os níveis de cortisol neonatal variaram conforme o tipo de parto: nas cesáreas terapêuticas, os níveis foram mais altos (23 ± 18 ng/ml), enquanto nas eletivas, ficaram em 16 ± 9 ng/ml. Esses níveis refletem uma adaptação fisiológica importante para enfrentar os desafios pós-parto, especialmente em partos de risco.

Palavras-chave: cesariana, líquido amniótico, maturidade fetal

ABSTRACT

Brachycephalic breeds have undergone constant genetic modifications to enhance selected traits, which has made them predisposed to various health problems, such as dystocia, cardiac anomalies, and complications in the digestive and respiratory tracts. For this reason, elective cesarean section is often necessary for these breeds. Amniotic fluid is considered a promising matrix for the diagnosis and prognosis of fetal maturity in dogs, but few studies on the topic are available. Understanding its composition may help elucidate fetal maturity and identify alterations, improving neonatal care and increasing the survival of neonates with physiological impairments. The objective of this study was to evaluate markers of pulmonary immaturity in the amniotic fluid of canine fetuses using the Clements Test, Nile Blue staining, and cortisol measurement, and to correlate these findings with the type of delivery and neonatal vitality assessed through the adapted Apgar score. In this study, 26 pregnant bitches were monitored: 18 underwent therapeutic cesarean section, six underwent elective cesarean section, and two completed gestation with natural birth despite the initial referral for surgery. The methods employed included the Clements Test, cytology with Nile Blue staining, Apgar scoring, and cortisol quantification. The Clements Test is a biochemical method used to assess fetal lung maturity, based on the presence or absence of bubble halos resulting from the interaction between pulmonary surfactant and the test solution. Cytology with Nile Blue staining is used to quantify orangeophilic cells originating from fetal skin desquamation, which increase proportionally with fetal maturation. In the evaluation of neonates using the Apgar score, the mean value for elective cesarean sections was 8.37, whereas in therapeutic cesarean sections it reached 9.30, reflecting the need for greater neonatal support in some cases. Pulmonary maturity was assessed using the Clements Test, which showed positive results in 23 of the 30 samples, including 20 from brachycephalic breeds undergoing elective cesarean section. In 10 samples containing meconium, neonates maintained Apgar scores above 7, ruling out fetal distress. In the Nile Blue staining test, no orange-stained cells indicative of fetal maturity were identified, likely due to anatomical interferences or limitations of the staining method. Finally, neonatal cortisol levels varied according to the type of delivery: in therapeutic cesarean sections, levels were higher (23 ± 18 ng/ml), while in elective cesareans they averaged 16 ± 9 ng/ml. These values reflect an important physiological adaptation to cope with postnatal challenges, especially in high-risk deliveries.

Keywords: cesarean section, amniotic fluid, fetal maturity

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	8
2. REVISÃO DE LITERATURA	8
2.1 Gestação e parto	8
2.2 Cesariana eletiva	9
2.4 Líquido amniótico	10
2.6 Alterações no líquido amniótico	11
3. MATERIAIS E MÉTODOS	12
3.1 Procedimento cirúrgico e anestésico	12
3.2 Coleta do material	12
3.3 Avaliação neonatal	13
3.4 Avaliação do material	14
3.4.1 Teste de Clements	14
3.4.2 Teste de citologia do azul do nilo	14
3.4.3 Dosagem de cortisol	14
3.5. Avaliação estatística	15
4. RESULTADOS	15
5. DISCUSSÃO	16
6. CONCLUSÃO	18
7. REFERÊNCIAS	19

1. INTRODUÇÃO

O cão braquicefálico é resultado da seleção artificial, originando raças como pug, bulldog inglês, bulldog francês, boston terrier e boxer, caracterizados por traços faciais infantis, o que fez com que aumentassem sua popularidade, embora também estejam associadas a sérios problemas de saúde (Ekenstedt et al., 2020; Freiche; German, 2021). Entre eles, destaca-se a alta incidência de partos distócicos, que leva à indicação frequente de cesarianas eletivas (60–80%) (Gilson, 2003; Wydooghe et al., 2013). Ainda assim, a mortalidade perinatal canina supera 30%, principalmente pela imaturidade fetal em funções como respiração, termorregulação, imunidade e metabolismo (Indrebo; Trangerud; Moe, 2007; Tonessen et al., 2012; Vannucchi et al., 2012; Lourenço; Machado, 2013). Consequentemente, neonatos são altamente suscetíveis a hipóxia, hipotermia, hipoglicemia e infecções, sendo a transição para a respiração pulmonar o ponto mais crítico da sobrevivência inicial (Münnich; Küchenmeister, 2014; Elbay et al., 2016).

Nesse cenário, o líquido amniótico surge como ferramenta promissora para avaliar a maturidade fetal e favorecer a sobrevivência de fetos com comprometimento sistêmico, embora os estudos veterinários sejam escassos e voltados principalmente a espécies de grande porte (Zaremba et al., 1997; Castagnetti et al., 2007; Riva et al., 2023). O conhecimento de sua composição pode aprimorar o manejo clínico e favorecer a sobrevivência de neonatos em risco (Çagdas et al., 2000; Riva et al., 2023).

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Gestação e parto

A gestação de humanos e cães apresentam diferenças marcantes, sobretudo em sua duração, tipo placentário e mecanismos hormonais que desencadeiam o parto. Nos humanos, a gestação dura em média 280 dias, permitindo um desenvolvimento fetal completo, enquanto em cães dura aproximadamente 63 dias, resultando em neonatos imaturos que necessitam de maiores cuidados pós-natais (Martin, 2003; Crews; Gerber, 2003; Carter, 2020).

A placenta humana, classificada como hemocorial, promove trocas metabólicas amplas e passagem de anticorpos maternos, conferindo proteção imunológica ao feto antes do nascimento (Mossman, 1987; Enders, 2002; Carter; Enders, 2004). Já nos cães, a placenta

endotélio-corial é menos invasiva, limitando as trocas materno-fetais; por isso, a imunidade passiva depende principalmente da ingestão de colostro nas primeiras horas de vida (Nowak et al., 2017).

O início do parto humano resulta da interação entre aumento de ocitocina e prostaglandinas, queda relativa de progesterona e produção de cortisol fetal, que amadurece os pulmões e estimula contrações uterinas (Challis et al., 2000; Thornton et al., 2015). Nos cães, o parto é desencadeado predominantemente pelo cortisol fetal, que promove a síntese de prostaglandinas placentárias e a queda da progesterona, conduzindo às contrações uterinas e dilatação cervical. Diferente dos humanos, a ocitocina materna não é determinante para o início, mas auxilia na fase final, reforçando as contrações (Concannon et al., 2001).

2.2 Cesariana eletiva

Existem alguns fatores que incitam o planejamento da cesariana eletiva, de modo a evitar um possível parto distócico, que colocaria em risco a vida da progenitora e dos filhotes. De acordo com uma pesquisa feita por EVANS e colaboradores 2010, numa análise de 13.141 cadelas, de 151 raças diferentes, cinco das 10 raças com maior registro de cesarianas eram braquicefálicas e dentro dessas, a percentagem de cesarianas nas raças Boston Terrier, Bulldog Francês e Bulldog Inglês foi superior a 80%. Cadelas de raças braquicefálicas apresentam risco significativamente aumentado de complicações perinatais, sendo quase 11 vezes superior ao de outras raças, devido à desproporção entre o diâmetro cefálico fetal e o canal do parto (Uchańska et al., 2022). Por essa razão, a cesariana eletiva tornou-se prática comum, uma vez que o parto natural implica riscos elevados para a ninhada, levantando inclusive questões éticas e de bem-estar animal na criação dessas raças. Situações de sofrimento fetal, identificadas por bradicardia, ou falhas no parto natural indicam a necessidade de intervenção cirúrgica (Davidson, 2010; Traas, 2008a). A cesariana é necessária em 60 a 80% dos casos de distocia em cadelas (Gilson, 2003). Apesar de ser uma medida frequente, alguns estudos indicam impacto negativo das cesarianas em raças braquicefálicas sobre a sobrevivência neonatal (Moon et al., 2000; Wydooghe et al., 2013).

A hipóxia perinatal decorrente da distocia constitui a principal causa não infecciosa de mortalidade neonatal, sendo responsável por até 90% das mortes nas primeiras 48 horas de vida (Kunchensmeister; Münnich, 2014). Embora a hipóxia transitória durante o parto seja fisiológica, a hipóxia prolongada em casos de distocia pode levar ao óbito fetal (Vannucchi et al., 2012). Além disso, a prematuridade e os partos cirúrgicos podem estar associados a

insuficiência respiratória e imaturidade pulmonar (Vannucchi et al., 2012, 2015). Diante desses riscos, a ressuscitação neonatal imediata após cesariana é fundamental para reduzir a mortalidade precoce e favorecer a sobrevivência durante as primeiras semanas de vida (Davidson, 2010; Moon et al., 2001). Nesse contexto, o escore de Apgar adaptado para medicina veterinária representa um método eficaz para avaliação da viabilidade neonatal e prognóstico de sobrevivência a curto prazo, considerando parâmetros como frequência cardíaca, frequência respiratória, coloração das mucosas, reflexos e mobilidade (Groppetti et al., 2010; Lúcio et al., 2009; Silva et al., 2009; Veronesi et al., 2009).

2.3 Neonatologia veterinária

A neonatologia estuda os recém-nascidos, sua fisiologia específica e os cuidados necessários para garantir a sobrevivência nesse período crítico, considerado a fase da vida que demanda maior atenção médica (Lourenço, 2015). O interesse pela área tem crescido em razão da elevada mortalidade de filhotes sem assistência adequada, estimada entre 20 e 30%, acarretando perdas financeiras, genéticas e emocionais (Dumon, 2005; Petersen, 2011). Entre os principais fatores de risco destacam-se a imaturidade fetal no momento do nascimento, relacionada especialmente à função pulmonar, termorregulação, imunidade e metabolismo energético (Lourenço, 2013; Machado, 2013; Vannucchi et al., 2012). A imaturidade pulmonar constitui a principal causa de mortalidade em filhotes prematuros, uma vez que a deficiência na troca gasosa pode levar à síndrome do desconforto respiratório (SDR) (Vannucchi et al., 2012). A SDR neonatal é caracterizada pela baixa produção de surfactante ou imaturidade estrutural pulmonar, afetando principalmente filhotes prematuros. Nesse contexto, a avaliação da maturidade pulmonar fetal é fundamental para orientar condutas obstétricas, sendo a prevenção do parto prematuro a principal medida para reduzir a morbidade e mortalidade respiratória neonatal (Taborda et al., 1998).

2.4 Líquido amniótico

O líquido amniótico (LA) contém uma grande quantidade de células em suspensão, cuja composição varia conforme o estágio gestacional, refletindo tanto a maturação fetal quanto o desenvolvimento dos anexos embrionários (Gosden, 1983). De aspecto claro e aquoso, o LA envolve o feto, proporcionando proteção contra choques mecânicos, permitindo seu crescimento intrauterino e auxiliando no desenvolvimento pulmonar e gastrointestinal, além de atuar como mediador das trocas químicas e celulares entre mãe e feto (Subramaniam et al., 2018). Sua composição é majoritariamente formada por água, eletrólitos, lipídios,

proteínas, hormônios e células, elementos que tornam o LA um recurso valioso para o diagnóstico pré-natal, já que contém informações biológicas da placenta e do feto. Assim, sua análise pode prever complicações gestacionais por refletir mecanismos biológicos fundamentais (Subramaniam et al., 2018; Li et al., 2023; Khatibani, 2018). Diversos testes bioquímicos, citológicos, imunológicos e biofísicos podem ser aplicados ao LA para avaliar a maturação pulmonar, renal e epidermal (Kjeldsberg; Knight, 1998; Miron, 2012). No entanto, devido à ocorrência de resultados falso-negativos, recomenda-se a utilização combinada de diferentes parâmetros para reduzir a margem de erro (Mathias et al., 1985).

2.6 Alterações no líquido amniótico

O hormônio cortisol desempenha um papel fundamental na fase inicial de maturação fetal no útero e na adaptação inicial dos neonatos. Em um estudo, B. BOLIS 2017, realizou uma análise das concentrações de cortisol nos líquidos amniótico e alantóide e foi observado que as concentrações de cortisol eram mais elevadas no líquido alantóide quando comparado ao líquido amniótico. Porém, nos filhotes que não sobreviveram às primeiras 24 horas de vida, as concentrações de cortisol eram mais elevadas no líquido amniótico. Isso propõe que a avaliação da concentração de cortisol no líquido amniótico pode auxiliar na identificação de filhotes que necessitam de cuidados especiais durante as primeiras 24 horas de vida (Bolis *et al.*, 2017). A alteração mais recorrente é a coloração amarelada, resultante da presença de mecônio, substância de aspecto espesso e amarronzada/amarelada acumulada no cólon fetal durante a gestação. O mecônio é composto por água, células epiteliais descamadas, restos do trato intestinal e urinário, vernix caseoso e secreções gastrointestinais (Ghidini; Poggi, 2009; Gohil; Soni; Vaishnav, 2015).

A eliminação de mecônio no LA pode estar associada a diferentes mecanismos fisiopatológicos. Uma hipótese sugere que esse fenômeno faça parte do processo natural de maturação fetal (Ghidini; Poggi, 2009). Outra teoria indica que sua liberação seja uma resposta ao sofrimento fetal, no qual a hipóxia desencadeia reflexos vagais, vasoconstrição e hiperperistaltismo, culminando na expulsão do mecônio (Hasaart; Kuppens; Moren, 2014). Embora alguns estudos associam a presença de mecônio no LA à hipóxia e acidose fetal (Miller; Lead, 1981; Nathan et al., 1994; Starks, 1980), outros não encontraram correlação significativa (Abramovici et al., 1974; Steer et al., 1989; Richey et al., 1995). Dessa forma, a interpretação clínica do líquido amniótico meconial permanece controversa, e a literatura atual busca esclarecer sua real associação com os desfechos perinatais (Gluck et al., 2020; Hirsch et al., 2016; Jaques et al., 2020; Mohammad et al., 2018; Rupa et al., 2018; Rodriguez

et al., 2018; Roy et al., 2019; Tamayev et al., 2021).

3. MATERIAL E MÉTODOS

Os animais aptos foram incluídos no estudo mediante assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) pelos tutores. Foram selecionadas cadelas de médio e grande porte, com idade entre 1 e 5 anos, atendidas na rotina do Hospital Veterinário da FMVZ-Unesp Botucatu e acompanhadas pelo Setor de Reprodução e Obstetrícia Animal. As fêmeas foram encaminhadas à cesariana por alterações nos exames iniciais ou por recomendação médica. Os exames avaliados incluíram inspeção clínica (edema vulvar, hemodinâmica e perfil cardiovascular), hemograma e ultrassonografia (Mylab Five, Esaote, Italy; transdutor linear de 7,5 MHz). Os animais foram divididos em dois grupos experimentais (n=6 cada): grupo 1, partos eutócicos; grupo 2, partos distócicos. As cesarianas e coletas de líquido amniótico foram realizadas por residentes e docentes do setor durante os procedimentos cirúrgicos.

3.1 Procedimento cirúrgico e anestésico

Os procedimentos cirúrgicos e anestésicos foram realizados pelos profissionais responsáveis de cada setor, seguindo protocolos indicados para gestantes. As cadelas foram submetidas à tricotomia abdominal, administração de medicação pré-anestésica, anestesia geral inalatória com intubação e anestesia epidural. Após assepsia, os animais foram posicionados em decúbito dorsal e submetidos a incisão pré-umbilical na linha média para acesso à cavidade abdominal e exteriorização dos cornos uterinos. A incisão uterina foi realizada em região de vasos menos calibrosos, e os fetos foram retirados por ordenha suave até a incisão. Após todos os fetos e envoltórios serem retirados, realizou-se à histerorrafia com dupla sutura invaginante utilizando fios absorvíveis e, posteriormente, à síntese do subcutâneo e da pele.

3.2 Coleta do material

O líquido amniótico foi coletado por punção da bolsa amniótica, antes da ruptura, utilizando seringas estéreis de 5,0 mL acopladas a agulhas descartáveis (40×16 mm). As amostras foram identificadas conforme a ordem de nascimento dos neonatos e armazenadas

em tubos de 1,5 mL previamente rotulados. Nos casos em que o líquido apresentava mecônio, essa informação foi registrada para posterior comparação.

3.3 Avaliação neonatal

Após a coleta, os envoltórios fetais e a placenta foram removidos. Os neonatos tiveram as vias aéreas desobstruídas com pera de sucção e compressas, seguidos de estímulo respiratório por fricção torácica. Para evitar hipotermia, foram aquecidos em colchão térmico e transferidos para a incubadora. A avaliação imediata foi realizada por meio do Escore Apgar modificado para veterinária (Veronesi, 2009), cujos parâmetros e respectivos escores encontram-se apresentados na Tabela 1.

Tabela 1. Escore de Apgar, adaptado de Veronesi (2009)

Parâmetros Avaliados	Escore		
	0	1	2
Frequência Cardíaca	Ausente	<180 bpm	180 a 250 bpm
Frequência Respiratória	Ausente	<15 mpm	>15 mrm
Tônus Muscular	Flacidez	Alguma Flexão	Movimentação Ativa
Irritabilidade Reflexa	Ausente	Vocalização	Vocalização alto
Coloração Mucosa	Cianótica	Pálido	Rosea
Total	0	5	10

Segundo Veronesi (2009), a viabilidade neonatal pode ser classificada em três categorias, de acordo com a pontuação obtida no escore: quando < 3, o neonato está em condição crítica, em que requer intervenção médica imediata; entre 4 e 6, condição reduzida, que demanda supervisão contínua com possível necessidade de suporte médico; e entre 7 e 10, condição considerada normal, na qual necessita apenas de cuidados de rotina. Os neonatos foram avaliados nos seguintes momentos: após a ressuscitação cardiopulmonar (E0), 5 minutos após a ressuscitação (E5), 30 minutos após (E30) e uma hora após a ressuscitação (E60).

3.4 Avaliação do material

Foram avaliados os líquidos amnióticos de cada neonato quanto ao seu aspecto macroscópico (cor, presença de grumos) e a maturação pulmonar utilizando Teste de Clements modificado e coloração para citologia com azul do nilo 0,1% modificado para cães. Foi comparado também a maturidade pulmonar dos neonatos nascidos meconiados e não meconiados.

3.4.1 Teste de Clements

O teste foi realizado seguindo as diretrizes de CLEMENTS e colaboradores (1972). Foram preparadas três diluições diferentes de LA em tubos de ensaio de 14 x 100 mm. Os tubos receberam quantidades diferentes de solução salina (0,9%=S) e etanol (95%=E). O tubo 1 recebeu 1ml de LA, o tubo 2 0,75 ml e o tubo 3 0,50 ml. Na sequência, foi adicionado solução fisiológica nos tubos 2 e 3 com intuito de padronizar o volume total em 1ml, sendo respectivamente 0,25 ml e 0,50ml. Após, acrescentou-se 1 ml de etanol a 95% em todos os tubos e, então, foram fechados com tampa de borracha limpa, para a execução da agitação manual por 15 segundos. Após 15 minutos de repouso em suporte vertical, foi avaliado a formação de bolhas: se um anel intacto de bolhas surgisse na interface ar/líquido, o resultado era considerado positivo, caso contrário, negativo.

3.4.2 Teste de citologia do azul do nilo

Para a coloração com Azul de Nilo, foram acrescentados aproximadamente 50 µL de LA em uma lâmina de microscópio, juntamente com 50 µL de solução de sulfato de Azul de Nilo a 0,1%. Duas diluições da solução corante foram preparadas, uma utilizando água destilada e outra utilizando álcool absoluto. As células derivadas do LA foram observadas em microscópio óptico de luz, com ampliação de 400 a 1000 vezes, e classificadas como cianofílicas (células azuis), indicativas de imaturidade fetal, ou laranjaofílicas (células alaranjadas), indicativas de maturidade fetal (Brosens & Gordon, 1996).

3.4.3 Dosagem de cortisol

As amostras do líquido amniótico foram enviadas ao laboratório de Endocrinologia da Faculdade de Medicina Veterinária FMVZ - Unesp, campus de Botucatu, onde foi realizada a

dosagem do cortisol por meio de radioimunoensaio (RIA), no aparelho automático Perkin Elmer 1470, aplicando-se kits comerciais de fase sólida, de acordo com as recomendações do fabricante.

3.5. Avaliação estatística

Foi realizada análise estatística multivariada para comparação entre os grupos, sendo considerado significativo quando $p < 0,05$.

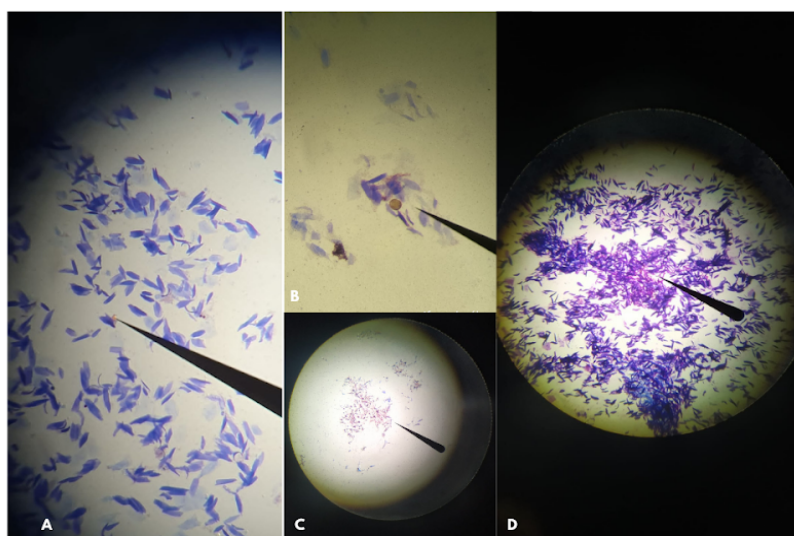
4. RESULTADOS

Ao longo do ano, 26 cadelas gestantes foram acompanhadas, das quais 18 necessitaram de cesariana terapêutica, e seis realizaram cesarianas eletivas. Em dois casos, apesar de serem encaminhadas para cesariana, acabaram realizando o parto normal. Os neonatos foram monitorados e avaliados com o escore Apgar (Tabela 1), que mostrou uma correlação significativa entre o tipo de parto e a vitalidade ao nascimento. Nos partos normais, os filhotes apresentaram os maiores escores, todos consistentes com 10. Nas cesarianas eletivas, o escore médio de Apgar foi de 8,37, com variações entre 3 e 10. Nos nascimentos por cesariana de caráter emergencial, os filhotes apresentaram um escore médio de 9,30, com maior variabilidade (de 2 a 10).

Outro ponto avaliado foi a maturidade pulmonar fetal, por meio do Teste de Clements, que verifica a presença de substâncias tensoativas no líquido amniótico, as quais ajudam na respiração neonatal. Utilizando diluições progressivas, os testes indicaram que 23 das 30 amostras apresentaram resultados positivos, sendo 20 delas de raças braquicefálicas submetidas a cesariana eletiva. Em 10 amostras, houve presença de mecônio, comum em situações de maturidade fetal, mas que no estudo não indicou estresse fetal, visto que os escores de Apgar dos filhotes mantiveram-se acima de 7.

A avaliação da maturidade fetal também incluiu o teste de coloração com Azul de Nilo. No estudo presente, não encontrou-se células coradas em laranja (orangiófilas) na coloração com Azul do Nilo, em meio aquoso e alcoólico, com porcentagem de 0,1%. Observou-se, entretanto, a presença de aglomerados de células pilosas, conforme ilustrado na Figura 1.

Figura 1 - Lâminas coradas com Azul do Nilo 0,1%



Legenda: Lâminas coradas com diferentes diluições do Azul do Nilo, centrifugadas ou não centrifugadas. A) Lâmina corada com Azul do Nilo, diluição aquosa não centrifugada; B) Lâmina corada com Azul do Nilo, diluição alcoólica centrifugada; C) Lâmina corada com Azul do Nilo, diluição aquosa centrifugada; D) Panótico centrifugado.

5. DISCUSSÃO

A análise dos resultados obtidos neste estudo evidencia importantes aspectos relacionados à vitalidade neonatal e à maturidade fetal em cães, permitindo uma reflexão crítica sobre os diferentes tipos de parto e os métodos de avaliação aplicados. Os escores de Apgar demonstraram que o parto natural favorece o desenvolvimento imediato de funções vitais, o que está de acordo com os achados de Plavec et al. (2022), que relataram valores significativamente mais altos em neonatos nascidos de parto vaginal quando comparados aos submetidos à cesariana eletiva nos primeiros minutos de vida. Essa superioridade pode ser explicada pela passagem fisiológica pelo canal do parto, que proporciona compressão torácica, estímulo à liberação de catecolaminas e cortisol, além de favorecer a expansão pulmonar, conforme já discutido por Veronesi et al. (2009).

Entretanto, a ocorrência de partos naturais foi extremamente baixa na amostra estudada (7%), o que reflete a realidade clínica da reprodução canina, marcada por elevada frequência de cesarianas, sobretudo em raças braquicefálicas e de pequeno porte, predispostas à distocia. Evans e Adams (2010) e Bergström et al. (2006) destacam que, em raças como Bulldog Inglês e Pug, a taxa de cesarianas pode alcançar até 90% dos nascimentos, o que corrobora a elevada

proporção de cesarianas terapêuticas observada neste trabalho (~69%). Dessa forma, a predominância de cesarianas na casuística analisada deve ser compreendida não como falha no manejo reprodutivo, mas como reflexo das necessidades clínicas e da preservação da vida materna e fetal.

No presente estudo, os partos vaginais resultaram em escores máximos (Apgar 10), confirmando a eficiência fisiológica desse processo. Nas cesarianas eletivas, a média de 8,37, com maior variação (3–10), sugere que, apesar da segurança do procedimento, a ausência do estresse fisiológico do parto pode reduzir a ativação cardiorrespiratória imediata, como já observado por Groppetti et al. (2010) e Davidson (2010). Por outro lado, nas cesarianas terapêuticas, a média de 9,30, ainda que com grande amplitude (2–10), evidencia que, mesmo em situações de sofrimento fetal ou distocia, a intervenção cirúrgica associada ao suporte neonatal adequado pode garantir boa recuperação, ainda que com risco aumentado de mortalidade. Esses achados reforçam a aplicabilidade do escore de Apgar como ferramenta prática e confiável na rotina clínica, uma vez que permite identificar rapidamente neonatos que necessitam de intervenção imediata.

No que se refere à maturidade pulmonar, a positividade do Teste de Clements em 23 das 30 amostras analisadas indica que a maioria dos fetos apresentavam níveis adequados de surfactante. O fato de 20 dessas amostras serem de raças braquicefálicas submetidas à cesariana eletiva sugere que, apesar da maior indicação de cesarianas nessas raças, a escolha do momento da intervenção foi adequada, evitando o risco de prematuridade pulmonar. Esse resultado encontra respaldo na literatura, que aponta que a cesariana eletiva, quando realizada após 62 dias da ovulação ou confirmada por dosagem de progesterona, não compromete a maturidade pulmonar dos fetos (Amorim et al., 1998; Batista et al., 2014). Portanto, a correta determinação do momento cirúrgico é fator determinante para a viabilidade neonatal, especialmente em raças predispostas.

Outro achado relevante foi a identificação de mecônio em 10 amostras, sem correlação com queda nos escores de Apgar. Na espécie humana, a presença de mecônio é frequentemente associada a sofrimento fetal (Avagliano et al., 2021); entretanto, em cães, a literatura sugere que a eliminação de mecônio pode ocorrer como sinal de maturidade fisiológica, e não necessariamente de hipóxia, como discutido por Gluck et al. (2020). O fato de os neonatos com mecônio apresentarem Apgar superior a 7 reforça essa particularidade espécie-específica, evidenciando que a interpretação desse achado deve ser cautelosa em medicina veterinária.

Em contrapartida, a ausência de células orangiófilas nas amostras coradas com Azul de Nilo levanta hipóteses metodológicas e biológicas. Entre elas, destacam-se possíveis limitações

técnicas, como a concentração utilizada (0,1%) e as diluições em água destilada e álcool absoluto, que podem ter sido insuficientes para evidenciar as células, além da presença de aglomerados celulares que dificultaram a visualização de células epiteliais. Ademais, diferenças espécie-específicas podem influenciar, uma vez que em cães a descamação celular no líquido amniótico pode ocorrer em menor intensidade ou de forma distinta em relação aos humanos, dificultando a aplicação direta da técnica. Enquanto em humanos a presença dessas células se correlaciona fortemente com a maturidade fetal (Brosens & Gordon, 1996), nos cães os resultados sugerem a necessidade de ajustes metodológicos para que a técnica se torne confiável. Tal constatação abre espaço para futuros estudos comparativos sobre métodos de avaliação da maturidade fetal na medicina veterinária.

Além disso, os níveis de cortisol encontrados nos neonatos indicam uma resposta fisiológica ao estresse do nascimento, com variações de acordo com o tipo de parto. A maior concentração de cortisol em cesarianas terapêuticas pode refletir o estresse associado às complicações obstétricas, enquanto valores mais moderados nas cesarianas eletivas sugerem que o controle planejado do nascimento contribui para reduzir o impacto do estresse neonatal. Esses dados são relevantes, pois evidenciam que diferentes modalidades de parto podem modular a resposta endócrina neonatal, com implicações diretas na adaptação fisiológica pós-natal.

De maneira geral, os resultados permitem concluir que o parto vaginal é fisiologicamente superior para a vitalidade neonatal, embora pouco frequente na prática clínica devido ao perfil racial dos pacientes atendidos. A cesariana eletiva, quando corretamente programada, garante adequada maturidade pulmonar e vitalidade satisfatória, enquanto a cesariana terapêutica, apesar dos maiores riscos, pode resultar em boa recuperação se acompanhada de suporte neonatal eficiente. Entre os métodos aplicados, o Teste de Clements demonstrou maior potencial como ferramenta de predição de maturidade fetal em cães, ao passo que a coloração com Azul de Nilo apresentou limitações importantes. A interpretação da presença de mecônio deve ser cuidadosa, visto que, diferentemente da espécie humana, não foi associada a sofrimento fetal nos cães avaliados. Finalmente, a análise dos níveis de cortisol sugere que o estresse do parto influencia a adaptação neonatal, sendo influenciado pelo tipo de intervenção obstétrica. Esses achados contribuem para o entendimento das particularidades da reprodução canina e reforçam a importância da avaliação integrada de vitalidade e maturidade fetal para otimizar os cuidados neonatais na prática veterinária.

6. CONCLUSÃO

Conclui-se neste estudo que os métodos aplicados ofereceram abordagens complementares para avaliar a maturidade pulmonar e a vitalidade ao nascimento em neonatos caninos. O Teste de Clements indicou a presença adequada de surfactantes, especialmente em raças braquicefálicas submetidas a cesarianas eletivas, sugerindo um bom potencial para estimar a maturidade pulmonar nesses casos. A coloração com Azul de Nilo, embora seja um método estabelecido em humanos, apresentou limitações em cães devido à presença de pelos no tecido epitelial, o que pode interferir na visualização de células orangiófilas, normalmente indicativas de maturidade. No entanto, esses métodos poderiam ser aprimorados em estudos futuros. Em particular, pesquisas futuras podem explorar técnicas alternativas ou adaptações do Azul de Nilo para cães.

7. REFERÊNCIAS

AMORIM, M. M. R. D.; FAÚNDES, A.; SANTOS, L. C.; AZEVEDO, E. Acurácia do teste de Clements para avaliação da maturidade pulmonar fetal em gestantes com doença hipertensiva específica da gestação. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, v. 20, p. 253-260, 1998.

ANNA, L.; ZHANG, L.; LIU, Q.; FANG, Z.; SUN, Y.; LI, S.; PENG, Y.; ZHANG, M.; WANG, X. Proteomic analysis of amniotic fluid to identify potential targets predicting preterm delivery. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Proteins and Proteomics**, v. 1871, n. 2, 2023.

AVAGLIANO, L.; MASSA, V.; BULFAMANTE, G. Meconium-stained amniotic fluid and histologic signs of fetal distress in stillbirths. **European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology**, v. 266, p. 55–62, nov. 2021.

BATISTA, M.; et al. Neonatal viability evaluation by Apgar score in puppies delivered by cesarean section in two brachycephalic breeds (English and French bulldog). **Animal Reproduction Science**, v. 146, n. 3-4, p. 218–226, maio 2014.

BERGSTRÖM, A.; NODTVEDT, 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. **Veterinary Surgery**, v. 35, p. 786-791, 2006.

BOIT, Cristina de et al. Avaliação da maturidade fetal: análise de 24 casos. 1992.

BOLIS, B. et al. Cortisol fetal fluid concentrations in term pregnancy of small-sized purebred dogs and its preliminary relation to first 24 hours survival of newborns. **Theriogenology**, v. 88, p. 264–269, jan. 2017.

BROSENS, I.; GORDON, H. The estimation of maturity by cytological examination of the liquor amnii. **Journal of Obstetrics and Gynaecology**, v. 73, n. 1, p. 88-90, 1966.

CARTER, A. M. Animal models of human pregnancy and placentation: alternatives to the mouse. **Reproduction**, v. 160, n. 6, p. R129–R143, 2020.

CASTAGNETTI, C.; MARIELLA, J.; SERRAZANETTI, G. P.; GRANDIS, A.; MERLO, B.; FABBRI, M.; MARI, G. Evaluation of lung maturity by amniotic fluid analysis in equine neonate. **Theriogenology**, v. 67, p. 1455–1462, 2007.

CHALLIS, J. R. G.; et al. Hormonal Regulation of the Initiation of Labor: Progesterone, Corticotropin-Releasing Hormone, and Cortisol. **Journal of Perinatal Medicine**, 2000.

CLEMENTS, J. A.; PLATZKER, A. C. G.; TIERNEY, D. F.; HOBEL, C. J.; CREASY, R. K.; MARGOLIS, A. J.; et al. Assessment of the risk of respiratory-distress syndrome by a rapid test for surfactant in amniotic fluid. **New England Journal of Medicine**, v. 286, p. 1077-82, 1972.

CONCANNON, P. W.; et al. Endocrinology of Pregnancy and Parturition in Dogs. **Reproduction in Domestic Animals**, 2001.

CREWS, D. E.; GERBER, L. M. Reconstructing life history of hominids and humans. **Collegium Antropologicum**, v. 27, p. 7–22, 2003.

DAVIDSON, A. Clinical assistance of the neonate. **Proceedings of the 5th Biannual Congress**, European Veterinary Society for Small Animal Reproduction, Budapest, 7–9 April, 2010.

DUMON, C. Patologia Neonatal do Filhote: Os primeiros 15 dias. In: PRATS, A. Neonatologia e Pediatria: canina e felina. São Caetano do Sul: **Interbook**, p.126-151, 2005.

EKENSTEDT, K. J.; CROSSE, K. R.; RISSELADA, M. Canine Brachycephaly: Anatomy, **Pathology, Genetics and Welfare**. **Journal of Comparative Pathology**, v. 176, p. 109–115, abr. 2020.

ELBAY, A.; CELIK, U.; CELIK B.; OZER, O.F.; KILIC, G.; AKKAN, J.C; BAYRAKTAR, B.T; KAYMAK, N.Z. Intraocular pressure in infants and its association with hormonal changes with vaginal birth versus cesarean section. **Int Ophthalmol**, v.36, n. 6, p. 855-860, 2016.

ENDERS, A. C.; CARTER, A. M. What Can Comparative Studies of Placental Structure Tell Us? — **A Review of Animal Models**. **Placenta**, v. 25, 2004.

EVANS, K. M.; ADAMS, V. J. Proportion of litters of purebred dogs born by caesarean section. **Journal of Small Animal Practice**, v. 51, n. 2, p. 113–118, 2010.

FÉLIX, M.; et al. Assessment of fetal lung maturity using analysis of amniotic fluid from ewes that gave birth prematurely and at term. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 40, n. 12, p. 1039–1047, dez. 2020.

FREICHE, V.; GERMAN, A. J. **Digestive Diseases in Brachycephalic Dogs. Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v. 51, n. 1, p. 61–78, jan. 2021.

GILSON, S. D. Cesarean section. In: SLATTER, D. (Ed.), **Textbook of Small Animal Surgery**. WB Saunders Co., Philadelphia, PA, p. 1517–1520, 2003.

GOSDEN, C. M. Amniotic fluid cell types and culture. **British Medical Bulletin**, v. 39, n. 4, p. 348-54, 1983.

GROPETTI, D.; PECILE, A.; DEL CARRO, A. P.; COPLEY, K.; MINERO, M.; CREMONESI, F. Evaluation of newborn canine viability by means of umbilical vein lactate measurement, Apgar score and uterine tocodynamometry. **Theriogenology**, v. 74, p. 1187–1196, 2010.

GLUCK, O.; KOVO, M.; TAIRY, D.; HERMAN, H. G.; BAR, J.; WEINER, E. The effect of meconium thickness level on neonatal outcome. **Early Human Development**, v. 142, p. 104953, 2020.

HIERCH, L.; KRISPIN, E.; AVIRAM, A.; WIZNITZER, A.; YOGEV, Y.; ASHWAL, E. Effect of meconium-stained amniotic fluid on perinatal complications in low-risk pregnancies at term. **American Journal of Perinatology**, v. 33, p. 378–384, 2016.

INDREBO, A.; TRANGERUD C.; MOEL L. Canine neonatal mortality in four large breeds. **Acta Vet Scand**, v.49, n.1, S2, 2007

JACKSON, P. G. G. **Handbook of Veterinary Obstetrics**. WB Saunders Co., Philadelphia, p. 141-166, 1995.

JAQUES, S. M.; QURESHI, F. Does in utero meconium passage in term stillbirth correlates with autopsy and placental findings of hypoxia or inflammation? **The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine**, Online ahead of print, 2020.

KJELDSBERG, C.; KNIGHT, J. Body fluids: laboratory examination of amniotic, cerebrospinal, serous and synovial fluids. 3rd ed. Chicago: **American Society of Clinical Pathologists**, 1998.

LINDE-FORSBERG, C. Abnormalities in pregnancy, parturition and the periparturient period. In: ETTINGER, S.; FELDMAN, E. **Textbook of Veterinary Obstetrics**. London: WK Saunders Co., 2005. p. 1655-1667.

LOURENÇO, M. L. G. Cuidados com neonatos e filhotes. In: JERICÓ, M. M.; NETO, J. P. A.; KOGIKA, M. M. **Tratado de Medicina Interna de Cães e Gatos**. 1. ed. Rio de Janeiro: Roca, 2015. v. 1, p. 364-406.

LOURENÇO, M. L. G.; MACHADO, L. H. A. Características do período de transição fetal-neonatal e particularidades fisiológicas do neonato canino. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 37, n. 4, p. 303-308, 2013.

LOURI, M. L. G. et al. Cuidados com neonatos e filhotes. In: JERICÓ, M. M.; NETO, J. P. A.; KOGIKA, M. M. **Tratado de Medicina Interna de Cães e Gatos**, ed1. Rio de Janeiro: Roca, v. 1, pp. 364-406, 2015.

LÚCIO, C. F.; SILVA, L. C. G.; RODRIGUES, J. A.; VEIGA, G. A. L.; VANNUCCHI, C. I. Acid–base changes in canine neonates following normal birth or dystocia. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 44, Suppl. 2, p. 208–210, 2009.

LUNA, L. G. **Manual of histologic staining methods of the Armed Forces Institute of Pathology**. 3rd ed. New York: McGraw-Hill Book Company, 1968. 258 p.

MARTIN, R. D. The evolution of human reproduction: A primatological perspective. **American Journal of Physical Anthropology**, v. 134, n. S45, p. 59–84, 2007.

MATHIAS, L. et al. Análise da Maturidade através do Líquido Amniótico. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 31, n. 5-6, p. 76-80, mai-jun. 1985.

MEOLA, S. D. Brachycephalic Airway Syndrome. **Topics in Companion Animal Medicine**, v. 28, n. 3, p. 91–96, ago. 2013.

MIRÓN, P. M. Preparation, culture and analysis of amniotic fluid samples. **Current Protocols in Human Genetics**, v. 74, n. 1, p. e62, 2012.

MIYOSHI, M.H.; GUINSBURG, R. Desenvolvimento e Crescimento Pulmonar Perinatal. In: KPELMAN, B. MIYOSHI, M.H.; GUINSBURG, R. **Distúrbios respiratórios no período neonatal**. São Paulo: ed. Atheneu, 1998, p.03-14.

MOHAMMAD, N.; JAMAL, T.; SOHAILA, A.; ALI, S. R. Meconium stained liquor and its neonatal outcome. **Pakistan Journal of Medical Sciences**, v. 34, p. 1392–1396, 2018.

MÖSSMAN, H. W. Vertebrate Fetal Membranes: Comparative Ontogeny and Morphology, Evolution, Phylogenetic Significance, Basic Functions, Research Opportunities. **Rutgers University Press**, 1987.

MOON, P. F.; ERB, H. N.; LUDDERS, J. W.; GLEED, R. D.; PASCOE, P. J. Perioperative risk factors for puppies delivered by cesarean section in the United States and Canada. **Journal of the American Animal Hospital Association**, v. 36, p. 359–368, 2000.

MÜNNICH, A.; KÜCHENMEISTER, U. Causes, Diagnosis and Therapy of Common Diseases in Neonatal Puppies in the First Days of Life: Cornerstones of Practical Approach. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 49, Suppl. 2, p. 64–74, 2014.

NASCIMENTO DANTAS ET AL., Gabriela. Citologia do líquido amniótico para predição de maturidade fetal em bezerros: teste do Azul de Nilo x coloração de Hematoxilina-Shorr. **Revista Acadêmica Ciência Animal**, [S. l.], v. 15, n. Supl 2, p. 459–460, 2017.

NOBRE PACÍFICO PEREIRA, K. H.; et al. Incidence of congenital malformations and impact on the mortality of neonatal canines. **Theriogenology**, v. 140, p. 52–57, 1 dez. 2019.

NOWAK, N.; et al. Advances in Understanding Canine Pregnancy: Endocrine and Morphological Changes, 2017.

OLVER, R.E; SCHNEEBERGER, E.E; WALTERS, D.V Ephetelial solute permeability ion transport and tight junction morphology in the developing lung of the fetal lamb. *J Physiol*, v. 315, p.395-412, 1981.

Plavec, T.; Knific, T.; Slapšak, A.; Raspor, S.; Lukanc, B.; Pipan, MZ Avaliação Neonatal Canina por Escore de Vitalidade, Análise de Glicose, Lactato e Cortisol no Líquido Amniótico, Urina e Sangue do Cordão Umbilical: Possível Influência do Tipo de Parto? **Animais** 2022 , 12 , 1247.

PETERSON, M. E. Neonatal mortality. In: PETERSON, M. E.; KUTZLER, M. A. (Ed.). *Small animals pediatrics: the first 12 months of life*. St. Louis: Saunders, 2011. p. 82-87.

RODRÍGUEZ FERNÁNDEZ, V.; LÓPEZ RAMÓN Y CAJAL, C. N.; MARÍN ORTIZ, E.; COUCEIRO NAVEIRA, E. Intrapartum and perinatal results associated with different degrees of staining of meconium stained amniotic fluid. **European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology**, v. 228, p. 65–70, 2018.

RIVA, F.; et al. Canine amniotic fluid at birth: From a discarded sample to a potential diagnostic of neonatal maturity. v. 248, p. 107184–107184, 1 dez. 2022.

ROY MONDAL, T.; BANDYOPADHYAY, G.; MUKHOPADHYAY, S. G.; GANGULY, D. Histopathological Changes of placenta in meconium stained liquor and its relevance in fetal distress: a case control study. **Turkish Journal of Pathology**, v. 35, p. 107–118, 2019.

RUPA VANI, K.; BANISHREE, P.; VEENA, K. S.; HEMANTH KUMAR, V. R. Comparison of neonatal outcome parameters between thick and thin meconium stained liquor: a prospective study. **International Journal of Reproduction, Contraception, Obstetrics and Gynecology**, v. 7, n. 11, p. 4407–4412, 2018.

SILVA, L. C.; LÚCIO, C. F.; VEIGA, G. A.; RODRIGUES, J. A.; VANNUCCHI, C.I. Neonatal clinical evaluation, blood gas and radiographic assessment, 2009.

SIPRIANI, T.M.; GRANDI, F.; DA SILVA, L.C; MAIORKA, P.C.; VANNUCCHI, C.I. Pulmonary maturation in canine foetus from early pregnancy to parturition. **Reprod Domest Anim**, v.44, n. 2, p. 137-140, 2009.

SOUZA, N. C.; BOVINO, F.; AVILLA, L. G.; DESCHK, N.; ALCINDO, J. F.; FINK, M. F. C. B.; MENDES, L. C. N.; FEITOSA, F. L. F. Assessment of fetal lung maturity using analysis of amniotic fluid from ewes that gave birth prematurely and at term. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 40, n. 12, dez. 2020.

TABORDA, W.; ALMEIDA, M. F. B.; MORON, A. F.; BERTINI, A. M. Avaliação da maturidade pulmonar fetal em gestações de alto risco. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, v. 20, n. 6, p. 315-321, 1998.

TAMAYEV, L.; MOR, L.; HERMAN, H. G.; SCHREIBER, L.; KOVO, M.; BAR, J.; et al. Placental histology of acute versus continuous meconium exposure – **Association with obstetric and neonatal outcomes**. *Placenta*, v. 103, p. 214–219, 2021.

TERCANLI, S.; et al. Increased nuchal translucency in a case of long-chain 3-hydroxyacyl-coenzyme A dehydrogenase deficiency. *Fetal Diagnosis and Therapy*, v. 15, n. 6, p. 322–325, 2000.

THORNTON, S.; et al. The Role of Prostaglandins in Human Parturition. *Fetal and Maternal Medicine Review*, 2015.

TRAAS, A. M. Surgical management of canine and feline dystocia. ***Theriogenology***, v. 70, p. 337–342, 2008.

UCHAŃSKA, O.; OCHOTA, M.; EBERHARDT, M.; NIŻAŃSKI, W. Dead or Alive? A Review of Perinatal Factors That Determine Canine Neonatal Viability. *Animals*, v. 12, n. 11, p. 1402, 2022.

VANNUCCHI, C. I.; KISHI, D.; REGAZZI, F. M.; SILVA, L. C. G.; VEIGA, G. A. L.; ANGRIMANI, D. S. R.; LÚCIO, C. F.; NICHI, M. The oxidative stress, antioxidant profile and acid-base status in pre-term and term neonates. ***Reproduction in Domestic Animals***, v. 50, p. 240–246, 2015.

VANNUCCHI, C. I.; SILVA, L. C. G.; LÚCIO, C. F.; REGAZZI, F. M.; VEIGA, G. A. L.; ANGRIMANI, D. S. R. Prenatal and neonatal adaptations with a focus on the respiratory system. ***Reproduction in Domestic Animals***, v. 47, p. 177–181, 2012.

VERONESI, M. C.; PANZANI, S.; FAUSTINI, M.; ROTA, A. An Apgar scoring system for routine assessment of newborn puppy viability and short-term survival prognosis. ***Theriogenology***, v. 72, p. 401–407, 2009.

WARE, L.B ; MATTHAY, M.A. Alveolar fluid clearance is impaired in the majority of patients with acute lung injury and the acute respiratory distress syndrome. ***Am J Respir Crit Care Med***, v. 163, p. 1376–1383, 2001.

WYDOOGHE, E.; BERGMANS, E.; RIJSSELAERE, T.; VAN SOOM, A. International breeder inquiry into the reproduction of the English bulldog. ***Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift***, v. 82, p. 38–43, 2013.

ZAREMBA, W.; GRUNERT, E.; AURICH, J. E. Prophylaxis of respiratory distress syndrome in premature calves by administration of dexamethasone or a prostaglandin F2 alpha analogue to their dams before parturition. ***American Journal of Veterinary Research***, v. 58, p. 404–407, 1997.

