LEONARDO MAGGIO DE CASTRO

**Avaliação de nova técnica de biopsia intestinal assistida por
videolaparoscopia em equinos**

São Paulo

2016

LEONARDO MAGGIO DE CASTRO

**Avaliação de nova técnica de biópsia intestinal assistida por
videolaparoscopia em equinos**

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

Departamento:

Cirurgia

Área de concentração:

Clínica Cirúrgica Veterinária

Orientador:

Prof. Dr. Luis Cláudio Lopes Correia da Silva

São Paulo

2016

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

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO

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

T.3346
FMVZ

Castro, Leonardo Maggio de
Avaliação de nova técnica de biopsia intestinal assistida por videolaparoscopia em
equinos / Leonardo Maggio de Castro. -- 2016.
134 f. : il.

Dissertação (Mestrado) - Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina
Veterinária e Zootecnia. Departamento de Cirurgia, São Paulo, 2016.

Programa de Pós-Graduação: Clínica Cirúrgica Veterinária.

Área de concentração: Clínica Cirúrgica Veterinária.

Orientador: Prof. Dr. Luis Cláudio Lopes Correia da Silva.

1. Equinos. 2. Biopsia. 3. Intestino. 4. Laparoscopia. I. Título.

CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto intitulado "Avaliação de uma nova técnica de biópsia intestinal assistida por videolaparoscopia em equinos.", protocolado sob o CEUA nº 7188070714, sob a responsabilidade de **Luís Cláudio Lopes Correia da Silva e equipe; Leonardo Maggio de Castro** - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino - está de acordo com os preceitos da Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899 de 15 de julho de 2009, bem como com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **aprovado** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (CEUA/FMVZ) na reunião de 13/10/2015.

We certify that the proposal "Evaluation of a new intestinal biopsy technique assisted by videolaparoscopy in horses.", utilizing 6 Equines (6 males), protocol number CEUA 7188070714, under the responsibility of **Luís Cláudio Lopes Correia da Silva and team; Leonardo Maggio de Castro** - which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata (except human beings), for scientific research purposes or teaching - is in accordance with Law 11.794 of October 8, 2008, Decree 6899 of July 15, 2009, as well as with the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was **approved** by the Ethic Committee on Animal Use of the University of São Paulo (CEUA/FMVZ) in the meeting of 10/13/2015.

Finalidade da Proposta: **Pesquisa**

Vigência da Proposta: de **07/2014** a **07/2016** Área: **Clínica Cirúrgica Veterinária**

Procedência:

Espécie: **Equídeos**

sexo: **Machos**

idade: **a**

N: **6**

Linhagem: **SRD**

Peso: **a**

Resumo: A videolaparoscopia é técnica amplamente empregada na medicina humana e cada vez mais explorada na rotina clínica em medicina veterinária. As biópsias de órgãos assistidas por videoendoscopia são consideradas hoje técnicas valiosas por fornecerem de forma segura, objetiva e específica informações essenciais para determinação do diagnóstico, tratamento e prognóstico. Especificamente para obtenção de amostra de mucosa intestinal de equinos, são escassos os relatos que descrevem técnicas intracorpóreas. O presente trabalho tem por finalidade propor uma nova técnica de obtenção de amostra de mucosa intestinal, de forma minimamente invasiva e de menor trauma para o segmento de intestino analisado e, consequentemente, menor risco ao paciente. Para tanto, serão utilizados seis equinos adultos, sadios, que nunca tenham sido submetidos à laparotomia. Não haverá predileção por raça ou sexo. Todos serão submetidos à biópsia intestinal via laparoscópica, utilizando técnica transcútea. Os animais serão examinados quanto aos seus parâmetros clínicos, antes do procedimento cirúrgico e duas vezes ao dia, até que se completem dez dias de pós-operatório. O monitoramento via ultrassonografia abdominal acontecerá antes e depois da cirurgia, uma vez ao dia, por dez dias. Será realizado acompanhamento por hemograma, dosagem de proteína total e de fase aguda, bem como análise do líquido peritoneal. Os parâmetros laboratoriais serão analisados no período pré-operatório e nos dias 1, 3, 5, 7 e 14 após a cirurgia. Será coletada uma amostra de mucosa/submucosa de jejuno de cada equino. Posteriormente o material será encaminhado ao exame histopatológico para análise de significância da amostra.

Local do experimento:

São Paulo, 24 de junho de 2016

Profa. Dra. Denise Tabacchi Fantoni

Presidente da Comissão de Ética no Uso de Animais

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo

Roseli da Costa Gomes

Secretaria Executiva da Comissão de Ética no Uso de Animais

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo

São Paulo, 22 de junho de 2016
CEUA N 7188070714

Ilmo(a). Sr(a).

Responsável: Luís Cláudio Lopes Correia Da Silva

Área: Clínica Cirúrgica Veterinária

Luís Cláudio Lopes Correia Da Silva (orientador)

Título do projeto: "Avaliação de uma nova técnica de biópsia intestinal assistida por videolaparoscopia em equinos."

Parecer Consubstanciado da Comissão de Ética no Uso de Animais FMVZ/USP

A Comissão de Ética no Uso de Animais da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, no cumprimento das suas atribuições, analisou e **APROVOU** a Notificação (versão de 17/junho/2016) do protocolo de estudo acima referenciado.

Resumo apresentado pelo pesquisador: "Encaminhamos um novo resumo, atualizado, para que seja readequado no sistema do referente projeto e consequentemente no certificado que será emitido. Julgamos necessário sua atualização, uma vez que o certificado deve ser incorporado à dissertação com o mesmo texto. "

Comentário da CEUA: "Alteração de resumo alterada e aprovada. As doenças do trato digestório nos equinos apresentam altas taxas de morbidade e mortalidade, com diferentes etiologias. Em alguns casos, o emprego da biópsia intestinal se faz necessário para auxílio no diagnóstico dessas enfermidades. No entanto, as técnicas convencionais podem trazer riscos aos pacientes, por serem invasivas, ou não serem elucidativas por apresentarem limitações de acesso à determinados segmentos. O presente estudo teve como objetivo validar uma técnica de biópsia intestinal, intracorpórea, assistida por videolaparoscopia, ainda não descrita na literatura, para coleta de fragmentos de mucosa de jejuno e cólon menor de equinos, que sejam considerados adequados para avaliação histológica. Para tanto, foram utilizados seis equinos machos, da raça Puro Sangue Árabe, com idade de dois anos, sem histórico prévio de doenças do trato digestório, com peso médio de 267 kg. Todos os animais foram submetidos ao mesmo procedimento laparoscópico, instituindo-se apenas jejum alimentar prévio de oito horas. Os equinos foram acompanhados com exame físico e de ultrassonografia abdominal, desde o dia precedente às laparoscopias, até o 15º dia do período pós-operatório, bem como avaliados por meio de hemograma, provas de funções hepática e renal, e análise do líquido peritoneal nos dias 0, 1, 2, 3, 5, 7, 10, 14, 21 e 30. O tempo cirúrgico foi cronometrado, sendo registrado o tempo total, iniciado na criação do primeiro portal de acesso e finalizado ao término do fechamento da sutura de pele, e os tempos parciais para biópsia de jejuno e cólon menor separadamente, com início na apreensão do segmento intestinal e término, quando constatada a polimerização da cola cirúrgica sobre o orifício de acesso da agulha. De cada segmento obtivesse dez fragmentos, e posteriormente submetidos à análise histológica. Atribuiu-se escore para cada um deles, sendo considerado [0] fragmentos com qualidade ruim; [1] para qualidade boa e [2] para qualidade ótima. Por sua vez, os considerados viáveis foram somente os que se enquadraram nos escores 1 e 2. Amostras avaliadas como adequadas apresentaram no mínimo 50% dos fragmentos viáveis. A média do tempo total das cirurgias foi de 66,50 minutos ($\pm 7,87$), enquanto a média do tempo parcial de jejuno foi de 14,2 minutos ($\pm 4,3$) e a de cólon menor 12,7 minutos ($\pm 5,0$). Clinicamente, os animais apresentaram desconforto abdominal nas primeiras 48 horas. Os exames ultrassonográficos do abdômen não revelaram alterações condizentes com peritonite ao longo de todo experimento. Os parâmetros laboratoriais apresentaram apenas características inflamatórias, sendo que o líquido peritoneal permaneceu alterado até o 21º de pós-operatório, havendo normalização de todos seus valores no 30º dia do estudo. Na inspeção laparoscópica de dois equinos (E2, E4), foi identificada apenas aderência de pequena porção omento no diafragma. Nas avaliações histológicas de jejuno, cinco das seis amostras foram consideradas adequadas, e em cólon menor, quatro das seis amostras foram classificadas como adequadas. A técnica proposta possibilitou a coleta de amostras de mucosa adequadas para análise histológica, de forma segura para pacientes, uma vez que as alterações clínicas e laboratoriais identificadas não foram correlacionadas à ela. Palavras-chave: Equinos. Biópsia. Intestino. Laparoscopia. "

Profa. Dra. Denise Tabacchi Fantoni
Presidente da Comissão de Ética no Uso de Animais
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade
de São Paulo

Roseli da Costa Gomes
Secretaria Executiva da Comissão de Ética no Uso de Animais
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade
de São Paulo

FOLHA DE AVALIAÇÃO

Autor: CASTRO, Leonardo Maggio

Título:

Avaliação de nova técnica de biopsia intestinal assistida por videolaparoscopia em equinos

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

Data: ____/____/____

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____
Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____
Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____
Instituição: _____ Julgamento: _____

DEDICATÓRIA

Dedico esta dissertação aos meus avós Braz (*in memoriam*), Maria, Giulietta e Martino por me inspirar com suas histórias de vida, me motivando a lutar diariamente em busca dos meus objetivos.

Aos meus pais Braz e Giliola por viverem juntos comigo este sonho e trabalharem incansavelmente para sua realização, e pelo seu amor incondicional ontem, hoje e sempre!

Ao meu irmão Stefano pelo grande homem que é, pela dedicação e ajuda que foram indispensáveis para que eu pudesse concluir o mestrado.

À minha companheira e futura esposa Dayane, pelo seu amor, carinho, envolvimento, dedicação e compreensão, fundamentais para me encorajar a seguir em frente para conclusão dessa fase.

E ao meu filho Luca que esta por vir, despertando em mim a maturidade e força para finalização desse ciclo, me mostrando qual caminho seguir.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus por ter me guiado, permitindo que eu seguisse por mais essa etapa em busca dos meus sonhos!

Ao meu orientador, Prof. Dr. Luis Cláudio Lopes Correia da Silva, pela grande oportunidade que me concedeu de ingressar no mestrado, conferindo total apoio e liberdade para escolha e execução do projeto de pesquisa. Meu muito obrigado pelo aprendizado durante toda pós-graduação.

Aos seis jovens cavalos do nosso experimento: Hans, Francys, Maracy, Casper, Hector e Fadir, muito obrigado pela oportunidade de aprendizado durante todo o período. Meu respeito e grande admiração por esses nobres animais.

À Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo e ao Departamento de Cirurgia Veterinária por me proporcionarem a experiência de cursar a pós-graduação.

Ao Centro de Apoio e Ensino a Pesquisa (CAEP) da FMVZ USP, do campus Pirassununga, e a todos os seus funcionários, por terem me acolhido, participado e colaborado com grande profissionalismo e comprometimento durante todo experimento.

Aos grandes amigos Cecília e Paulão do Laboratório de Análises Clínicas do CAEP, pela grande ajuda e empenho para a realização dos exames laboratoriais do projeto.

À Prof^a. Dr^a. Silvana Lima Górnaiak que prontamente disponibilizou o Centro de Pesquisa em Toxicologia Veterinária – CEPTOX, para processamento das amostras bioquímicas do nosso experimento. Aos amigos Paulo e Ester (também do CEPTOX) que me auxiliaram durante todo processamento laboratorial desta etapa.

À Prof^a. Dr^a. Lilian Rose Marques de Sá por se prontificar junto ao Laboratório de Histologia da FMVZ USP para o processamento das lâminas do experimento, e pela grande ajuda desde o desenvolvimento, amadurecimento, até a finalização do projeto, me incentivando sempre na busca de um conhecimento mais profundo na área.

Ao Prof. Dr. Nilson Roberti Benites por disponibilizar os funcionários e serviços do Laboratório de Bacteriologia e Micologia para realização das culturas do líquido peritoneal dos equinos desse projeto.

Ao amigo, Prof. Dr. Rodrigo Romero Corrêa, pelo exemplo de pessoa e profissional que é, que me inspira e motiva a seguir firme nos objetivos e ideais da profissão. Obrigado por todos os ensinamentos, oportunidades, ajuda e confiança durante todo o mestrado.

Ao meu grande irmão de pós-graduação, Julio Spagnolo, por não medir esforços em me ajudar e em oferecer oportunidades durante toda essa fase.

A todos os meus amigos pós-graduandos pela amizade que foi construída ao longo desses dois anos de mestrado e pela sua ajuda em diversos momentos.

A todos os funcionários, residentes e estagiários do HOVET de equinos da USP pela amizade e convivência harmoniosa durante esses dois anos.

A toda a minha família e amigos pela compreensão nos momentos em que me ausentei e pelo constante apoio e incentivo à minha carreira.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pela concessão do Auxílio Pesquisa (2015/08822-5) para a execução desse projeto.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de estudo durante todo o mestrado.

“A resposta de Deus pode tardar um pouco, mas jamais deixará de ser dada. Esse tempo de espera serve para provar a fé, a perseverança e a confiança. É um teste de paciência e a oportunidade de desenvolver a força interior, a alegria e a coragem.”

Bezerra de Menezes

RESUMO

CASTRO, L. M. **Avaliação de nova técnica de biopsia intestinal assistida por videolaparoscopia em equinos.** [Evaluation of a new intestinal biopsy technique assisted by videolaparoscopy in horses]. 2016. 134 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2016.

As doenças do trato digestório nos equinos apresentam altas taxas de morbidade e mortalidade, com diferentes etiologias. Em alguns casos, o emprego da biopsia intestinal se faz necessário para auxílio no diagnóstico dessas enfermidades. No entanto, as técnicas convencionais podem trazer riscos aos pacientes, por serem invasivas, ou não serem elucidativas por apresentarem limitações de acesso a determinados segmentos. O presente estudo teve como objetivo validar uma técnica de biopsia intestinal, intracorpórea, assistida por videolaparoscopia, ainda não descrita na literatura, para coleta de fragmentos de mucosa de jejuno e cólon menor de equinos, que sejam considerados adequados para avaliação histológica. Para tanto, foram utilizados seis equinos machos, da raça Puro Sangue Árabe, com idade de dois anos, sem histórico prévio de doenças do trato digestório, com peso médio de 267 kg. Todos os animais foram submetidos ao mesmo procedimento laparoscópico, instituindo-se apenas jejum alimentar prévio de oito horas. Os equinos foram acompanhados com exame físico e de ultrassonografia abdominal, desde o dia precedente às laparoscopias, até o 15º dia do período pós-operatório, bem como avaliados por meio de hemograma, provas de funções hepática e renal, e análise do líquido peritoneal nos dias 0, 1, 2, 3, 5, 7, 10, 14, 21 e 30. O tempo cirúrgico foi cronometrado, sendo registrado o tempo total, iniciado na criação do primeiro portal de acesso e finalizado ao término da sutura de pele, e os tempos parciais para biopsia de jejuno e cólon menor separadamente, com início na apreensão do segmento intestinal e término quando constatada a polimerização da cola cirúrgica sobre o orifício de acesso da agulha. De cada segmento obtiveram-se dez fragmentos, e posteriormente submetidos à análise histológica. Atribuiu-se escore para cada um deles, sendo considerado “0” fragmentos com qualidade ruim; “1” para qualidade boa e “2” para qualidade ótima. Por sua vez, os considerados viáveis foram somente os que se enquadraram nos escores 1 e 2. Amostras avaliadas como adequadas

apresentaram no mínimo 50% dos fragmentos viáveis. A média do tempo total de procedimento foi de 66,50 minutos ($\pm 7,87$), enquanto a média do tempo parcial para biopsia de jejuno foi de 14,2 minutos ($\pm 4,3$) e a de cólon menor 12,7 minutos ($\pm 5,0$). Clinicamente, os animais apresentaram desconforto abdominal nas primeiras 48 horas. Os exames ultrassonográficos do abdômen não revelaram alterações condizentes com peritonite ao longo de todo experimento. Os parâmetros laboratoriais apresentaram apenas características inflamatórias, sendo que o líquido peritoneal permaneceu alterado até o 21º de pós-operatório, havendo normalização de todos os seus valores no 30º dia do estudo. Na inspeção laparoscópica de dois equinos (E2, E4) foi identificada aderência de porção de omento no diafragma. Nas avaliações histológicas de jejuno, uma amostra (E5) de seis foi considerada inadequada, com 5/12 fragmentos viáveis, e em cólon menor, duas (E1, E2) de seis, foram inadequadas, com 4/9 e 5/10 fragmentos viáveis respectivamente. A nova técnica de biopsia intestinal possibilitou a coleta de amostras adequadas de mucosa para análise histológica, de forma segura para os animais, uma vez que as alterações clínicas e laboratoriais foram aquelas relacionadas ao processo inflamatório, compatível com procedimentos laparoscópicos na espécie.

Palavras-chave: Equinos. Biopsia. Intestino. Laparoscopia.

ABSTRACT

CASTRO, L. M. **Evaluation of a new intestinal biopsy technique assisted by videolaparoscopy in horses.** [Avaliação de nova técnica de biópsia intestinal assistida por videolaparoscopia em equinos]. 2016. 134 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2016.

Gastrointestinal diseases in horses result in high rates of morbidity and mortality, with different aetiologies. In some cases, an intestinal biopsy is needed to aid in the diagnosis of such diseases. However, the conventional techniques can pose risks to patients for being invasive or for not being elucidating due to having limitations in accessing certain segments. The objective of this study was to validate an intestinal biopsy technique, intracorporeal, assisted by laparoscopy, which has not yet been described in the literature, to collect mucosal fragments from the jejunum and small colon, which might be considered suitable for histological assessment. For such, six male horses were used, Arabian breed, with two years of age, without any records of abdominal diseases, weighing 267 kg in average. All horses were subjected to the same laparoscopic procedure, fasting for eight hours previously to the procedure. All horses were monitored through physical examination and abdominal ultrasonography, from the day previous to laparoscopy, until the 15th postoperative day, as well as hemogram, tests of liver and kidney functions, and analysis of the peritoneal fluid in days 0, 1, 2, 3, 5, 7, 10, 14, 21 and 30. The total laparoscopic procedure time was registered, starting at the moment of the first incision and ending at the moment of the skin closure. The partial times for the jejunal biopsy and small colon biopsy were recorded as well, starting at the grasping of the intestinal segment and ending at the moment of polymerization of the surgical adhesive on the needle access site. From each segment, ten fragments were collected and later subjected to histological analysis. A score was assigned for each one of them, being scored "0" fragments of poor quality; "1" fragments of good quality and "2" fragments of optimal quality. The samples considered viable were only the ones which scored 1 and 2. The samples deemed as adequate showed at least 50% of its fragments to be viable. The average of the surgery total time was of 66,50 minutes (± 7.87), whereas the average of the jejunal biopsy was of 14.2 minutes (± 4.3) and the small colon biopsy time was of 12.7 minutes (± 5.0). Clinically, the animals showed mild abdominal

discomfort in the first 48 hours. Ultrasonographic examination of the abdomen did not reveal any alterations consistent with peritonitis throughout the entire experiment period. Laboratory parameters presented inflammatory characteristics, and the peritoneal fluid remained altered until the 21th postoperative day, with normalization of all its values on the 30th day of the study. During the laparoscopic inspection of two horses (E2, E4) was identified partial omental adhesion with the diaphragm. In the jejunal histological evaluations, one sample (E5) of six was considered inadequate, with 5/12 viable fragments, and as for the small colon, two (E1, E2) of six were inadequate, with 4/9 and 5/10 viable fragments respectively. The new technique proposed allowed a safe collection of adequate mucosal samples for histological analysis, since clinical and laboratory abnormalities identified were related to the inflammatory process associated to the laparoscopic techniques in horses.

Key words: Horses. Biopsy. Intestine. Laparoscopy.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 -	Instrumental específico para realização da biopsia intestinal - São Paulo - 2016.....	43
Figura 2 -	Cateter laparoscópico para aplicação da cola cirúrgica - São Paulo - 2016.....	43
Figura 3 -	Portais criados para acesso à cavidade abdominal - São Paulo - 2016	44
Figura 4 -	Instrumentais posicionados durante o momento da coleta dos fragmentos de mucosa intestinal - São Paulo - 2016.....	46
Figura 5 -	Momento de coleta às cegas dos fragmentos de mucosa de jejuno - São Paulo - 2016	46
Figura 6 -	Introdução do cateter laparoscópico para aplicação da cola cirúrgica - São Paulo - 2016.....	47
Figura 7 -	Aplicação da cola cirúrgica no ponto de perfuração da agulha guia em cólon menor - São Paulo - 2016.....	47
Figura 8 -	Polimerização da cola cirúrgica no ponto de perfuração da agulha guia em cólon menor - São Paulo - 2016.....	48
Figura 9 -	Amostras do líquido peritoneal dos 6 equinos no D1 - São Paulo - 2016	63
Figura 10 -	Amostras do líquido peritoneal de 3 equinos no D3 - São Paulo - 2016	63
Figura 11 -	Fragmentos de mucosa de jejuno - São Paulo - 2016	68

Figura 12 - Fragmentos de mucosa de cólon menor - São Paulo - 2016	69
--	----

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Tabela dos tempos cirúrgicos, total e parciais de jejuno e cólon menor, em minutos, mensurados durante a realização das biopsias intestinais - São Paulo - 2016	59
Tabela 2 -	Tabela comparativa dos leucócitos totais (mm^3) no período pré-operatório e ao longo dos dias acompanhados no pós operatório - São Paulo - 2016	61
Tabela 3 -	Comparação das proteínas totais do líquido peritoneal dos equinos submetidos à biopsia intestinal, no período pré-operatório e nos dias acompanhados no pós-operatório - São Paulo - 2016.....	64
Tabela 4 -	Comparação entre as células nucleadas totais (mm^3) do líquido peritoneal dos equinos submetidos à biopsia intestinal, no período pré-operatório e acompanhamento nos dias subsequentes ao procedimento - São Paulo - 2016.....	66
Tabela 5 -	Média entre os avaliadores na atribuição de escores para classificação dos fragmentos de jejuno obtidos da biopsia intestinal - São Paulo - 2016.	67
Tabela 6 -	Média entre os avaliadores na atribuição de escores para classificação dos fragmentos de cólon menor obtidos da biopsia intestinal - São Paulo - 2016.	67

LISTA DE GRÁFICOS

- Gráfico 1 - Valores individuais e mediana dos leucócitos totais (mm^3) no período pré-operatório e nos dias acompanhados no pós-operatório - São Paulo - 2016 62
- Gráfico 2 - Valores das proteínas totais do líquido peritoneal dos equinos submetidos à biopsia intestinal, do período pré-operatório e ao longo dos demais dias após a realização do procedimento - São Paulo - 2016..... 65
- Gráfico 3 - Valores de células nucleadas totais presentes no líquido peritoneal de cada equino desde o período pré-operatório e após a realização do procedimento, ao longo dos dias - São Paulo - 2016..... 66

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AG	agulha guia
AST	aspartato transaminase
BI	biopsias intestinais
BID	duas vezes ao dia
CA	cavidade abdominal
CC	cola cirúrgica
CL	cateter laparoscópico
DII	doença inflamatória intestinal
EDTA	ácido etilenodiamino tetra-acético
EGS	equine grass sickness
EIC	espaço intercostal
EPE	enteropatia proliferativa equina
ESC	enfisema subcutâneo
FC	frequência cardíaca
FR	frequência respiratória
GGT	gama glutamil transpeptidase
Hb	hemoglobina
HE	hematoxilina-eosina
IM	intramuscular
IV	intravenoso
LP	líquido peritoneal
MHz	megahertz
PB	pinça de biopsia
pH	potencial hidrogeniônico
PO	pós-operatório
P1	primeiro portal de acesso
P2	segundo portal de acesso
P3	terceiro portal de acesso
P4	quarto portal de acesso
SID	uma vez ao dia
TGI	trato gastrointestinal

SÍMBOLOS

CO ₂	dióxido de carbono
cm	centímetros
kg	quilograma
mg	miligramas
mcg	microgramas
mL	mililitro
mmHg	milímetros de mercurio
mm	milímetro
UI	unidades internacionales

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	22
2	REVISÃO DE LITERATURA	24
2.1	ESTRUTURA INTESTINAL	24
2.2	EMPREGO DA BIOPSIA INTESTINAL EM EQUINOS	25
2.2.1	Padrão de qualidade das amostras intestinais	31
2.3	LAPAROSCOPIA EM EQUINOS	33
2.3.1	Anatomia laparoscópica	35
2.3.2	Laparoscopia diagnóstica	36
3	OBJETIVOS	39
3.1	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	39
4	MATERIAIS E MÉTODOS	40
4.1	ANIMAIS	40
4.2	PREPARAÇÃO PRÉ OPERATÓRIA	41
4.2.1	Antibioticoprofilaxia	41
4.2.2	Procedimento anestésico e analgesia	42
4.3	MATERIAIS ESPECÍFICOS PARA REALIZAÇÃO DA BIOPSIA	42
4.4	TÉCNICA DE BIOPSIA INTESTINAL	44
4.5	TEMPOS CIRÚRGICOS	48
4.6	EXAME FÍSICO	48
4.7	AVALIAÇÃO ULTRASSONOGRÁFICA ABDOMINAL	49
4.8	AVALIAÇÃO LABORATORIAL	50
4.8.1	Coleta de amostras sanguíneas	50
4.8.2	Eritrograma	50
4.8.3	Leucograma	51
4.8.4	Proteína total	51
4.8.5	Perfil hepático e renal	52
4.8.6	Coleta do líquido peritoneal	52
4.8.7	Análise do líquido peritoneal	52
4.9	PROCESSAMENTO HISTOLÓGICO	53
4.10	AVALIAÇÃO HISTOLÓGICA	54
4.11	INSPEÇÃO LAPAROSCÓPICA NO D30	55
4.12	ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS RESULTADOS	56

5	RESULTADOS	57
5.1	PROCEDIMENTOS CIRÚRGICOS	57
5.1.1	Tempos cirúrgicos	59
5.2	EXAME FÍSICO	59
5.3	EXAME ULTRASSONOGRÁFICO ABDOMINAL	60
5.4	EXAMES LABORATORIAIS	60
5.4.1	Eritrograma	60
5.4.2	Leucograma	61
5.4.3	Proteína total	62
5.4.4	Perfil hepático e renal	62
5.4.5	Líquido peritoneal	62
5.5	EXAME HISTOLÓGICO	66
5.6	INSPEÇÃO LAPAROSCÓPICA NO D30.....	70
6	DISCUSSÃO	71
6.1	AVALIAÇÃO DOS PROCEDIMENTOS CIRÚRGICOS	71
6.2	AVALIAÇÃO DO EXAME FÍSICO.....	78
6.3	AVALIAÇÃO DO EXAME ULTRASSONOGRÁFICO ABDOMINAL.....	79
6.4	AVALIAÇÃO DA INSPEÇÃO DA CAVIDADE ABDOMINAL NO D30.....	80
6.5	AVALIAÇÃO DO LEUCOGRAMA.....	81
6.6	AVALIAÇÃO DO LÍQUIDO PERITONEAL.....	82
6.7	AVALIAÇÃO DO EXAME HISTOLÓGICO.....	83
7	CONCLUSÕES	86
	REFERÊNCIAS	87
	APÊNDICE	96

1 INTRODUÇÃO

Os distúrbios gastrintestinais constituem um amplo e diversificado grupo de enfermidades de suma importância na medicina de equinos, demandando avanços em pesquisas e serviços prestados, para que as consequências destas doenças sejam minimizadas (REEVES et al., 1996; PIHL et al., 2015).

Na rotina podem ser observadas afecções intestinais crônicas, como as enterites e colites, que apresentam manifestações clínicas graves e inespecíficas, demandando a realização de exames complementares para que o diagnóstico seja estabelecido com maior precisão (SCHUMACHER et al., 2000).

De modo geral, nesses quadros, os pacientes desenvolvem emagrecimento progressivo e encontram-se debilitados, não sendo indicado submetê-los a celiotomia, por se tratar de uma cirurgia invasiva que pode culminar no agravamento do seu quadro de saúde (THOMASSIAN, 2005; FEARY et al., 2006; GRAHAM et al., 2014).

A biópsia intestinal é uma ferramenta que pode ser usada para auxiliar o diagnóstico nos casos de doença inflamatória intestinal, onde são avaliadas alterações histológicas (estruturais e celulares), e com base nas características anatomopatológicas encontradas nos fragmentos é possível, em determinados casos, que se direcione o diagnóstico correto da enfermidade. Entretanto, as técnicas descritas apresentam limitações e devem ser usadas com critérios para que não ocorram resultados indesejados em seu emprego (MEE et al., 1985; PACKER et al., 2005).

Fragmentos coletados por técnicas de biópsia podem ser obtidos por meio de celiotomia pela linha média ventral ou pelo flanco, duodenoscopia, por via transretal e laparoscopia, sendo que cada uma apresenta diferentes limitações quanto à segurança do paciente e acesso ao segmento desejado (SCHAMBOURG et al., 2006; BRACAMONTE et al., 2008; ARAÚJO, 2014).

Na literatura, projetos que englobam essa área são escassos, havendo demanda para novos estudos, visando o aprimoramento de técnicas para obtenção de fragmentos intestinais, com o máximo de segurança.

Portanto, propomos a avaliação de uma técnica de biópsia intestinal, inédita, intracorpórea, assistida por videolaparoscopia em equinos, realizada em estação, a

fim de coletarmos fragmentos de intestino de maneira eficaz, segura ao paciente e com menor trauma ao segmento biopsiado, proporcionando uma melhor recuperação pós-operatória.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 ESTRUTURA INTESTINAL

De modo geral as alças intestinais dos mamíferos apresentam quatro camadas: mucosa, submucosa, muscular e serosa, que possuem a mesma circunferência, envolvendo por completo o lúmen intestinal. Cada camada possui características próprias, permitindo que sejam diferenciadas umas das outras por meio do exame histológico (JUNQUEIRA et al., 2008).

A mucosa do intestino é composta por um revestimento de células justapostas (epitélio), pela lâmina própria e pela camada muscular da mucosa. Em equinos, o intestino delgado (duodeno, jejuno e íleo) é responsável pela digestão química, que ocorre pela atuação do suco entérico, pancreático e pela bile. Por meio da digestão não fermentativa, o epitélio deste segmento promove a digestão e absorção de carboidratos, proteínas e gorduras, além de absorver água e eletrólitos. O intestino grosso dos equinos realiza a digestão fermentativa, sendo o ponto inicial deste processo, o ceco. Essa estrutura é uma câmara de fermentação, com funções muito semelhantes às que ocorrem no rúmen dos bovinos. Além do ceco, o cólon maior também tem grande importância nesses processos fermentativos. Esses dois segmentos possuem uma rica microbiota composta por bactérias, fungos e protozoários, que ao digerirem o alimento produzem ácidos graxos voláteis, que são absorvidos, tornando-se fonte importante de energia para a espécie. Nesse segmento também ocorre absorção de grande quantidade de água, além de eletrólitos, proteínas e carboidratos estruturais e não estruturais. A lâmina própria é formada pelo tecido conectivo frouxo e possui importante quantidade e variedade de células imunocompetentes, tais como, plasmócitos, linfócitos T e B, eosinófilos, neutrófilos e macrófagos (FENOGLIO-PREISER et al., 2008; HERDT, 2004; THOMASSIAN, 2005).

Na submucosa é onde se localiza grande parte de artérias, veias, nervos, vasos linfáticos e gânglios, desempenhando papel substancial para o funcionamento da alça intestinal (MONTANARI, 2016).

A porção muscular é responsável pelas contrações que desenvolvem o peristaltismo da alça e possui dois feixes de musculatura lisa, dando origem a camada circular e a camada longitudinal. As células pertencentes a essa estrutura têm como principal função a condução de estímulos nervosos, principalmente durante os processos de digestão (JUNQUEIRA et al., 2008; SAMUELSON, 2007).

A serosa é a camada mais externa da alça intestinal e está em contato com os demais órgãos da cavidade abdominal. É composta por tecido conectivo frouxo, colágeno e tecidos elásticos, que permitem com que o segmento de intestino se distenda ou se compacte, adaptando-se ao conteúdo presente (líquido, sólido ou gasoso) (SAMUELSON, 2007; FENOGLIO-PREISER et al., 2008).

2.2 EMPREGO DA BIOPSIA INTESTINAL EM EQUINOS

Por definição, biopsia é um procedimento que consiste na retirada de uma ou mais amostras de tecido de qualquer órgão do corpo de um indivíduo vivo, para posteriormente serem analisadas via microscopia (CAUBI et al., 2004).

Nos equinos, as doenças do trato digestório apresentam altas taxas de morbidade e/ou mortalidade com diferentes etiologias. Dessa maneira, as biopsias intestinais (BI) podem ser indicadas para casos de doença inflamatória intestinal (enterite e colite), enteropatia proliferativa equina, doença da disautonomia equina (Equine Grass Sickness) e neoplasias, além de serem utilizadas em estudos experimentais e como ferramenta para determinação do prognóstico de recuperação de alças que sofreram processos isquêmicos (FEARY et al., 2006; TAYLOR et al., 2006; KALCK, 2009; MENDES et al., 2009; PUSTERLA et al., 2013; PIRIE et al., 2014).

Em seguida, faremos uma breve descrição das principais indicações para realização da BI em equinos.

A Doença Inflamatória Intestinal (DII) pode ser definida por meio do infiltrado de neutrófilos, plasmócitos, linfócitos, eosinófilos e macrófagos na mucosa e submucosa. As células inflamatórias instalam-se principalmente na região da lâmina própria, desencadeando uma série de alterações nos segmentos de intestino

delgado e grosso (LINDBERG et al., 1996; SCHUMACHER et al., 2000; PACKER et al., 2005).

A etiologia dessa enfermidade está relacionada a uma intensa resposta autoimune desencadeada por um antígeno de origem viral, parasitária, bacteriana ou até mesmo alimentar, que acaba resultando na infiltração e predominância anormal de determinadas células (SCHUMACHER et al., 2000; MAIR et al., 2006; KALCK, 2009).

Pacientes afetados por afecções intestinais crônicas permanecem constantemente debilitados devido à má absorção de nutrientes essenciais e hipoproteïnemia, desenvolvendo refluxo, diarreia, emagrecimento progressivo, dor abdominal e edema na porção ventral do peito e abdômen, assim como nas regiões distais dos membros locomotores (MAIR et al., 2006; KALCK, 2009).

A DII pode ser classificada de acordo com a predominância de grupos celulares presentes nos segmentos afetados, sendo que quatro tipos diferentes de enterites e colites podem ser identificados: enterocolite granulomatosa, linfoplasmocítica, eosinofílica e doença multissistêmica eosinofílica epiteliotrópica (SCHUMACHER et al., 2000; MAIR et al., 2006; KALCK, 2009).

A classificação da DII é determinada pelo exame histopatológico das amostras intestinais, já que os sinais clínicos e alterações macroscópicas das enterocolites são inespecíficos. Com o diagnóstico confirmado, há a possibilidade de o prognóstico ser estabelecido, assim como estabelecer uma conduta terapêutica específica para o tipo de DII que acomete o paciente (FEARY et al., 2006; MAIR et al., 2006).

A enteropatia proliferativa equina (EPE) é uma enfermidade que afeta o intestino delgado de diversas espécies, sendo mais comum em suínos. Entretanto, recentemente foi considerada emergente em equinos, afetando principalmente potros de quatro a oito meses de idade e mais raramente adultos jovens. É causada pela *Lawsonia intracellularis*, bactéria Gram-negativa, intracelular, que se instala no citoplasma dos enterócitos. As manifestações clínicas são inespecíficas, como perda de peso, edema em membros, porção ventral do abdômen, prepúcio e bolsa testicular, desconforto abdominal e diarreia. As lesões histológicas dessa doença são singulares e geralmente se concentram no íleo próximo à válvula ileocecal. A análise imunoistoquímica com anticorpo específico da *L. intracellularis* das amostras de biopsias intestinais, é considerada padrão ouro para diagnóstico da EPE. Alguns

países apresentam maior incidência do diagnóstico da doença, tendo sido identificada nos Estados Unidos, Canadá, Austrália, Inglaterra, Bélgica e Suíça. No Brasil, em 2013, Gabardo et al., diagnosticaram a doença por meio de imunoistoquímica para *L. intracellularis* em fragmentos intestinais de um potro de sete meses de idade, na região oeste do país. Outros dois relatos nacionais da enfermidade descrevem o diagnóstico da EPE sem a análise histopatológica da amostra intestinal. A identificação foi baseada por meio de PCR das fezes e/ou sorologia (ALLEN et al., 2009; GUIMARÃES-LADEIRA et al., 2009; PUSTERLA et al., 2013; GUTTMANN et al., 2014).

A doença da disautonomia equina mais conhecida como *Equine Grass Sickness* (EGS), é caracterizada por alterações neurodegenerativas no plexo mioentérico e submucoso de equinos entre dois a sete anos, que são criados em pastagens de forma extensiva. As disfunções do sistema nervoso autônomo e do sistema nervoso entérico desenvolvem diminuição de motilidade gastrointestinal, disfagia, refluxo gástrico e cólica, manifestando-se de forma aguda, subaguda e crônica, com altas taxas de mortalidade. A etiologia ainda não é bem estabelecida, sendo a enfermidade considerada de caráter multifatorial, com a hipótese de uma toxinfecção pela toxina do *Clostridium botulinum*. A epidemiologia concentra-se principalmente no Reino Unido, Holanda, Áustria, Suíça, Hungria, Dinamarca, França, Alemanha e Austrália. Entretanto, uma doença com as mesmas características clínicas e patológicas foi relatada no Chile e Argentina. O diagnóstico definitivo *ante-mortem* só pode ser estabelecido através do exame histopatológico dos gânglios entéricos, sendo o íleo a região mais provida de alterações (perda neuronal). A biopsia da mucosa retal também pode ser um exame adicional para tentativa do diagnóstico da EGS (SCHOLLES et al., 1993; UZAL et al., 1993; ARAYA et al., 2002; WALES et al., 2006; MILNE et al., 2010; MAIR et al., 2013; PIRIE et al., 2014).

Em geral, neoplasias abdominais em equinos são raras. No trato gastrointestinal a incidência é ainda menor. Quando acometidos, indivíduos dessa espécie são diagnosticados com linfoma alimentar e, com menos frequência, adenocarcinoma e carcinoma. Além dos tumores, outras massas teciduais, como as causadas pela pitiose intestinal, podem ser identificadas no lúmen das alças, causando obstruções parciais ou totais. Clinicamente, os pacientes podem apresentar sinais inespecíficos como anorexia, perda de peso, diarreia, desconforto

abdominal e febre. Nesse âmbito, em grande parte dos casos as afecções são confirmadas somente *post-mortem*. Entretanto, a exploração da cavidade abdominal e a biopsia de regiões específicas e/ou da mucosa retal podem determinar corretamente o diagnóstico (LEAL et al., 2001; TAYLOR et al., 2006).

As afecções isquêmicas, oriundas de deslocamentos, distensões ou trombozes de diferentes segmentos intestinais, representam um grande desafio para sobrevivência dos pacientes acometidos. Devido à alta complexidade e gravidade de sua fisiopatogenia, diversos estudos visam reproduzir as condições de isquemia e reperfusão para melhor entendê-las. Os equinos possuem particularidades anatômicas e fisiológicas que favorecem a ocorrência destes fenômenos e alta sensibilidade às graves alterações causadas por essa injúria. A torção intestinal pode ocorrer em diversos graus, sendo que, quanto mais acentuado o grau de rotação da alça, maior será o comprometimento no fluxo artério-venoso local. Na distensão, a isquemia é favorecida quando há alta pressão intraluminal por um período prolongado de tempo. As alterações histológicas variam de acordo com o tempo de duração e intensidade dos processos, fornecendo parâmetros essenciais para atribuição de escores de viabilidade da alça. A biopsia transcirúrgica das regiões afetadas viabiliza a análise anatomopatológica das amostras, tanto no âmbito experimental quanto clínico, permitindo que o prognóstico do caso e a sobrevivência do paciente sejam determinados (HOOGMOED et al., 2000; THOMASSIAN, 2005; BLINKSLAGER et al., 2009; GROSCHE et al., 2011; LEVI et al., 2012).

As coletas e análises de amostras do TGI também podem ser instituídas em experimentos com equinos sadios, visando à avaliação das características morfológicas de diferentes camadas intestinais, a quantificação dos grupos celulares presentes na lâmina própria e o acompanhamento da atrofia das vilosidades por jejum prolongado. Entretanto, outros estudos propõem a reprodução de condições clínicas similares às encontradas na rotina, desenvolvendo modelos experimentais de isquemia e reperfusão, a indução de reações inflamatórias em intestino delgado e grosso após a manipulação cirúrgica e a determinação dos efeitos deletérios de anti-inflamatórios não esteroidais sob a mucosa intestinal. Sendo assim, o emprego da BI torna-se fundamental para a compreensão da fisiologia e fisiopatogenia que envolvem essas estruturas, dando base para novos estudos na área da gastroenterologia equina (MESCHTER et al., 1990; LUCAS et al., 2005; PACKER et

al., 2005; MCCONNICO et al., 2008; HOLCOMBE et al., 2009; MENDES et al., 2009; HOPSTER-IVERSEN et al., 2011).

Desse modo, as biopsias podem ser realizadas ao longo de todo o sistema digestório, desde o esôfago até o reto. Em animais, a abordagem de alguns segmentos pode não ocorrer devido a limitações da técnica empregada, cabendo ao profissional a escolha da mais adequada. Os padrões descritos para realização das BI são: via laparotomia, com auxílio do endoscópio flexível, por laparoscopia ou por via retal com fórceps para biopsia (TAYLOR, 2002; BAIN et al., 2004; SCHAMBOURG et al., 2006; BRACAMONTE et al., 2008).

Assim, a obtenção de fragmentos pode ser efetuada através de pinças rígidas ou flexíveis específicas para biopsia, com diferentes diâmetros e comprimentos. A obtenção das amostras pode ocorrer também pela forma incisional ou excisional (BURNS, 2004; WILARD et al., 2013).

Na medicina humana, são realizados exames com endoscópios flexíveis, para visualização e coleta de mucosa de diferentes segmentos intestinais, visando à identificação e tratamento de diferentes enfermidades. A realização de biopsias intestinais em humanos pode ocorrer por meio de duodenoscopia, colonoscopia e, em alguns casos, por laparoscopia (MAZZIOTTI et al., 2001; KING et al., 2005; NAHAS et al., 2005; GAMA et al., 2010). Em 2010, Gama e Furlanetto, demonstraram que a confirmação do diagnóstico de doença celíaca em alguns casos é obtida somente através da amostra de duodeno colhida por meio de biopsia duodenal. Em estudo retrospectivo realizado por Nahas e colaboradores no ano de 2005, 2.567 casos de exames de colonoscopia foram analisados, estabelecendo-se diagnóstico e diferenciação entre variadas enfermidades, como diverticulite, doença inflamatória intestinal e tumor colorretal. Nos anos de 2001 e 2005, Mazziotti et al. e King et al., respectivamente, utilizaram a laparoscopia para coleta de porção seromuscular do intestino grosso de crianças, para o diagnóstico da doença da disautonomia intestinal.

Durante muitos anos a obtenção de amostras intestinais em cavalos se deu por meio de laparotomia. No entanto, trata-se de técnica invasiva para o paciente e para a região abordada, apresentando altas taxas de complicações pós-operatórias. Em muitos casos, a exteriorização de segmentos específicos pode não ocorrer, limitando o procedimento. Em virtude disso, muitos profissionais acabam por não indicar esse

tipo de exame, não sendo possível estabelecer o diagnóstico definitivo da doença (MURRAY et al., 2002; SCHAMBOURG et al., 2006; BRACAMONTE et al., 2008).

A gastroduodenoscopia é realizada com o endoscópio flexível, o que permite a avaliação visual da porção interna das estruturas, viabilizando a coleta de amostras de esôfago, estômago e algumas porções de intestino delgado. A endoscopia digestiva, comumente é feita em cães, gatos e equinos, tendo a vantagem de ser um método minimamente invasivo e que não requer preparo complexo para sua realização. Nos cães e felinos de porte médio para grande, a gastroduodenoscopia permite a visualização e coleta de fragmentos da porção descendente do duodeno, e nos de pequeno porte somente até porção inicial de jejuno. Em equinos, a porção proximal do duodeno pode ser inspecionada e biopsiada. Entretanto, a duodenoscopia não é uma prática comum nessa espécie, apresentando alto grau de complexidade para sua execução. Em alguns casos o exame limita-se apenas à região antropilórica, devido ao extenso comprimento que o cavalo possui do ponto de entrada do endoscópio (narina) até o duodeno. Nesse âmbito, as biopsias obtidas por meio de gastroduodenoscopia podem não ser elucidativas, devido às afecções do TGI manifestarem-se de forma difusa, fazendo com que o quadro inflamatório afete diferentes segmentos do intestino. Outras enfermidades têm por característica acometer as camadas mais externas das alças (muscular e serosa), fazendo com que as biopsias de mucosa gástrica, duodenal ou da porção inicial de jejuno, não sejam expressivas na identificação de determinadas doenças (WILLARD et al., 2001; MURRAY, 2002; MOORE, 2003; BAIN et al., 2004; EVANS et al., 2006).

A laparoscopia pode ser utilizada para realização da biopsia intestinal, com a obtenção intracorpórea de amostras de diferentes segmentos, tanto com auxílio de materiais laparoscópicos convencionais, como pinças e tesouras, quanto com instrumentais específicos como os endogrampeadores (SCHAMBOURG et al., 2006; BRACAMONTE et al., 2008). A laparoscopia será abordada detalhadamente no capítulo 2.3.

Outro método descrito é a biopsia de mucosa retal, considerada de fácil execução e baixo custo, pois não é necessário o uso de equipamentos de alta complexidade. A técnica consiste na introdução de um fórceps de biopsia pelo reto do animal, seguida da coleta na porção dorsal do segmento. O referido exame viabiliza o diagnóstico de aproximadamente um terço dos cavalos com DII. Em contrapartida, quando as alterações restringem-se ao intestino delgado, a mucosa

retal pode não sofrer alterações infiltrativas de células inflamatórias, não sendo possível a determinação do diagnóstico. Recentemente, alguns autores (MAIR et al., 2013; WALES et al., 2013) descreveram o emprego da biopsia retal como método adicional para o diagnóstico da doença da disautonomia equina (*Equine Grass Sickness*). No Brasil, a prática desse método é pouco difundida, havendo poucos relatos de sua utilização. No entanto, tem-se registro de duas éguas Quarto de Milha, com 21 e 22 anos, diagnosticadas com enterocolite linfoplasmocítica, a partir da coleta de mucosa retal *post-mortem*. Um estudo nacional, de metodologia prospectiva, realizado por Araújo (2014) visou avaliar a segurança e viabilidade da técnica de biopsia retal em equinos saudáveis e com alterações gastrointestinais. Segundo o autor, a biopsia de mucosa retal somente em alguns casos apresenta alterações histopatológicas que permitem que o diagnóstico definitivo seja estabelecido, entretanto, auxilia o raciocínio diagnóstico, sendo importante exame complementar a ser indicado para casos de distúrbios do sistema digestório (LINDBERG et al., 1996; SCHUMACHER et al., 2000; TAYLOR, 2002; MENARIM et al., 2007; KALCK, 2009).

2.2.1 Padrão de qualidade das amostras intestinais

As amostras de intestino obtidas por meio de fórceps de biopsia podem sofrer alterações por artefatos oriundos de erros durante a coleta, na transferência do fragmento da pinça para o recipiente, indevido acondicionamento da amostra, ou até mesmo falha no processo de fixação da peça. Assim, a identificação de lesões específicas está intimamente relacionada à qualidade das amostras enviadas ao laboratório para análise (WILLARD et al., 2001; WILLARD et al., 2013).

Quando são indicados exames de biopsia intestinal por métodos que utilizam pinças específicas, preconizam-se múltiplas coletas, de modo que se obtenham entre 10-15 fragmentos, em torno de 3 milímetros de espessura. Com isso, a probabilidade de serem obtidas amostras adequadas é maior, sendo que eventuais inadequadas poderão ser descartadas sem que o exame histopatológico seja prejudicado. No ato da coleta o instrumental deve ser posicionado no ângulo de 90º

para secção da mucosa, evitando que não se colem porções mais profundas (submucosa) ou que ocorra a secção de vilosidades (WILLARD et al., 2013).

O tipo de bocal dos fórceps de biopsia interfere na qualidade da amostra coletada, sendo que quatro tipos são rotineiramente utilizados: o tipo concha fenestrada, concha fenestrada serrilhada, concha fenestrada serrilhada com agulha no centro e o tipo *Alligator*. Em alguns métodos, determinados instrumentais são adaptados para realização da biopsia, tais como, fórceps de biopsia uterina para coleta da mucosa retal e o grameador cirúrgico de laparoscopia para técnicas via laparoscopia. O acondicionamento das amostras também é importante, a fim de se evitarem alterações que inviabilizem a análise histológica, sendo recomendado que os fragmentos sejam armazenados em um recipiente com formol a 10%, na proporção 1:10, para posteriormente serem encaminhados ao laboratório (BURNS, 2004; BRACAMONTE et al., 2008; ARAÚJO, 2014).

Escore pode ser atribuído à qualidade das amostras obtidas, de acordo com a presença ou não de artefatos e de determinadas camadas que compõem a alça intestinal. Willard et al (2001) propôs, em cães e gatos, a classificação para amostras de duodeno, de acordo com a profundidade, o tamanho, grau de artefato causado por esmagamento e adequada fixação. Quanto à profundidade, três escores foram utilizados, sendo que o 2 foi atribuído para as amostras adequadas, que obtiveram espessura total da mucosa (do ápice da vilosidade até a junção com a camada muscular da mucosa), 1 para aquelas consideradas questionáveis (continham apenas algumas vilosidades e subvilosidades, sem clara visualização da junção entre mucosa e muscular da mucosa) e 0 para as inadequadas, que apresentavam somente vilosidades. Quanto à análise do tamanho, grau de artefato e adequada fixação, uma avaliação subjetiva com escores de 2 a 0 foi feita, sendo que escore 2 classificou as amostras como adequadas, 1 para adequação questionável e 0 para aquelas inadequadas. Em equinos, metodologia semelhante pode ser instituída para padronização de fragmentos coletados por meio da biopsia retal, como descreveu Araújo em 2014, classificando amostras consideradas ótimas com escore 0 (presença de mucosa, muscular da mucosa e submucosa), qualidade boa, escore 1 e qualidade ruim, escore 2.

Entretanto, as enfermidades que acometem o trato gastrointestinal de equinos apresentam comportamento e manifestações histológicas distintas, sendo que diferentes camadas podem ser afetadas. Com isso, para cada afecção preconizam-

se diferentes padrões de qualidade, cabendo à equipe segui-los para que a avaliação histopatológica seja realizada de maneira adequada (PACKER et al., 2005; TAYLOR et al., 2006; MAIR et al., 2013; PUSTERLA et al., 2013).

2.3 LAPAROSCOPIA EM EQUINOS

A busca por métodos para visualização de estruturas internas do corpo iniciou-se com o físico árabe Abulkasim (963 a 1013 D.C), o qual inspecionou internamente a cavidade vaginal, com o auxílio de um espécúlo com reflexo de uma luz. Posteriormente, em 1805, Philip Bozzini desenvolveu um instrumento denominado por ele de *Lichtleiter*, que, juntamente com uma vela como fonte de luz, permitiu que fosse o primeiro a inspecionar internamente a cavidade abdominal de seres humanos (KLOHNEN, 2002).

Em animais, o primeiro relato ocorreu no ano de 1901, por Kelling, quando um cachorro foi submetido a uma laparoscopia. Cinquenta anos depois, esse tipo de exame foi instituído na medicina veterinária para sexagem de pássaros e exames reprodutivos em animais de produção. Na década de 70 houve os primeiros relatos de laparoscopia em equinos, que consistiam na descrição anatômica interna dos órgãos genitais e na consequente visualização dos pontos de ovulação (KLOHNEN, 2002).

A laparoscopia é técnica minimamente invasiva, que permite a visualização de órgãos e estruturas anatômicas presentes na cavidade abdominal, podendo ser empregada como procedimento terapêutico ou diagnóstico. Para sua execução, é preciso que se disponha de profissionais capacitados na área, equipamentos e instrumentais específicos, instalações apropriadas e procedimentos anestésicos adequados (RAGLE et al., 2012).

Em equinos, o posicionamento do paciente para procedimentos laparoscópicos pode ser selecionado de acordo com a região a ser abordada. Ao contrário de outras espécies, grande parte das laparoscopias em cavalos pode ocorrer com o animal na posição quadrupedal, com acesso através dos flancos direito ou esquerdo, sob neuroleptoanalgesia e bloqueio anestésico local dos portais de acesso. Entretanto, para esse tipo de técnica também é utilizado o decúbito dorsal, sob anestesia geral

inalatória, sendo necessário, em alguns casos, adotar a posição tipo Trendelenburg, para visualização da região inguinal (SILVA et al., 1997; SILVA et al., 2008; GRUBB, 2012; EASLY et al., 2014).

A visualização e exploração das alças intestinais, órgãos e outras estruturas abdominais, ocorre de maneira efetiva após a insuflação da cavidade peritoneal com dióxido de carbono (CO₂). O gás de escolha para estes procedimentos é o CO₂, pois não é inflamável e quando comparado a outros gases apresenta rápida eliminação pulmonar e boa solubilidade no sangue, minimizando os riscos de embolia gasosa. A pressão estabelecida através do pneumoperitônio pode causar alterações locais e sistêmicas, porém, em média, tendem a se normalizar após a primeira semana de pós-operatório (FISCHER et al., 1986; SILVA et al., 2002).

Para realização de laparoscopia é preciso que se disponha de sistema de imagem, composto por monitor, gravador de vídeo/imagem, e câmera; fonte de luz; cabo para transmissão da luz; endoscópio rígido (ótica laparoscópica) e um insuflador. Comumente, as óticas utilizadas em equinos possuem 10 milímetros (mm) de diâmetro e 33 ou 57 centímetros (cm) de comprimento, com angulações de zero ou trinta graus. Os trocartes são componentes descartáveis ou permanentes, usados para criação dos portais de acesso à cavidade abdominal, por onde serão introduzidos a ótica e os demais instrumentais. Uma grande variedade de materiais permanentes ou descartáveis, como pinças (manipulação, apreensão, tração), tesouras, porta agulhas, entre outros, auxiliam na realização das videolaparoscopias. Assim como os trocartes, os instrumentais possuem diferentes tamanhos (mm/cm), cabendo à equipe cirúrgica a escolha do material mais adequado (CHAMNESS, 2012; HUHN, 2012; EASLY et al., 2014).

Da mesma maneira que em outras modalidades cirúrgicas, na laparoscopia algumas intercorrências podem ocorrer, de forma branda ou apresentando importante nível de gravidade, colocando em risco muitas vezes a vida do paciente ou até mesmo a integridade da equipe. Fatores como a seleção do animal que será submetido à laparoscopia, indicação do procedimento e treinamento da equipe para executar este tipo de técnica, são importantes para prevenção desses e de outros problemas (CAMPOS et al., 2003; HENDRICKSON, 2009).

As complicações da laparoscopia em equinos assemelham-se às relatadas na medicina humana, no entanto, algumas ocorrem somente nessa espécie, uma vez

que determinadas técnicas são executadas especificamente nesses animais (DESMAYZIERES et al., 2003).

Os erros técnicos ou acidentes podem ocorrer devido ao mau posicionamento do animal e na instituição de protocolos de sedação para procedimentos realizados em posição quadrupedal, nos quais o equino pode apresentar graus elevados de ataxia, ou até mesmo queda durante o ato cirúrgico. Outros problemas podem estar relacionados à incisão acidental da artéria ilíaca circunflexa; na inserção de agulhas e/ou trocartes, resultando em falha no acesso à cavidade abdominal ou na punção acidental de órgãos; no momento de criação do pneumoperitônio, podendo haver insuflação retroperitoneal; nas manobras com os instrumentais sem visualização direta do operador, podendo causar danos às estruturas adjacentes ao procedimento (CAMPOS et al., 2003; DESMAYZIERES et al., 2003; HENDRICKSON, 2009).

2.3.1 Anatomia laparoscópica

A anatomia topográfica da cavidade abdominal de equinos avaliada pela laparoscopia pode variar de acordo com o posicionamento do animal durante o exame, período de jejum e enfermidades no TGI. Para a laparoscopia exploratória, recomenda-se que o animal seja colocado na posição quadrupedal, por apresentar desse modo um percentual maior de visibilidade das estruturas abdominais. A abordagem deve ser feita no centro da fossa paralombar (direita ou esquerda) entre a última costela e a tuberosidade coxal. Para que o acesso seja feito, é preciso que se ultrapassem as camadas de pele, tecido subcutâneo, músculos oblíquo abdominal externo e sua fáscia, oblíquo abdominal interno, transverso abdominal, gordura retroperitoneal e, posteriormente, o peritônio. É importante ressaltar que na porção dorsal do músculo oblíquo abdominal interno, encontra-se um plexo importante com a artéria e veia ilíaca circunflexa (GALUPPO, 2002; SILVA et al., 2008; HENDRICKSON, 2012^a).

Quando a abordagem laparoscópica ocorre pelo flanco esquerdo, em grande parte dos casos, é possível a inspeção do baço, ligamento nefroesplênico, flexura pélvica, porções de cólon ventral e dorsal, segmentos de jejuno, cólon menor, reto,

estômago, diafragma, a projeção do rim esquerdo e a vesícula urinária com os ligamentos lateral e ventral. Em machos, nota-se também o anel inguinal esquerdo e nas fêmeas, ovário e corno uterino esquerdo (GALUPPO, 2002; SILVA et al., 2008; HENDRICKSON, 2012^a).

A abordagem pelo flanco direito geralmente revela estruturas como duodeno, porção lateral e ventral do ceco, forame epiplóico, segmentos de intestino delgado, lobo hepático direito e caudado, cólon dorsal e ventral direitos, vesícula urinária e seus ligamentos, assim como ovário e corno uterino direitos em éguas e anel inguinal direito nos machos (GALUPPO, 2002; SILVA et al., 2008; HENDRICKSON, 2012^a).

2.3.2 Laparoscopia diagnóstica

Em determinados casos, pacientes debilitados não devem ser submetidos a cirurgia invasiva, como laparotomia, e anestesia geral, por apresentarem maior risco de complicações durante o procedimento e no período pós-operatório. Com o passar dos anos, a laparoscopia não se limitou somente a procedimentos cirúrgicos convencionais, expandindo sua área de atuação para diferentes indicações diagnósticas. Com isso, por ser uma modalidade cirúrgica minimamente invasiva, realizada em estação, a laparoscopia exploratória apresenta uma série de benefícios, tornando-se ferramenta importante para diagnóstico e prognóstico de variadas afecções de pacientes críticos. No entanto, a laparoscopia para exploração da cavidade abdominal deve ser aplicada somente após a utilização de outros métodos complementares, como a ultrassonografia abdominal, a gastroscopia, a palpação retal e a abdominocentese (SILVA et al., 2008; HENDRICKSON, 2012^b; GRAHAM et al., 2014).

As indicações para o referido exame são variadas, o qual visa identificar alterações nos sistemas digestório, genitourinário, reprodutivo, órgãos como baço e fígado, e nas demais estruturas anatômicas da cavidade peritoneal (SILVA et al., 2008; GRAHAM et al., 2014).

Em equinos, a laparoscopia diagnóstica é indicada para casos de cólicas recorrentes ou distúrbios crônicos do TGI, que clinicamente não puderam ser

diagnosticados e solucionados. Aplica-se também ao acompanhamento pós-operatório de cavalos submetidos à laparotomia exploratória que não apresentam boa evolução clínica, viabilizando a identificação de peritonite, aderências ou deiscência de suturas. Inclusive, outras alterações como rupturas intestinais (reto, cólon maior e menor), ruptura uterina, encarceramento no forame epiplóico, hérnia diafragmática, hemorragias, abscessos abdominais e neoplasias podem ser identificadas através da laparoscopia exploratória (SILVA et al., 2000; SILVA et al., 2008; GRAHAM et al., 2014).

Ademais, as biopsias de órgãos abdominais são consideradas padrão ouro para o diagnóstico de determinadas enfermidades, por permitirem a visualização direta e determinação do ponto exato de coleta do fragmento. Por via laparoscópica podem ser realizadas as biopsias de fígado, rim, baço, linfonodos e intestino, utilizando-se diferentes técnicas e abordagens laparoscópicas para cada uma delas (FISCHER, 2002; SILVA et al., 2002; TABET et al., 2005; HENDRICKSON, 2012^b).

Na literatura, há poucos estudos que avaliam técnicas de biopsia intestinal com auxílio da laparoscopia em equinos, sendo que dois trabalhos abordaram de forma mais aprofundada o tema. Todavia, algumas limitações importantes foram identificadas pelos autores. No experimento em que a sutura manual intracorpórea foi utilizada para fechamento dos pontos de coleta, nota-se que a pouca familiarização com esta técnica de rafia, pode resultar no aumento significativo do tempo cirúrgico e ser fator limitante para execução da biopsia (Schambourg et al., 2006). O segundo estudo, realizado dois anos depois, visou eliminar as limitações apresentadas pelo autor do experimento anterior, utilizando o grampeador cirúrgico para obtenção de um fragmento com todas as camadas intestinais. Com isso, o tempo de coleta e de cirurgia foram reduzidos, não havendo demanda de grande treinamento para sua execução. No entanto, essa técnica mostrou-se traumática para o segmento abordado, não suportando as altas pressões intraluminais que foram testadas (Bracamonte et al., 2008). Dessa forma, uma vez que, em condições clínicas as pressões podem ser mais elevadas do que as utilizadas nesse experimento, foram indicados mais estudos antes que essa técnica fosse disponibilizada para animais doentes. Em vista disso, esse segmento da laparoscopia precisa ser mais explorado, dado que o diagnóstico, prognóstico e tratamento de determinadas doenças do sistema digestório podem ser estabelecidos

somente por meio da análise histopatológica de amostras intestinais (HENDRICKSON, 2012^b).

3 OBJETIVOS

O objetivo do presente trabalho foi validar uma técnica, ainda não descrita na literatura, de biopsia intestinal em equinos, por punção do órgão, intracorpórea, assistida por videolaparoscopia, para obtenção de fragmentos viáveis de mucosa de jejuno e cólon menor.

3.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Avaliar a segurança, praticidade e eficácia da técnica de biopsia intestinal por punção de jejuno e cólon menor de equinos.
2. Analisar a viabilidade histológica dos fragmentos.
3. Avaliar as alterações clínicas dos animais submetidos ao procedimento.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

O presente estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (FMVZ/USP), protocolo nº 7188070714, sendo realizado no campus de Pirassununga da FMVZ/USP.

4.1 ANIMAIS

Foram utilizados seis equinos, sadios, machos, da raça Puro Sangue Árabe, com idade entre 17 a 26 meses, com média de peso de 267 kg, devidamente imunizados e vermifugados. Os animais não apresentavam histórico de distúrbios e intervenções abdominais e estavam aptos, ao exame físico e laboratorial, para serem submetidos aos procedimentos anestésico e cirúrgico.

Durante todo período de estudo os animais permaneceram no Centro de Apoio, Ensino e Pesquisa – CAEP da FMVZ/USP, localizado no campus de Pirassununga. Trinta dias antes do início do experimento os cavalos foram adaptados ao ambiente e à manipulação, assim como ao manejo alimentar. No primeiro dia após as laparoscopias permaneceram nas baias em tempo integral e posteriormente foram soltos em piquetes durante o dia e estabulados à noite. Durante toda adaptação e período experimental permaneceram com cochos de água (*ad libitum*) e foram alimentados com ração específica de equinos (1% de seu peso vivo), fracionada duas vezes ao dia, e feno de *coast cross* (2,5% de seu peso vivo), fornecido três vezes ao dia.

Os equinos foram divididos em duplas para realização dos procedimentos cirúrgicos, sendo o primeiro realizado no período da manhã e o segundo à tarde:

1º dia - Equino 1 (E1) / Equino 2 (E2)

2º dia - Equino 3 (E3) / Equino 4 (E4)

3º dia - Equino 5 (E5) / Equino 6 (E6)

4.2 PREPARAÇÃO PRÉ-OPERATÓRIA

Os animais foram submetidos somente a jejum alimentar, oito horas antes do procedimento cirúrgico. Os equinos foram escovados e rasqueados e tiveram os quatro cascos limpos e lavados. Previamente ao procedimento, realizamos a palpação transretal e a retirada de fezes, visando o esvaziamento do reto, para obtermos uma melhor visualização da cavidade abdominal, e conseqüentemente, maior segurança para inserção dos trocartes. Posteriormente, realizamos ampla tricotomia na região do flanco esquerdo, seguida de duas lavagens com água e sabão neutro. Em seguida, realizamos acesso venoso na jugular direita, por onde administramos anti-inflamatório, analgésico, antibiótico e sedativo. Os animais foram posicionados dentro do tronco de contenção, em posição quadrupedal, no centro cirúrgico de grandes animais do CAEP. Logo após, iniciamos a antissepsia com digluconato de clorexidina 2% (solução degermante), retirando-a com solução alcoólica de digluconato de clorexidina a 0,5%, repetindo este processo duas vezes. Uma vez delimitado o campo operatório, posicionamos os campos cirúrgicos, e em seguida efetuamos bloqueio anestésico local com lidocaína 2% sem vasoconstritor nos pontos previamente marcados.

4.2.1 Antibioticoprofilaxia

Como profilaxia, todos os equinos receberam os mesmos antibióticos a base de ceftiofur (5 mg/kg, SID, IV, 7 dias) e gentamicina (6,6 mg/kg, SID, IV, 7 dias). Na antibioticoprofilaxia do animal E4, substituímos a gentamicina por amicacina (15 mg/kg, SID, IV, 10 dias), em decorrência de complicação, que será relatada oportunamente, e estendemos o uso do ceftiofur até o décimo dia de pós-operatório.

4.2.2 Procedimento anestésico e analgesia

Todos os equinos receberam o mesmo protocolo anti-inflamatório e analgésico a base de flunixin meglumine (1,1 mg/kg, SID, IV, 3 dias) e dipirona (25 mg/kg, BID, IV, 3 dias). O protocolo anti-inflamatório e analgésico do E4 se estendeu até o quinto dia pós-operatório.

Os animais foram submetidos à neuroleptoanalgesia com detomidina 1% em bolus de 8 mcg/kg associada a 0,1 mg/kg de morfina. A equipe anestésica manteve infusão contínua com 10 mcg/kg/hora de detomidina 1% e 0,1 mg/kg/hora de morfina. Para os bloqueios locais utilizamos lidocaína 2% sem vasoconstritor, aplicando-se 10 mL em cada portal de acesso à cavidade abdominal.

4.3 MATERIAIS ESPECÍFICOS PARA REALIZAÇÃO DA BIOPSIA

Além do material cirúrgico convencional e de laparoscopia, foi desenhado e confeccionado instrumental e adaptamos outros três para que houvesse viabilidade de execução da técnica proposta neste estudo (figuras 1 e 2).

Foi criada uma agulha de 3 mm x 25 cm utilizada como guia para passagem da pinça de biopsia, denominada de “agulha guia” (AG). Esse material pode ser esterilizado e possui duas porções: a primeira, uma haste de poliuretano, formando a manopla da AG, criada para que o cirurgião apreenda o instrumental com firmeza, tendo mobilidade, precisão e conforto durante o procedimento; a segunda porção é composta por aço cirúrgico e possui duas estruturas: o mandril (interno), com diâmetro de 2,8 mm e a “capa” (externa), com 3,0 mm. O mandril é maciço e tem maior comprimento quando comparado à parte externa, possuindo uma ponta em bixel e perfurante. Na manopla da AG, há um dispositivo de trava, possibilitando que o cirurgião solte e trave o mandril quando se fizerem necessárias essas ações. Já a “capa” tem seu interior vazado, sua extremidade é “romba” e possui menor comprimento, fazendo com que o mandril passe facilmente pelo seu interior e sua ponta perfurante fique exposta.

A pinça de biópsia (PB) foi adaptada do segmento de urologia da medicina. Este item também pode ser esterilizado e possui dimensões de 2,7 mm x 40 cm, composta por uma manopla rígida para encaixe de dois dedos (a mesma das pinças de laparoscopia). Todo seu comprimento é flexível, possuindo um bocal rígido tipo “concha” na extremidade, o que possibilita a coleta de fragmentos de até 2,0 mm.

O cateter laparoscópico (CL) para aplicação de cola cirúrgica foi adaptado da medicina e tem por características as dimensões de 1,67 mm x 30 cm, descartável, com boa mobilidade e precisão para aplicação. Sua base possui entrada específica para que uma seringa de 3 mL seja acoplada com auxílio de um adaptador.

A cola cirúrgica (CC) utilizada tem como princípio ativo o N-Butil-2 Cianoacrilato e Metacrilosisolfolano, com rápida polimerização em baixa temperatura.

Figura1 - Instrumental específico para realização da biópsia intestinal - São Paulo - 2016

Fonte: (CASTRO, L. M., 2016)

Legenda: “Capa” da agulha guia (A); mandril da agulha guia (B); pinça de biópsia flexível (C); ponta em bixel perfurante do mandril da agulha guia (D); bocal tipo “concha” da pinça de biópsia flexível (E).

Figura 2 - Cateter laparoscópico para aplicação da cola cirúrgica - São Paulo - 2016

Fonte: (CASTRO, L. M., 2016)

Legenda: Cateter laparoscópico (A); seringa com adaptador para aplicação da cola cirúrgica (B).

4.4 TÉCNICA DE BIÓPSIA INTESTINAL

O procedimento cirúrgico foi realizado no tronco de contenção da sala de cirurgia de grandes animais do CAEP, com os equinos em posição quadrupedal, com abordagem pelo flanco esquerdo, com quatro portais de acesso à cavidade abdominal. O primeiro portal foi criado para colocação da ótica laparoscópica (P1), outros dois para as pinças de manipulação intestinal (P2 e P3) e o último para entrada da AG, PB e CL (P4) (figura 3). A ótica laparoscópica utilizada foi a de 10 mm x 30 cm, com 0° de angulação, e as pinças tipo *Grasper* para manipulação intestinal.

Figura 3 - Portais criados para acesso à cavidade abdominal - São Paulo - 2016

Fonte: (CASTRO, L. M., 2016)

Legenda: Primeiro portal de acesso (P1); segundo portal de acesso (P2); terceiro portal de acesso (P3); quarto portal de acesso (P4).

Após aplicação de anestesia local como descrito previamente, incisões de pele de 15 mm foram feitas nos pontos previamente determinados. O P1 ficou localizado no 17º espaço intercostal (EIC), 5 cm ventral ao processo transversal vertebral. Neste acesso utilizamos uma cânula modelo Endotip® de 11 mm x 15 cm. Posicionamos o P2 no centro da fossa paralombar esquerda, 5 cm ventral ao processo transversal da vértebra lombar, o P3 10 cm abaixo do P2, e o P4 entre P2 e

P3. Para esses três últimos portais utilizamos cânulas permanentes de 5 mm x 15 cm.

Após posicionamento da cânula em P1, introduziu-se a ótica laparoscópica, para que em ato contínuo, já com visão da cavidade abdominal, se estabelecesse o pneumoperitônio com CO₂, até a pressão de 8 mmHg, permitindo ampla visualização do quadrante dorsocaudal esquerdo do abdômen. Não havendo alterações na inspeção da cavidade abdominal e identificando-se segmentos de jejuno e cólon menor, prosseguiu-se com a colocação assistida dos trocartes em P2 e P3. Um segmento intestinal por vez foi apreendido e conduzido até próximo à parede abdominal com auxílio das pinças de manipulação. Sendo constatado estar bem posicionado e estável entre os instrumentos, colocou-se o trocarte em P4 para introdução da AG. Direcionamos então a agulha para uma única perfuração seromucosa no ângulo de 90°, na borda antimesentérica do segmento intestinal, sendo na região da tênia para o cólon menor, até que o lúmen da alça intestinal fosse alcançado, retirando-se o mandril para introdução da PB (figura 4). Posteriormente, efetuou-se a coleta “às cegas” dos fragmentos, de forma que no momento da apreensão e retirada, a extremidade da alça, oposta à entrada da AG, sofresse deformidade por pressão da pinça (figura 5). Foram coletados dez fragmentos de mucosa de jejuno e dez fragmentos de mucosa de cólon menor de cada equino, sendo que cada fragmento foi coletado em uma angulação diferente, a fim de se evitar a coleta repetida de um mesmo ponto.

Após a biópsia, retiramos a AG e introduzimos o CL para posteriormente aplicarmos 20 mL de gentamicina na região onde se localizava o ponto de perfuração (figura 6), seguido de 0,5 mL de CC no orifício de 3 mm causado pela AG (figura 7 e 8). Após a aplicação, o local foi observado por um minuto e não se constatando alterações, o segmento foi conduzido ao reposicionamento, seguido da retirada dos instrumentais. O pneumoperitônio foi desfeito e os trocartes foram retirados, procedendo-se a partir desse momento com a sutura de pele, no padrão simples interrompido, com fio náilon número zero, nos quatro pontos de acessos criados.

No período pós-operatório o curativo das feridas cirúrgicas foi feito uma vez ao dia, com solução fisiológica 0,9%, mantendo-as recobertas com esparadrapo microporoso. Os curativos foram realizados até o décimo dia, data em que os pontos de pele foram retirados.

Figura 4 - Instrumentais posicionados durante o momento da coleta dos fragmentos de mucosa intestinal - São Paulo - 2016

Fonte: (CASTRO, L. M., 2016)

Legenda: Agulha guia e pinça de biópsia flexível, posicionados no P4 durante o momento de coleta dos fragmentos de jejuno.

Figura 5 - Momento de coleta às cegas dos fragmentos de jejuno - São Paulo - 2016

Fonte: (CASTRO, L. M., 2016)

Legenda: pinça de manipulação dorsal (A); pinça de manipulação ventral (B); ponto de perfuração na borda antimesentérica e acesso ao lúmen intestinal (C); ponto de coleta do fragmento evidenciado pela deformidade causada pela pressão da pinça de biópsia (D).

Figura 6 - Introdução do cateter laparoscópico para aplicação da cola cirúrgica - São Paulo - 2016

Fonte: (CASTRO, L.M., 2016)

Legenda: momento em que o cateter laparoscópico foi introduzido no P4 para aplicação da cola cirúrgica.

Figura 7 - Aplicação da cola cirúrgica no ponto de perfuração da agulha guia em cólon menor - São Paulo - 2016

Fonte: (CASTRO, L. M., 2016)

Legenda: pinça de manipulação intestinal dorsal (A); cateter laparoscópico (B); orifício causado pela agulha guia sendo ocluído com auxílio da cola cirúrgica (C).

Figura 8 - Polimerização da cola cirúrgica no ponto de perfuração da agulha guia em cólon menor - São Paulo - 2016

Fonte: (CASTRO, L. M., 2016)

Legenda: pinça dorsal de manipulação intestinal (A); pinça ventral de manipulação intestinal (B); orifício de entrada da agulha guia coberto pela cola cirúrgica já polimerizada (C).

4.5 TEMPOS CIRÚRGICOS

Três tempos cirúrgicos foram mensurados, sendo o primeiro o tempo total, iniciado no momento da incisão de pele para colocação do trocarte em P1, e finalizado ao final da sutura de pele. O segundo e terceiro, chamados de tempo parcial de jejuno e tempo parcial de cólon menor, se iniciaram quando o segmento intestinal foi apreendido pelas pinças de manipulação e encerrado imediatamente após a constatação da polimerização da CC.

4.6 EXAME FÍSICO

Os parâmetros físicos avaliados foram: comportamento, hidratação, frequências cardíaca e respiratória, temperatura retal, motilidade intestinal, micção e defecação. As avaliações nessa etapa aconteceram desde o período pré-operatório, até o décimo quinto dia após a laparoscopia, duas vezes ao dia (manhã e tarde).

4.7 AVALIAÇÃO ULTRASSONOGRÁFICA ABDOMINAL

A avaliação ultrassonográfica abdominal foi realizada no período pré-operatório e uma vez ao dia, durante quinze dias seguidos. A padronização do exame para este estudo foi adaptada do protocolo "Flash", descrito por Busoni e colaboradores em 2011. Realizamos monitoramento em nove regiões diferentes do abdômen de cada animal, buscando a visualização de estruturas anatômicas pré-determinadas e de possíveis alterações quanto ao aumento da quantidade do líquido peritoneal, presença de fibrina, aderências e/ou alças distendidas. Abaixo está apresentada a sequência adaptada para nosso estudo:

- Flanco Esquerdo
 - 1) 17º EIC e fossa paralombar
 - 2) Porção inferior do flanco
 - 3) Região Inguinal
 - 4) Região ventral do abdômen
 - 5) Região de 14º EIC

- Flanco Direito
 - 1) Fossa paralombar
 - 2) Região de 14º EIC
 - 3) Região inguinal
 - 4) Região ventral do abdômen

Para essa etapa, utilizamos o aparelho de ultrassonografia da marca Esaote, modelo MyLab30VetGold, com probe convexa de frequência de 3,5 a 6,6 MHz. O padrão de regulagem do equipamento foi, frequência de 5,0 MHz, gray map 3, xview C, ganho 79% e distância 15 cm.

4.8 AVALIAÇÃO LABORATORIAL

Para a análise laboratorial, foram realizadas coletas de amostras de sangue para hemograma, análise da concentração de proteína total e provas de funções hepática e renal, bem como amostras de líquido peritoneal (LP), para avaliação física, química, citológica e microbiológica. Todos esses parâmetros foram avaliados 24 horas antes do procedimento cirúrgico e nos momentos subsequentes descritos como D1, D2, D3, D5, D7, D10, D14, D21 e D30.

O hemograma completo e as avaliações física, química e citológica do LP, foram realizadas no Laboratório de Análises Clínicas do CAEP. O exame microbiológico do LP foi encaminhado ao Laboratório de Bacteriologia e Micologia do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal da FMVZ USP no campus de São Paulo. Já as análises bioquímicas foram realizadas no Centro de Pesquisa em Toxicologia Veterinária – CEPTOX, no campus de Pirassununga da FMVZ USP.

4.8.1 Coleta de amostras sanguíneas

As coletas das amostras sanguíneas foram realizadas por punção da veia jugular, com agulha vacutainer 32 x 8 mm, e acondicionadas em tubos secos, para avaliação das funções hepática e renal e em tubos com ácido dietilenodiaminotetracético (EDTA), para realização de hemograma e análise da concentração de proteína total.

4.8.2 Eritrograma

A contagem de hemácias foi determinada manualmente, sendo utilizado como diluidor o líquido de Gower, e em seguida a contagem foi feita por meio de

microscópio no aumento de 400x, com a câmara de Neubauer. O resultado foi multiplicado pelo fator de diluição da pipeta hematimétrica.

Realizamos a dosagem de hemoglobina (Hb) pelo método colorimétrico com líquido de Drabkin como diluidor. A concentração de Hb foi calculada após a leitura com espectrofotômetro em 540 mn de comprimento de onda, utilizando padrão determinado.

Para determinação do hematócrito, colocamos o sangue em capilar para microhematócrito, vedado em bico de Bunsen, centrifugando-o por cinco minutos em centrífuga própria. O resultado foi obtido com a tabela para leitura de microhematócrito.

4.8.3 Leucograma

Para contagem total de leucócitos, realizou-se o método manual, utilizando pipeta hematimétrica e líquido de Thomas como diluidor. As alíquotas foram agitadas e colocadas na câmara de Neubauer. Por sua vez, fizemos a contagem em microscópio com aumento de 100x, e o resultado foi multiplicado pelo fator de diluição.

O diferencial de leucócitos foi feito em lâmina de vidro, após esfregaço sanguíneo, sendo corado posteriormente com corante de Rosenfeld. Após essa etapa, com o auxílio de um microscópio, no aumento de 1000x sob imersão, a amostra foi analisada.

4.8.4 Proteína total

Os valores de proteína total foram obtidos com o plasma do microhematócrito, lido em refratômetro.

4.8.5 Perfil hepático e renal

Para determinação dos resultados das provas de funções hepáticas (AST e GGT), e renais (uréia e creatinina), utilizamos o analisador automático de bioquímica SBA-200 Celm, com kits comerciais específicos, da marca Bioclin[®], seguindo as recomendações indicadas pelo fabricante.

4.8.6 Coleta do líquido peritoneal

Para a obtenção do LP, foi realizada tricotomia e antissepsia com digluconato de clorexidine solução degermante 2% e solução alcoólica 0,5%, 10 cm caudal ao apêndice xifoide na região da linha média ventral, no ponto mais baixo do abdômen. Nesse mesmo local, utilizando uma agulha hipodérmica 40 x 12 mm, realizamos a paracentese, acondicionando o líquido obtido em dois tubos secos para análise físico-química e microbiológica, e em dois tubos com EDTA para contagem total de células nucleadas e diferencial de leucócitos.

4.8.7 Análise do líquido peritoneal

A análise física, química e citológica do LP ocorreu imediatamente após a coleta, e o material destinado ao exame microbiológico, acondicionado em temperatura de -34 graus, por no máximo 24 horas, para posteriormente ser enviado ao laboratório.

O exame físico do LP foi baseado na coloração, aspecto, densidade (refratometria) e odor. Para a avaliação química, utilizamos tiras reagentes comerciais COMBUR TEST-10[®].

O método de contagem total das células nucleadas foi o mesmo utilizado para os leucócitos sanguíneos. Entretanto, para as amostras que apresentaram alta celularidade, empregou-se diluições 1:10 com solução fisiológica, multiplicando os

resultados pelo fator de diluição. Para a diferenciação dos leucócitos, centrifugamos as alíquotas por cinco minutos a 1000 rpm, desprezando posteriormente o sobrenadante, confeccionando o esfregaço. Em seguida, após a secagem, a amostra foi corada com corante de Rosenfeld e analisada em microscópio com aumento de 1000x (imersão).

As amostras do LP foram divididas em duas alíquotas, sendo uma inoculada em caldo B.H.I (*Brain and heart infusion broth*), e incubada a 37°C por 24 horas, e a outra semeada em ágar sangue de carneiro (5%), com incubação em aerobiose a 37°C, realizando-se a leitura com 24 e 96 horas. Posteriormente, as cultivadas em caldo B.H.I, foram semeadas em ágar sangue de carneiro seguindo a mesma metodologia descrita anteriormente.

4.9 PROCESSAMENTO HISTOLÓGICO

Os fragmentos de jejuno e cólon menor de cada animal foram acondicionados em dois coletores universais, com a identificação numérica do equino e do segmento coletado, sendo encaminhados ao Laboratório de Histologia do Departamento de Patologia da FMVZ/USP, no campus de São Paulo. Para sua conservação, os materiais foram colocados com auxílio de uma agulha 25 x 7 mm, cuidadosamente sob papel filtro e submersos em formol 10%, na proporção 1:10. Após um período mínimo de vinte e quatro horas, para que de forma efetiva ocorresse à fixação, os fragmentos foram retirados do pote coletor e incluídos em parafina. Posteriormente, houve secção em cortes de 5 µm de espessura para que as lâminas fossem confeccionadas, e em seguida coradas por hematoxilina-eosina (HE). Ao final do processamento histológico, para cada equino o material foi distribuído em duas lâminas, contendo em cada uma delas, os fragmentos de jejuno e de cólon menor.

4.10 AVALIAÇÃO HISTOLÓGICA

As avaliações histopatológicas foram feitas por três avaliadores com experiências distintas na área. As análises ocorreram isoladamente e, posteriormente, os resultados foram confrontados para que fosse estabelecido um consenso final quanto à qualidade das amostras dos diferentes segmentos de cada animal.

A análise microscópica foi conduzida por meio de um microscópio Zeiss, modelo Primo Star acoplado a câmera digital PowerShot G10, da marca Canon e *software* zoomBrowser EX 6.2 para captura de imagens nos aumentos de 40, 100 e 400x.

As lâminas de cada equino foram analisadas inicialmente com a contagem da quantidade de fragmentos, e a observação se havia ou não autólise desse material. Em seguida, foi avaliada a viabilidade de cada fragmento, sendo que, no mínimo 50% dos presentes na lâmina deveriam ser considerados viáveis, para que a amostra fosse classificada como adequada para análise histológica.

Os critérios para determinação de viabilidade ou não dos fragmentos, tanto para jejuno quanto cólon menor, foram adaptados de Willard et al., 2001 e Araújo, 2014, sendo atribuídos escores de 0 a 2:

- **Escore 0 – Qualidade Ruim:** fragmentos de jejuno com menos de três vilosidades e que apresentem apenas cortes tangenciais ou transversais das vilosidades, sem visualização longitudinal dessas estruturas, não possibilitando avaliação da relação vilo-crípta. Fragmentos de cólon menor que apresentem na mucosa apenas cortes tangenciais ou transversais, sem visualização longitudinal dessa camada, ou que apresentem apenas presença de muco ou tecido adiposo.
- **Escore 1 – Qualidade Boa:** fragmentos de jejuno com três ou mais vilosidades, apresentando tanto cortes tangenciais ou transversais das vilosidades, assim como visualização longitudinal dessas estruturas, possibilitando avaliação da relação vilo-crípta. Fragmentos de cólon menor que apresentem na mucosa, tanto cortes tangenciais ou

transversais, assim como cortes longitudinais, possibilitando a avaliação longitudinal dessa camada, sem presença de muco ou tecido adiposo.

- **Escore 2 – Qualidade Ótima:** fragmentos de jejuno com três ou mais vilosidades, com visualização longitudinal de todas as vilosidades, permitindo avaliação da relação vilo-crípta dessas estruturas. Fragmentos de cólon menor que apresentem cortes longitudinais na mucosa, permitindo a avaliação longitudinal dessa camada, sem cortes tangenciais ou transversais, sem presença de muco ou tecido adiposo.

4.11 INSPEÇÃO LAPAROSCÓPICA NO D30

Realizamos uma nova laparoscopia, trinta dias após a biopsia, pelo flanco esquerdo, a fim de se inspecionar a cavidade abdominal (CA), visando à identificação de possíveis alterações em decorrência da técnica realizada anteriormente. Para essa etapa, utilizamos o mesmo protocolo anestésico empregado anteriormente, assim como a cânula modelo Endotip® (11 mm x 15 cm), a ótica laparoscópica (10 mm x 30 cm) com angulação de 0° e o CO₂ com uma pressão de 8 mmHg para distensão da CA. Previamente à antissepsia, para uma visualização ampla das estruturas abdominais, realizamos o esvaziamento do reto, via palpação transretal. Em seguida, foi realizada a antissepsia, montagem do campo operatório, bloqueio anestésico local, posicionamento da ótica em P1, e o pneumoperitônio foi criado.

A inspeção foi realizada de forma dinâmica por três regiões da CA, sendo a primeira a ser examinada a região dorso-cranial, seguida da região central do abdômen, sendo finalizada na porção dorso-caudal.

Após a documentação das condições da CA, os instrumentais foram retirados, e foi realizada sutura de pele, padrão simples interrompido, com fio náilon número zero na região de P2. Todos os animais foram medicados com flunixin meglumine (1,1 mg/kg, IV, SID, por dois dias) e Penicilina Benzatina (40.000 UI, IM, SID, três aplicações a cada 48 horas).

4.12 ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS RESULTADOS

Foram digitados os dados no programa Excel e posteriormente exportados para o programa SPSS v. 18.0 para análise estatística. As variáveis categóricas foram descritas por frequências e percentuais. Foram descritas as variáveis quantitativas pela média, mediana, desvio padrão, mínimo e máximo. Para comparar a mudança ao longo do tempo foi utilizado o teste de Friedman. Testes de comparações múltiplas foram utilizados para localizar as diferenças. Para comparar os dados em relação ao dia 0 foi utilizado o teste de Wilcoxon. Foi considerado um nível de significância de 5%.

5 RESULTADOS

Neste capítulo apresentamos os resultados obtidos por meio dos métodos de avaliação que foram estabelecidos por este estudo, sendo descritos e ilustrados em forma de tabelas e figuras.

5.1 PROCEDIMENTOS CIRÚRGICOS

O jejum alimentar de oito horas foi considerado apropriado para a técnica, uma vez que não foram identificadas intercorrências digestórias relacionadas ao procedimento anestésico, e os segmentos de jejuno e cólon menor foram identificados em todos os equinos sem qualquer dificuldade.

O protocolo anestésico utilizado mostrou-se efetivo, proporcionando boa sedação e analgesia, com mínima ataxia, conferindo a segurança necessária para realização do procedimento, para a equipe cirúrgica e para os animais. Os bloqueios anestésicos locais foram eficientes, já que não houve dor durante as incisões de pele e na inserção dos trocartes.

Os instrumentais e equipamentos utilizados para execução da técnica proposta foram adequados, permitindo que os procedimentos transcorressem sem intercorrências que demandassem interrupções ou extenso prolongamento no tempo cirúrgico.

A posição dos portais foi considerada adequada em todos os equinos, uma vez que permitiu ampla visualização do quadrante esquerdo da CA, com fácil identificação e manipulação de jejuno e cólon menor. A abordagem de ambos os segmentos ocorreu de forma satisfatória durante todas as etapas, com boa mobilidade e sem restrições aos movimentos que se fizeram necessários. Entretanto, durante a manipulação de cólon menor no E6, houve dificuldade no posicionamento para perfuração seromucosa na região da tênia, ocorrendo uma perfuração superficial fora desse local.

Previamente à realização das biopsias, não identificamos alterações na cavidade abdominal. Em nenhum dos animais houve extravasamento de conteúdo

intraluminal, tanto de intestino delgado quanto de cólon menor, tanto no momento da perfuração seromucosa, durante o processo de coleta, quanto após a retirada da AG ou no fechamento do orifício com a cola. Os animais que apresentaram intercorrências durante o procedimento cirúrgico foram: E2, E3, E4 e E6.

- E2: No momento da perfuração seromucosa de jejuno, houve transfixação da agulha pela alça intestinal. Entretanto, foi possível a identificação do orifício de saída, sendo fechado com a cola cirúrgica. Durante procedimento no cólon menor, no momento de retirada da AG para o fechamento do orifício, identificou-se pequena quantidade de fibra fecal na ponta do instrumental. Cuidadosamente a AG foi retirada através do trocarte, evitando-se o contato da ponta contaminada com outras estruturas.
- E3: No momento da perfuração seromucosa de jejuno e cólon menor houve transfixação da agulha pela alça intestinal, entretanto os orifícios de saída foram identificados e ocluídos com cola cirúrgica.
- E4: Em P1, devido ao mau posicionamento do trocarte, que ficou entre a musculatura e o peritônio parietal, no momento da infusão de CO₂, houve descolamento peritoneal, dificultando o acesso à CA. Todavia, após algumas tentativas, obtivemos êxito em acessar o abdômen.
- E6: Na perfuração seromucosa do cólon menor, inicialmente houve dificuldade no posicionamento do segmento, devido à ataxia momentânea manifestada pelo animal, ocorrendo acidentalmente punção fora da tênia antimesentérica. Porém, a perfuração aparentou ser superficial, não atingindo o lúmen intestinal. Mesmo assim foi aplicada cola cirúrgica sobre o local. Posteriormente, realizou-se perfuração na região da tênia, entretanto ocorreu transfixação da alça. Localizou-se o orifício de saída, procedendo-se com o fechamento com a cola cirúrgica. Este animal foi o único que apresentou maior sangramento pelo orifício criado para coleta das amostras.

Após os procedimentos cirúrgicos, todos os animais apresentaram enfisema subcutâneo (ESC) na região de criação dos portais. Os animais E1, E3, E5 e E6 tiveram resolução no 9º dia PO. O animal E2 apresentou ESC da região de fossa paralombar esquerda, até o gradil costal, persistindo este quadro até o 11º dia PO. O E4 desenvolveu ESC nas regiões de fossa paralombar esquerda, porção ventral do

abdômen, gradil costal esquerdo, toda porção cervical esquerda, até atingir a nuca. Sua resolução só foi obtida no 19º dia PO. No entanto, não houve desconforto ou quaisquer outras alterações relacionadas ao enfisema.

5.1.1 Tempos cirúrgicos

As biopsias laparoscópicas ocorreram em tempos variados, expressados abaixo na tabela 1. O tempo médio total foi de 66,50 minutos ($\pm 7,87$). Já o tempo parcial de jejuno, apresentou média de 14,2 minutos ($\pm 4,3$), e de cólon menor 12,7 minutos ($\pm 5,0$).

Tabela 1 - Tabela dos tempos cirúrgicos, total e parciais de jejuno e cólon menor, em minutos, mensurados durante a realização das biopsias intestinais - São Paulo - 2016

Animal	Tempo Total	Tempo Parcial (Jejuno)	Tempo Parcial (Cólon menor)
E1	80	22	12
E2	57	13	9
E3	70	14	22
E4	63	14	8
E5	63	9	11
E6	66	13	14
Média	66,50	14,2	12,7
Desvio Padrão	7,87	4,3	5

Fonte: (CASTRO, L. M., 2016)

5.2 EXAME FÍSICO

Nas primeiras 48 horas do período pós-operatório (PO), todos os equinos apresentaram comportamento apático, diminuição de apetite e de motilidade intestinal. Os animais E1, E2 e E3 tiveram seus valores de frequência cardíaca (FC) normalizados a partir do D4 e os animais E5 e E6 a partir do D5. O animal E4 apresentou normalidade no parâmetro de FC a partir do D7. A frequência respiratória (FR) dos animais E1, E3, E5 e E6 teve normalização a partir do D2, e dos animais E2 e E4 a partir do D3. O animal E2 apresentou temperatura acima dos

valores normais de referência no D1 e D2 e o animal E4 nos D1, D2 e D3. A tabela com a descrição completa dos parâmetros de exame físico, obtidos durante todo o estudo encontra-se no item “apêndice a” da dissertação.

5.3 EXAME ULTRASSONOGRÁFICO ABDOMINAL

Em todos os equinos, não foi possível identificar de forma fidedigna gás livre na cavidade abdominal devido a todos apresentaram ESC na região de criação dos portais, dificultando em alguns momentos a realização de imagens de qualidade nas regiões comprometidas, inviabilizando a identificação precisa de determinadas estruturas anatômicas. O mesmo padrão de exame obtido no D0, só pode ser alcançado novamente após a resolução do ESC. Ao longo dos 15 dias de exame ultrassonográfico não foram observadas imagens sugestivas de peritonite (fibrinas, aumento da quantidade de LP), assim como aderências, irregularidades e espessamento de segmentos intestinais.

5.4 EXAMES LABORATORIAIS

Para as avaliações laboratoriais excluímos o *outlier* E4, por ter apresentado dados laboratoriais inconsistentes, devido ao destacamento do peritônio. As tabelas com a descrição completa dos dados laboratoriais obtidos durante todo o estudo encontram-se nos itens “apêndice b, c” da dissertação.

5.4.1 Eritrograma

Para avaliação desta etapa, foi realizada a contagem total de hemácias, determinação do hematócrito e dosagem de hemoglobina. Nos exames citados acima, os animais não apresentaram valores fora da normalidade.

5.4.2 Leucograma

Na avaliação dos leucócitos totais, quando comparamos os diferentes momentos com o D0 observamos diferenças significativas entre D0 e D10 e entre D0 e D14 (Tabela 2). Todavia, a leucocitose observada não correspondeu a relevância clínica para os animais.

Tabela 2 - Tabela comparativa dos leucócitos totais (mm³) no período pré-operatório e ao longo dos dias acompanhados no pós-operatório - São Paulo – 2016

	Média	Mediana	Desvio padrão	Mínimo	Máximo	P**
D0	8800,00	8400,00	1604,68	7100,00	11200,00	-
D1	9620,00	9300,00	2639,51	6000,00	12700,00	0,345
D2	8580,00	8400,00	2621,45	4600,00	11100,00	0,892
D3	8020,00	8400,00	1442,91	6000,00	9700,00	0,345
D5	7140,00	6400,00	2008,23	5800,00	10700,00	0,225
D7	11100,00	11800,00	1298,08	9200,00	12100,00	0,080
D10	12580,00	12300,00	2625,26	9300,00	16300,00	0,043
D14	11780,00	11600,00	2902,07	9400,00	16600,00	0,043
D21	12200,00	12400,00	3205,46	8800,00	15500,00	0,104
D30	11100,00	10700,00	2620,11	8200,00	14400,00	0,138
P*	0,001					

Fonte: (CASTRO, L. M., 2016)

*Dados comparados pelo teste de Friedman **valor P da comparação com D0 pelo teste de Wilcoxon

Quatro animais apresentaram discreta leucopenia nos cinco primeiros dias, sendo que E2 manifestou tal alteração em D1 e D5, E3 e E5 apenas no D5, e E6 demonstrou tais resultados de D2 a D5. Apenas dois equinos manifestaram leucocitose com neutrofilia, E5 do D10 ao D30, e E1 somente no D21. Em nenhum dos leucogramas realizados ao longo do estudo notou-se presença de desvio à esquerda. Todos os animais tiveram os valores de leucócitos totais normalizados no D30, exceto E5 que persistiu com discreta leucocitose com neutrofilia até esse período (Gráfico 1).

Gráfico 1 - Valores individuais e mediana dos leucócitos totais (mm^3) no período pré-operatório e nos dias acompanhados no pós-operatório - São Paulo - 2016

Fonte: (CASTRO, L. M., 2016)

5.4.3 Proteína total

Os valores de proteína total mantiveram-se dentro dos valores de normalidade esperados para espécie durante todo o experimento.

5.4.4 Perfil hepático e renal

Os valores obtidos nas provas de funções hepáticas e renais, não se apresentaram fora dos padrões de normalidade exigidos para a espécie.

5.4.5 Líquido peritoneal

As alterações encontradas no líquido peritoneal persistiram até o D21, normalizando seus valores no D30. O líquido peritoneal se apresentou alterado principalmente nos três primeiros dias, porém com pico no D2.

A coloração em todos os animais permaneceu alterada até D2, sendo que E1, E2 e E5 apresentaram coloração alaranjada, E3 e E6 coloração avermelhada, e E4 coloração acastanhada (figura 7). Em D3, os animais E1, E3 e E5 já possuíam o líquido peritoneal na coloração amarela (figura 8), ao passo que E2 apresentou essa coloração em D5, e os animais E4 e E6 em D7. A partir de então, todos permaneceram com a coloração do líquido peritoneal amarela até D30.

Figura 9 - Amostras do líquido peritoneal dos 6 equinos no D1 - São Paulo - 2016

Fonte: (CASTRO, L. M., 2016)

Figura 10 - Amostras do líquido peritoneal de 3 equinos no D3 - São Paulo - 2016

Fonte: (CASTRO, L. M., 2016)

A turbidez permaneceu alta (+++) em todos os equinos até D7. No D10, apenas E5 apresentou diminuição na turbidez (++). Em D14, todos possuíam o mesmo padrão de baixa turbidez (+). Os animais E1 e E5, no D21, tiveram caracterizado o líquido peritoneal como límpido, ao passo que os demais, também apresentaram essa característica no D30.

Ao longo de todo o experimento, o líquido peritoneal de todos os equinos foi classificado como inodoro.

Os valores de proteína total no líquido peritoneal permaneceram alterados de D1 até D14, havendo normalização nos valores somente a partir do D21 e permanecendo dessa maneira até D30 (Tabela 3; Gráfico 2).

Tabela 3 - Comparação das proteínas totais do líquido peritoneal dos equinos submetidos à biópsia intestinal, no período pré-operatório e nos dias acompanhados no pós-operatório - São Paulo – 2016

	Média	Mediana	Desvio padrão	Mínimo	Máximo	P
D0	0,52	0,60	0,23	0,20	0,80	-
D1	4,28	4,40	0,44	3,60	4,80	0,039
D2	4,54	4,50	0,30	4,20	5,00	0,043
D3	3,96	4,00	0,30	3,60	4,40	0,043
D5	3,32	3,20	0,27	3,00	3,60	0,039
D7	2,96	3,00	0,22	2,60	3,20	0,039
D10	2,56	2,60	0,33	2,00	2,80	0,042
D14	2,12	2,00	0,52	1,40	2,80	0,042
D21	1,32	1,20	0,41	1,00	2,00	0,041
D30	0,76	0,60	0,43	0,40	1,40	0,141
P			<0,001			

Fonte: (CASTRO, L. M., 2016)

*Dados comparados pelo teste de Friedman**valor P da comparação com D0 pelo teste de Wilcoxon

Gráfico 2 - Valores das proteínas totais do líquido peritoneal dos equinos submetidos à biopsia intestinal, do período pré-operatório e ao longo dos demais dias após a realização do procedimento - São Paulo - 2016

Fonte: (CASTRO, L. M., 2016)

Na contagem total de células nucleadas houve diferença estatística entre o D0 e o restante dos dias, exceto D30 (Tabela 4). Os leucócitos apresentaram-se acima dos valores de referência até D21, normalizando-se no D30. O momento de maior elevação destas células foi no D2, sendo que E3 e E5 apresentaram o maior aumento entre todos os equinos. Entretanto, após esse momento, notamos decréscimo dos valores até o 30º dia de pós-operatório (Gráfico 3).

A avaliação citológica dessas amostras revelou predomínio de neutrófilos, com presença moderada de macrófagos e raros linfócitos e eosinófilos, assim como não foram identificadas quantidades significativas de neutrófilos tóxicos e/ou bactérias.

Todos os animais apresentaram cultura negativa para micro-organismos no líquido peritoneal ao longo do D1, D2 e D3.

Em dois momentos distintos do experimento, dois equinos sofreram enterocentese no momento da coleta do líquido peritoneal. No E1, a intercorrência ocorreu em D5, e no E2 ocorreu no D7. A coleta do E4 no D14 foi improdutiva, mesmo após algumas tentativas, sendo realizada tentativa também no D15, porém sem sucesso, obtendo-se êxito somente no D16, dois dias após o estabelecido.

Tabela 4 - Comparação entre as células nucleadas totais (mm³) do líquido peritoneal dos equinos submetidos à biopsia intestinal, no período pré-operatório e acompanhamento nos dias subsequentes ao procedimento - São Paulo - 2016

	Média	Mediana	Desvio padrão	Mínimo	Máximo	P
D0	660,00	650,00	277,04	300,00	1000,00	-
D1	155800,00	171600,00	88749,31	18000,00	255600,00	0,043
D2	178800,00	141000,00	81380,71	103200,00	300000,00	0,043
D3	104060,00	102000,00	34653,11	55000,00	145900,00	0,043
D5	47340,00	39200,00	21086,20	25000,00	79000,00	0,043
D7	29800,00	28000,00	7259,48	21000,00	41000,00	0,043
D10	25300,00	29000,00	12159,15	12300,00	38500,00	0,043
D14	11980,00	8700,00	8296,81	3600,00	21000,00	0,043
D21	4170,00	1600,00	4068,72	1200,00	10200,00	0,043
D30	870,00	750,00	606,84	350,00	1800,00	0,343
P			<0,001			

Fonte: (CASTRO, L. M., 2016)

*Dados comparados pelo teste de Friedman**valor P da comparação com D0 pelo teste de Wilcoxon

Gráfico 3 - Valores de células nucleadas totais presentes no líquido peritoneal de cada equino desde o período pré-operatório e após a realização do procedimento, ao longo dos dias - São Paulo - 2016

Fonte: (CASTRO, L. M., 2016)

5.6 EXAME HISTOLÓGICO

Na média dos avaliadores para biopsia de jejuno, E5 foi o único equino a apresentar menos da metade (5/12) dos fragmentos viáveis, sendo considerada amostra inadequada para análise histológica. Já em cólon menor, E1 e E2 tiveram menos da metade viáveis (4,33/9 e 5/10,33 respectivamente), não sendo consideradas adequadas as amostras coletadas. Para os demais segmentos e animais as amostras estavam acima de 50% de fragmentos viáveis, sendo consideradas adequadas para análise histológica. As médias entre os avaliadores, referente ao número de fragmentos, grau de autólise, escores, viabilidade dos

fragmentos e adequação da amostra, de jejuno e cólon menor, encontram-se demonstrados nas tabelas abaixo. As tabelas com a descrição do exame histológico de ambos os segmentos, de cada avaliador encontram-se nos itens “apêndice d, e” da dissertação.

Tabela 5 - Média entre os avaliadores na atribuição de escores para classificação dos fragmentos de jejuno obtidos da biopsia intestinal - São Paulo - 2016

Animal	Nº Fr.	Autólise	Escore 0	Escore 1	Escore 2	Viáveis	Inviáveis	0 = Inadequada 1 = Adequada
E1	10	0	3,33	3,67	3	6,67	3,33	1
E2	10	0	3	4	3	7	3	1
E3	10	0	4,33	4	1,67	5,67	4,33	1
E4	12	0	4,33	6,33	1,33	7,67	4,33	1
E5	12	0	7	4,33	0,67	5	7	0
E6	11,67	0	4	6	1,67	7,67	4	1

Fonte: (CASTRO, L. M., 2016)

Tabela 6 - Média entre os avaliadores na atribuição de escores para classificação dos fragmentos de cólon menor obtidos da biopsia intestinal - São Paulo - 2016

Animal	Nº Fr.	Autólise	Escore 0	Escore 1	Escore 2	Viáveis	Inviáveis	0 = Inadequada 1 = Adequada
E1	9	0	4,67	4,33	0	4,33	4,67	0
E2	10,33	0	5,33	5	0	5	5,33	0
E3	11,33	0	3,67	5	2,67	7,67	3,67	1
E4	11	0	3	5,67	2,33	8	3	1
E5	11	0	2,67	4	4,33	8,33	2,67	1
E6	11,33	0	3	6	2,33	8,33	3	1

Fonte: (CASTRO, L. M., 2016)

As análises individuais de cada avaliador encontram-se descritas nas tabelas no item “apêndice” da dissertação. O avaliador 1 considerou que todas as amostras de jejuno e cólon menor coletadas dos seis animais, apresentaram mais que 50% de fragmentos viáveis para avaliação histológica. Na análise do avaliador 2, apenas um animal (E5), em jejuno, não apresentou mais que 50% de fragmentos viáveis, sendo o restante das amostras dos dois segmentos consideradas adequadas. Para o avaliador 3, tanto para jejuno, quanto para cólon menor, houve metade de aproveitamento, sendo que em jejuno, E3, E4 e E5 apresentaram amostras

inadequadas, e em cólon menor, E1, E2 e E4 demonstraram o mesmo resultado. Abaixo as figuras 11 e 12 mostram fragmentos viáveis e inviáveis de jejuno e cólon menor que foram visualizados ao longo das análises histológicas pelos avaliadores:

Figura 11 - Fragmentos intestinais de jejuno - São Paulo - 2016

Fonte: (CASTRO, L. M., 2016)

Legenda: aumento de 4x de fragmento classificado com escore 2, com visualização longitudinal das vilosidades e da lâmina própria, com visualização parcial de submucosa (A); aumento de 10x de fragmento classificado com escore 2, com visualização da relação vilo-cripta, lâmina própria (B); aumento de 4x de fragmento classificado com escore 1, com visualização mesclada entre vilosidades longitudinais e parcialmente longitudinais, assim como vilosidades com cortes transversais (C); aumento de 4x de fragmento classificado com escore 0, apenas com visualização do ápice das vilosidades, devido a corte transversal dessas estruturas (D); aumento de 20x com detalhe de linfócitos intraepiteliais (E); aumento de 40x com visualização da lâmina própria entre as criptas com infiltrado de linfócitos e eosinófilos (F).

Figura 12 - Fragmentos intestinais de cólon menor - São Paulo - 2016

Fonte: (CASTRO, L. M., 2016)

Legenda: aumento de 4x de fragmento classificado com escore 2, com visualização longitudinal da mucosa e das regiões inter-criptais, assim como visualização da camada submucosa (A); aumento de 10x de fragmento classificado com escore 2, com visualização longitudinal das regiões inter-criptais e da submucosa (B); aumento de 4x de fragmento classificado com escore 0, com visualização de cortes tangenciais e de tecido adiposo, não permitindo a visualização clara das regiões inter-criptais (C); aumento de 4x de fragmento classificado com escore 0, com visualização apenas de cortes tangenciais da mucosa (D); aumento de 40x com detalhe da lâmina própria entre criptas com presença de eosinófilos e linfócitos (E); aumento de 40x com detalhe de eosinófilos presentes na submucosa (F).

5.6 INSPEÇÃO LAPAROSCÓPICA NO D30

Apenas dois animais apresentaram alterações na inspeção laparoscópica realizada trinta dias após (D30). No E2 identificamos uma porção de omento aderida ao diafragma do lado esquerdo. O E4 apresentou pouca quantidade de fibrina, parcialmente aderida na parede abdominal, logo abaixo ao P3. A face lateral do baço estava irregular, com presença de um filete de fibrina, e pequenos pontos difusos ao longo de todo órgão. Observamos uma aderência em formato redondo, no local de P1, entre a parede abdominal e o baço, e uma porção de omento aderido na região esquerda do diafragma.

6 DISCUSSÃO

Na medicina, a biopsia intestinal é amplamente utilizada para fins diagnósticos e terapêuticos, sendo realizada rotineiramente por meio de endoscopia e colonoscopia para o diagnóstico da doença inflamatória intestinal (NAHAS et al., 2005). Em contrapartida, na medicina de equinos o cenário difere, sendo que o acesso a determinados segmentos, com a utilização do endoscópio flexível, é restrito, limitando-se apenas à porção inicial de duodeno e à porção anterior do reto (MURRAY, 2002; BAIN et al., 2004).

Em virtude das limitações encontradas na endoscopia digestiva de equinos, e das complicações atribuídas às técnicas convencionais para realização da biopsia intestinal, Schambourg et al. (2006) e Bracamonte et al. (2008), realizaram estudos baseados em métodos minimamente invasivos, a fim de propor a coleta intracorpórea de fragmentos intestinais, por meio de laparoscopia. No entanto, apesar dos estudos apresentarem bons resultados, as dificuldades encontradas na realização da sutura manual intracorpórea e a baixa resistência dos segmentos biopsiados com endogrampeadores frente às pressões intraluminais, justificaram o desenvolvimento e delineamento de nosso estudo experimental, para que pudéssemos aprimorar e tornar mais acessível este tipo de exame na rotina clínica de equinos.

6.1 AVALIAÇÃO DOS PROCEDIMENTOS CIRÚRGICOS

Para execução da técnica proposta neste estudo, realizamos somente jejum alimentar, oito horas antes dos procedimentos cirúrgicos. Esse tempo mostrou-se suficiente tanto para identificação dos segmentos de jejuno e cólon menor, quanto para a introdução dos trocartes, sem que ocorressem danos aos órgãos da cavidade abdominal. Nossa escolha, referente ao tempo de jejum alimentar e hídrico a ser empregado antes da realização de procedimentos laparoscópicos em estação, diferem dos recomendados pela literatura, que variam entre 12 a 18 horas para hídrico, e de 24 a 48 horas para restrição alimentar (WILSON, 1983; FISCHER et al.,

1986; GALUPPO et al., 1995; SILVA et al., 2002; TABET, 2003; SCHAMBOURG et al., 2006). Entretanto, deve-se levar em consideração que o tempo de jejum a ser instituído para as cirurgias laparoscópicas varia de acordo com o tipo de intervenção que será realizada. A metodologia referente ao jejum alimentar e hídrico utilizado em nosso trabalho, ocorreu da forma como foi descrita anteriormente, para que não houvesse grande esvaziamento do jejuno, podendo ser identificado facilmente no momento da inspeção da cavidade abdominal. Esse delineamento não foi descrito em nenhum outro estudo da área. A realização do esvaziamento da ampola retal antecedendo o início das cirurgias mostrou-se indispensável para verificação da ausência de segmentos distendidos ou presença de aderências na região, conferindo maior segurança para o momento de colocação dos trocartes, além de permitir ampla inspeção e apreensão dos segmentos intestinais (SILVA et al., 2002; NÓBREGA et al., 2011).

Assim como os resultados descritos por Silva et al. (2000); Tabet et al. (2005) e Hendrickson (2012^a), o comportamento dócil dos animais, a contenção em tronco específico para equinos, a sedação, analgesia e o bloqueio anestésico local para criação dos portais, proporcionaram precisão para realização da técnica proposta, conferindo segurança à equipe e aos animais. Os equinos apresentaram discreta ataxia, corroborando com as informações obtidas por Clark e Paton (1988) e Corletto et al. (2005), que atribuíram maior grau de ataxia quando a detomidina é associada ao butorfanol e não à morfina. Entretanto, o E6, em um momento ao longo de todo procedimento cirúrgico, manifestou maior grau de ataxia, porém, logo retornou ao apoio estável. Guedes et al. (2002) descreveram que associação de α -2 agonista e opióide reduz a motilidade intestinal de equinos. Corroborando com essas informações, por meio da auscultação abdominal, detectou-se diminuição de motilidade logo após a cirurgia, todavia não houve manifestação de desconforto abdominal em decorrência do procedimento anestésico. Situação contrária foi descrita por Boscan et al. (2006), onde o autor determina que a morfina pode ser fator de risco para ocorrência de distensão intestinal por gás e íleo adinâmico. Em nosso estudo, para a realização de pneumoperitônio e manipulação de alças intestinais por aproximadamente 1 hora, não houve necessidade de ser realizada anestesia epidural, como descrevem Tabet et al. (2005) e Hendrickson (2012).

O acesso à cavidade abdominal e a criação do pneumoperitônio, foram realizados de forma vídeoassistida, como descrito no estudo realizado por Nóbrega

et al. (2011), utilizando a ótica no interior de uma cânula Endotip[®], a fim de se reduzir os riscos de punções acidentais a órgãos próximos ao ponto de entrada. Técnica diferente descrita por Silva et al., em 2000 e 2002, onde a agulha de Veress foi utilizada para que o pneumoperitônio fosse estabelecido, sendo que os autores alertam para possíveis lacerações que podem ocorrer no intestino ou no baço no momento de introdução deste instrumental. Easley et al. (2014), recomendam a utilização da cânula Endotip[®], pois não possui obturador, sendo munida apenas de um sistema em espiral externo para introdução por rotação em sentido horário, conferindo maior praticidade e segurança no acesso ao abdômen. Não optamos pela agulha de Veress, pois a introdução e o pneumoperitônio são realizados sem a visualização da cavidade abdominal e de suas estruturas, o que implica em maior risco de punção de órgãos e falhas no acesso à cavidade. Consideramos que a utilização da cânula Endotip[®], nos proporcionou maior segurança para acessar a cavidade abdominal e imediatamente inspecioná-la, podendo identificar possíveis intercorrências. Mesmo com a utilização dessa cânula, em um dos animais ocorreu o destacamento do peritônio no momento de infusão do CO₂, no entanto, esse incidente só pôde ser confirmado precocemente, devido à técnica de acesso vídeoassistida que utilizamos. A ótica foi colocada através da cânula no 17º espaço intercostal, assim como descrito por Silva et al. (2002). Observamos que esse posicionamento permitiu que externamente a ótica fosse manipulada em diversas direções, sem que houvesse limitações, permitindo boa mobilidade e consequentemente ampla visualização das porções cranial, média e caudal da cavidade abdominal, sendo possível identificar e manipular os segmentos de jejuno e cólon menor durante todas as etapas do procedimento.

O pneumoperitônio foi estabelecido com CO₂, na pressão de 8 mmHg, sendo mantido constantemente por um insuflador automático, da mesma forma que fizeram Tabet et al. (2005) e Spagnolo (2010). Essa mesma pressão foi utilizada tanto para execução da técnica de biopsia intestinal, quanto para inspeção da cavidade no D30. Outros autores descrevem a manutenção da pressão com 15 mmHg para que ocorra suficiente distensão da cavidade abdominal, proporcionando ampla visualização de suas estruturas Silva et al. (1997) Hendrickson (2006) Nóbrega et al. (2011). Entretanto, para nosso estudo, a pressão de 8 mmHg foi suficiente tanto para realização da técnica, quanto para inspeção da cavidade, resultando em menos desconforto abdominal em decorrência da distensão causada pelo pneumoperitônio,

e permitindo que os animais permanecessem calmos durante todo procedimento. A preferência pelo CO₂ para insuflar o abdômen é respaldada pela literatura, como descreveram Silva et al. (2000) e Hendrickson (2012), indicando que esse gás não apresenta propriedades combustíveis, possui alta solubilidade sanguínea, não causa importantes alterações cardiopulmonares e hematológicas, e é eliminado de forma rápida pelos pulmões. No entanto, segundo esses mesmos autores, a utilização do dióxido de carbono induz inflamação no peritônio, mesma condição observada em nosso experimento, principalmente nas primeiras 48 horas devido às alterações no exame físico, como o aumento da frequência cardíaca e respiratória, e diminuição de motilidade, assim como nas análises macro e microscópica do líquido peritoneal, onde observamos alterações nas colorações e turbidez, e no aumento da contagem de células nucleadas totais nesse mesmo período.

Os riscos atribuídos às cirurgias laparoscópicas na medicina veterinária, são similares aos citados por Campos et al. (2003), nas laparoscopias realizadas em humanos. Particularmente em equinos, as complicações podem estar relacionadas à laceração ou punção da artéria ilíaca circunflexa, punção intestinal ou esplênica e à infusão de gás retroperitoneal. Essas são intercorrências acidentais no momento da colocação dos trocartes e da criação do pneumoperitônio (HENDRICKSON, 2009). Em nosso estudo, cinco dos seis animais não apresentaram as complicações descritas pelos autores acima, entretanto, no E4, durante o momento de infusão do CO₂, houve destacamento entre musculatura e o peritônio parietal, dificultando o acesso à cavidade abdominal, que foi obtido somente após algumas tentativas, sem a cânula Endotip[®], apenas com a ótica. Hendrickson (2009) recomendou que após a infusão retroperitoneal, o procedimento seja parado e remarcado para duas a três semanas. Entretanto, em nosso experimento, mesmo após a intercorrência, como obtivemos êxito em adentrar ao abdômen, deu-se sequência ao procedimento, sem novas complicações. Esse mesmo animal (E4), manifestou por maior período os sinais de dor, e apresentou maior extensão do enfisema subcutâneo, quando comparado com os outros animais. Em estudo realizado por Desmaizières et al. (2003), os autores relataram as complicações atribuídas à inserção de cânulas nas cirurgias laparoscópicas em equinos operados em estação, citando o destacamento peritoneal como causa mais comum de intercorrências. Inclusive na medicina humana, autores reforçam a infusão retroperitoneal como uma das possíveis complicações da cirurgia laparoscópica (CAMPOS et al., 2003). Segundo

Hendrickson (2009), o enfisema subcutâneo possivelmente pode aparecer no período pós-operatório, devido à movimentação do cavalo, fazendo com que o CO₂ intrabdominal escape para o subcutâneo. Silva et al. (2002), obtiveram resultados diferentes dos apresentados em nosso estudo. Os referidos autores, após as cirurgias para realização de biopsia hepática guiada por laparoscopia, identificaram discreto enfisema subcutâneo apenas em dois dos dez equinos utilizados no experimento, com resolução em três e sete dias. Em nosso experimento, cinco dos animais apresentaram enfisema subcutâneo, com resolução em torno de nove a onze dias, e em um animal (E4) dezenove dias. Acreditamos que tal diferença entre os estudos, pode ter ocorrido, devido ao fato de Silva et al. (2002), preconizar sutura da camada muscular, seguido da pele, ao passo que em nosso procedimento realizamos somente a sutura de pele. Entretanto, na literatura não existem trabalhos que demonstrem alterações adicionais em decorrência dessa complicação. Não houve problemas relacionados às feridas cirúrgicas nos portais de acesso durante o período pós-operatório, da mesma forma que observaram Schambourg et al. (2006) e Bracamonte et al. (2008).

Em nosso estudo, a utilização da ótica de 30 centímetros com 0°, conferiu segurança suficiente para execução das biopsias, permitindo clara visualização do campo operatório e das estruturas adjacentes, assim como uma ampla visão de toda cavidade, resultando em uma inspeção precisa no quadrante esquerdo dos animais. Segundo trabalhos levantados na literatura, a ótica de 30° apresenta maior versatilidade do que a ótica de 0°, com um campo de visão mais completo, possibilitando a visualização de grande parte das estruturas abdominais por uma única cânula. Todavia, óticas com essa angulação são mais complexas de serem operadas, demandando um operador com mais experiência, ao passo que as óticas de 0° são mais fáceis de serem utilizadas, uma vez que proporcionam ao cirurgião uma visão direta e simples, sendo as mais utilizadas nos estágios iniciais do aprendizado em videocirurgia (NÓBREGA et al., 2011; HENDRICKSON, 2012; EASLY et al., 2014).

Em estudo realizado por Nóbrega et al. (2011), onde foi descrita a anatomia topográfica videolaparoscópica, realizada em estação, de equinos com três tipos diferentes de massa corpórea, os autores identificaram por meio do acesso pelo flanco esquerdo, nos três grupos, segmentos de intestino delgado e de cólon menor. Corroborando com esses dados, em nosso experimento, a abordagem pelo flanco

esquerdo permitiu ampla visualização desse quadrante, sem dificuldades para visualização de segmentos de intestino delgado e cólon menor. Outros autores também descrevem a identificação desses mesmos segmentos pelo acesso criado no flanco esquerdo de equinos submetidos à laparoscopia em estação (GALUPPO et al., 1995; SILVA et al., 2008; HENDRICKSON, 2012).

O posicionamento dos trocartes foi considerado satisfatório pela equipe, uma vez que a visualização e manipulação dos segmentos escolhidos ocorreram de forma adequada ao longo de todas as etapas da cirurgia. Devido a estarmos propondo uma técnica de biopsia intestinal, por meio de cirurgia minimamente invasiva, ainda não descrita na literatura, nossa metodologia quanto à criação dos portais, abordagem dos segmentos a serem biopsiados e coleta dos fragmentos, diferenciou-se das que foram descritas por Schambourg et al. (2006) e Bracamonte et al. (2008), onde em parte do experimento, a laparoscopia também foi usada como ferramenta para realização de biopsia intestinal, de forma intracorpórea.

O acesso laparoscópico, proposto por Schambourg et al. (2006), foi feito pelo flanco direito, visando inicialmente à coleta de fragmentos seromusculares e posteriormente de mucosa, de duodeno e ceco, por meio de incisões elípticas, com auxílio de uma pinça Kelly e tesoura laparoscópica, seguido com diferentes suturas intracorpóreas dos pontos de coleta. No entanto, nosso estudo vislumbrou a criação de um método mais simples, rápido e eficiente, dispondo de instrumentais criados e adaptados como a agulha guia e a pinça de biopsia flexível, especificamente para coleta de fragmentos de mucosa. Os instrumentais mostraram-se eficientes, assim como a execução da técnica, e mesmo havendo momentos nos quais a agulha guia transfixou a alça, não foi observado extravasamento de conteúdo intraluminal para a cavidade peritoneal, da mesma forma que Schambourg et al. (2006), não observaram tal intercorrência. Contudo, o tempo cirúrgico total médio observado em nosso trabalho foi de 66,50 minutos, enquanto os tempos médios apresentados pelos autores Schambourg et al. (2006) e Bracamonte et al. (2008), foram de, 131 minutos, e 94 minutos respectivamente. Como descreve Schambourg et al. (2006) em sua discussão, alguns fatores influenciam diretamente no tempo cirúrgico, destacando a sutura intracorpórea como etapa que pode demandar maior tempo para a conclusão do procedimento. Com base nessas informações, atribuídos o tempo total médio obtido por nossa equipe como satisfatório, sendo a utilização da cola cirúrgica fator que favoreceu a obtenção deste resultado.

Nesse contexto, as principais questões levantadas nos trabalhos na área de laparoscopia em equinos, é o padrão de sutura a ser utilizado em situações que demandam esse tipo de intervenção. As discussões frente às suturas intra-abdominais, por meio da laparoscopia, consistem em avaliar a eficácia de métodos que visam reduzir o tempo cirúrgico de forma simplificada, como, por exemplo, o uso de adesivos teciduais (SUTTER et al., 2004). Tanto a sutura manual, quanto a mecânica, apresentam desafios quanto ao potencial de causarem estenoses, e a capacidade de suportar a tensão causada pela distensão da alça. Para as suturas manuais, preconiza-se o fechamento em dois planos, podendo resultar na diminuição do lúmen intestinal, dependendo do diâmetro do segmento abordado. Por outro lado, com intuito de minimizar esse risco, pode-se lançar mão de dispositivos mecânicos de sutura, como o grampeador linear. No entanto, a coleta por meio deste dispositivo causa maior trauma à alça, uma vez que é retirada uma porção do segmento, com todas as camadas, ocorrendo logo em seguida o grampeamento automático das outras duas extremidades (SCHAMBOURG et al., 2006; BRACAMONTE et al., 2008). Ao contrário do que demonstraram esses dois autores, nosso estudo visou causar menor trauma possível aos segmentos intestinais, realizando uma única perfuração seromucosa na alça, de 3 mm, com auxílio da agulha guia, ocluindo o orifício com 0,5 mL de cola sintética a base de N-Butil-2 Cianoacrilato e Metacrilisolfolano, através de um cateter específico para aplicação desse material.

O emprego das colas cirúrgicas a base de cianoacrilato é feito em humanos, por apresentar baixa toxicidade aos tecidos, rápida polimerização, boa capacidade para suportar variados graus de tensões, aplicabilidade em tecidos úmidos e baixo risco de aderências na superfície da cola, podendo ser utilizadas com ou sem sutura para aproximação tecidual nas anastomoses intestinais (LADURNER et al., 2011). Em equinos, este tipo de cola foi usado para o fechamento de anel inguinal de garranhões com hérnias recorrentes (ROSSIGNOL et al., 2013), assim como em estudo prospectivo realizado por Duarte et al. (2002), comparando a sutura padrão simples interrompida associada ao butil-2 cianoacrilato, com a sutura convencional com fio de poligalactina 910 sem a aplicação da cola. Em tal estudo os autores avaliaram a cicatrização por meio de duas incisões de cinco centímetros na região da *teniae coli* do cólon menor, concluindo que este adesivo tecidual é apropriado para o uso em enterorrafias deste segmento em equinos. Nos trabalhos citados

acima, tanto o anel inguinal, quanto as incisões de cinco centímetros no cólon menor, apresentam maior extensão para aplicação da cola, e consequentemente maior tensão sobre o local de aplicação, quando comparados com a perfuração sermucosa (3 mm) realizada em nosso estudo. No entanto, mesmo com metodologias diferentes, nossos resultados corroboram em relação à oclusão e adesão das superfícies, e a não formação de aderências de outros segmentos na superfície da cola após a polimerização.

Schambourg et al. (2006), após a realização da técnica de biopsia intestinal por laparoscopia, realizaram lavagem peritoneal em todos os equinos que foram submetidos ao estudo, com intuito de diminuir o risco da formação de aderências devido à manipulação durante a cirurgia e possível contaminação da cavidade abdominal atribuída à técnica empregada. No entanto, corroboramos com Bracamonte et al. (2008), que assim como em nosso trabalho, não efetuou lavagem peritoneal, visando avaliar a segurança e relatar as alterações encontradas no período pós-operatório frente à técnica proposta. Por outro lado, diferentemente dos autores citados acima, em nosso estudo, mesmo não sendo realizada a lavagem peritoneal, realizamos a lavagem local do ponto de perfuração com 20 mL de solução de gentamicina.

6.2 AVALIAÇÃO DO EXAME FÍSICO

Os animais apresentaram sinais de desconforto abdominal durante as primeiras 48 horas, no entanto, a dor foi controlada logo após a administração de flunixin meglumine (1,1 mg/kg, SID, IV) e dipirona (20 mg/kg, BID, IV). Esses resultados diferem dos obtidos por Schambourg et al., 2006, e Bracamonte et al., 2008, que não observaram alterações comportamentais e clínicas compatíveis com dor nos equinos submetidos a diferentes técnicas de biopsia intestinal por laparoscopia. Todavia, o comportamento apático, diminuição de apetite e de motilidade, assim como aumento de frequência cardíaca, respiratória e temperatura, observadas até as primeiras 48 horas após as cirurgias, podem estar relacionadas à resposta inflamatória do peritônio à distensão e ao CO₂ (HENDRICKSON, 2012^a),

que pode permanecer até 72 horas na cavidade peritoneal até ser completamente absorvido e posteriormente eliminado (DRAPER et al., 1997).

O animal E4 apresentou alterações clínicas e comportamentais distintas dos demais, com valores elevados de frequência cardíaca, respiratória e de temperatura. Deve-se levar em consideração, que neste equino, houve infusão retroperitoneal de gás e maior manipulação na região de P1, como tentativa de acesso à cavidade abdominal. Mesmo com a intercorrência obtivemos êxito em adentrar ao abdômen, dando sequência ao procedimento. Além da resposta inflamatória já esperada nas cirurgias laparoscópicas, causada pela distensão da cavidade e pela irritação do peritônio ao CO₂ (como destacado no parágrafo anterior), neste caso em particular, (E4) houve também o destacamento do peritônio, o que resultou em uma resposta dolorosa exacerbada, que acarretou em alterações comportamentais, clínicas e laboratoriais, que perduraram por mais tempo quando comparado com os outros animais. No entanto, descrições detalhadas de alterações clínicas e comportamentais não foram encontradas nos trabalhos consultados, pois quando comparamos nossos resultados com os obtidos por Desmaizières et al. (2003), onde seis equinos sofreram infusão de gás retroperitoneal durante a criação do pneumoperitônio, esses autores relataram os sinais de dor apenas durante a infusão do gás, não sendo detectadas ou descritas maiores alterações no período pós-operatório.

6.3 AVALIAÇÃO DO EXAME ULTRASSONOGRAFICO

A metodologia delineada para realização dessa etapa se mostrou efetiva, promovendo uma forma sistematizada e rápida para realizar a ultrassonografia abdominal em equinos. Obtivemos o mesmo resultado de Busoni et al. (2010), que ao desenvolverem o protocolo “FLASH” para o exame ultrassonográfico do abdômen de equinos, viabilizaram que clínicos sem vasta experiência nesse tipo de exame pudessem desempenhá-lo de forma eficaz após alguns minutos de treino.

Os pontos inspecionados por meio deste exame foram baseados nos locais onde comumente são identificadas alterações em equinos com abdômen agudo, sendo considerados eficientes, por permitirem a visualização e avaliação das

características de determinadas condições e estruturas anatômicas, de ambos os lados, como rins, baço, cólon maior e menor, estômago, fígado, duodeno e jejuno. Contudo, uma pequena quantidade de líquido peritoneal também pôde ser detectada por meio da ultrassonografia abdominal (FREEMAN, 2002), sendo possível em alguns casos estabelecer suas características e quantidade (REEF et al., 2004). Assim como descrito por esses autores, em todos os momentos de nosso projeto, obtivemos sucesso na detecção do líquido peritoneal na porção ventral do abdômen, apresentando-se sempre com o mesmo padrão encontrado no D0.

Da mesma forma que Bracamonte et al. (2008), descreveram em seu trabalho, nenhuma alteração ultrassonográfica sugestiva de peritonite foi identificada após a realização de biopsia intestinal intracorpórea por laparoscopia.

6.4 AVALIAÇÃO DA INSPEÇÃO DA CAVIDADE ABDOMINAL NO D30

A realização da inspeção da cavidade abdominal, por meio de laparoscopia, após a coleta intracorpórea de fragmentos intestinais, também foi descrita por Schambourg et al. (2006) e Bracamonte et al. (2008). No entanto, em nosso estudo essa etapa ocorreu uma única vez, trinta dias após, diferentemente da metodologia adotada pelo primeiro autor, que realizou a laparoscopia controle seis dias após a realização da biopsia, e do segundo autor, que realizou seriadas laparoscopias ao longo do experimento.

Em nosso trabalho, dois equinos (E2 e E4) apresentaram formação de aderências, diferentemente do observado por Schambourg et al. (2006), que não identificaram esse tipo de alteração. Em ambos os animais, uma pequena porção de omento encontrava-se aderida do lado esquerdo do diafragma. A ocorrência de aderência de omento em equinos, após laparoscopias, tem sido descrita na literatura, entretanto, não foi observada relevância clínica importante atribuída (BRACAMONTE et al., 2008; HENDRICKSON, 2009). No E4 identificamos ainda uma segunda aderência na região de P1, entre o peritônio visceral e a face lateral do baço, assim como pequenos pontos difusos de fibrina por toda extensão lateral deste órgão, e pequena quantidade de fibrina parcialmente aderida na parede abdominal logo abaixo de P3. Por sua vez, nas laparoscopias, como resposta ao

CO₂ e à distensão, ocorre inflamação do peritônio (DRAPER et al., 1997; HENDRICKSON, 2012^a), que após ser traumatizado, sofre deposição de fibrina, acarretando na formação inicial de aderências fibrinosas e posteriormente fibrosas (LOPES et al., 1999). Por ter sofrido importante destacamento do peritônio em P1, seguido da manipulação excessiva no local para introdução da cânula, além da resposta individual à inflamação causada pelo pneumoperitônio, acreditamos que os achados na inspeção desse animal, estejam correlacionados às informações citadas pelos autores acima.

Em nenhum dos animais submetidos ao nosso experimento evidenciamos alterações que pudessem ser correlacionadas com quadro de peritonite infecciosa.

6.5 AVALIAÇÃO DO LEUCOGRAMA

Inicialmente, na avaliação do leucograma, observamos quatro dos seis animais (E2, E3, E5 e E6), com discreta leucopenia por neutropenia nos cinco primeiros dias de pós-operatório, diferentemente do que foi observado por Silva et al., 2002, após realização de biopsia hepática por laparoscopia em equinos em estação, que constatarem discreta leucocitose no 1º e 3º dia após a biopsia. No entanto, observamos condições similares às nossas obtidas por Spagnolo (2010), após a colocação de implante no anel inguinal de equinos por laparoscopia em decúbito dorsal, sendo atribuída essa alteração à mobilização de leucócitos para o interior da cavidade abdominal devido à inflamação do peritônio. Mesmo com dois animais (E1 em D21 e E5 do D10 ao D30) manifestando leucocitose com neutrofilia, não identificamos um padrão significativo no aumento dos leucócitos, em resposta à migração anterior dessas células para o abdômen, como observado por Spagnolo (2010), onde identificou leucocitose com neutrofilia com picos no dia 7 e 14 de pós-operatório. Em nosso trabalho, a média dos leucócitos totais, entre os animais, não ultrapassou os valores normais de referência estabelecidos para a espécie, atingindo seu pico máximo no D10.

Ao longo de todos os períodos em que o leucograma foi avaliado, não houve alterações significativas que pudessem indicar presença de quadro infeccioso, da mesma forma que observaram Schambourg et al. (2006) e Bracamonte et al. (2008)

em seus exames laboratoriais, após a realização de biópsia intestinal intracorpórea por laparoscopia.

6.6 AVALIAÇÃO DO LÍQUIDO PERITONEAL

A laparoscopia resulta em inflamação do peritônio devido ao trauma cirúrgico e ao pneumoperitônio, acarretando no aparecimento de alterações macroscópicas no líquido peritoneal, em decorrência da alta concentração celular e proteica, fazendo com que a coloração passe a ser avermelhada ao invés de amarelo-palha, e a turbidez elevada ao invés do líquido peritoneal apresentar-se translúcido (FISCHER, 1986). Entretanto, em nosso estudo, três animais (E1, E2 e E5) apresentaram coloração castanha, e dois (E3 e E6) coloração avermelhada. A obtenção da coloração amarelo-palha em três equinos (E1, E3 e E5) ocorreu no D3 e de outros dois animais (E2 e E6) em D5 e D7, diferentemente dos dados descritos por Lopes et al., 1999, e Spagnolo et al., 2010, que obtiveram essa mesma coloração com 15 e 14 dias respectivamente. Alta turbidez (++++) foi detectada em nosso estudo até o D7, havendo diminuição (+) significativa no D14, normalizando seu aspecto no D21. Acreditamos que em nosso estudo, a coloração foi restabelecida mais rapidamente, devido ao procedimento que realizamos demandar menor tempo cirúrgico e gerar menos trauma, quando comparado com as laparotomias realizadas por Lopes et al., 1999, e o fechamento do anel inguinal por laparoscopia em decúbito dorsal, por Spagnolo (2010).

A contagem total de células nucleadas permaneceu acima dos valores de referência até D21, sendo que o pico foi constatado no D2, assim como demonstraram Bracamonte et al., 2008 e Spagnolo, 2010 em seus trabalhos. Este último autor, por sua vez, constatou normalidade desses parâmetros após quatro semanas da realização da laparoscopia. Em nosso estudo a normalidade da contagem total de células também foi obtida no D30.

Na avaliação citológica houve predominância expressiva de neutrófilos até o D10, com pouca quantidade de macrófagos e raros linfócitos e eosinófilos. No D14 e D21 observamos uma quantidade maior de macrófagos, podendo relacionar sua presença em maior quantidade a uma fase de recuperação do peritônio frente à

inflamação. Assim como descrito no trabalho de Schambourg et al., 2006, não foram observados neutrófilos degenerados em quantidade expressiva e nem bactérias ao longo de todos os momentos em que o líquido peritoneal foi analisado.

Os valores de proteína total mantiveram-se elevados do D1 ao D14, com pico no D2, assim como ocorreu com as células nucleadas. O aumento da celularidade e das proteínas nesta fase indica o pico inflamatório do peritônio, que por consequência sofre aumento da permeabilidade local e liberação de agentes quimiotáticos em decorrência do trauma cirúrgico, tempo de procedimento e pneumoperitônio (FISCHER et al., 1986; LOPES et al., 1999).

A ocorrência de enterocentese, punção esplênica e improdutividade no momento da coleta do líquido peritoneal em equinos é descrita por Lopes et al., 1999 e Mair et al., 2002. Em nosso trabalho, a enterocentese ocorreu apenas em dois momentos, em animais distintos (E1 e E2), não sendo atribuída nenhuma outra alteração em decorrência do acontecido. Em apenas um animal (E4), em dois momentos (D14 e D15) houve improdutividade na obtenção do líquido peritoneal, no entanto, no D16, a amostra foi colhida sem maiores dificuldades. Segundo Mair et al., 2002, a improdutividade no momento da coleta do líquido peritoneal pode ser atribuída a uma punção sub-peritoneal, desidratação do paciente ou até mesmo a punção acidental de alças intestinais ou do baço. Por outro lado, Lopes et al., 1999, não citam justificativa para a improdutividade na coleta do líquido peritoneal.

As alíquotas destinadas ao exame de cultura colhidas em D1, D2 e D3 de cada animal apresentaram resultados negativos para crescimento de agentes microbianos. Resultado similar foi encontrado no trabalho de Schambourg et al. (2006), não sendo relatado crescimento bacteriano aeróbico e anaeróbico no exame de cultura do líquido peritoneal. Essa análise se mostrou importante, uma vez que em ambos os estudos foi realizada coleta de fragmentos intestinais, com técnicas intracorpóreas, com potencial risco de contaminação à cavidade abdominal.

6.7 AVALIAÇÃO DO EXAME HISTOLÓGICO

O tamanho dos fragmentos coletados por meio da pinça de biópsia, com o bocal tipo concha, foi considerado satisfatório para serem inclusos no

processamento de confecção das lâminas. Imediatamente após a coleta, os fragmentos foram acondicionados em recipientes com solução de formalina a 10%, como recomendado pela ASGE (2013), indicando que tal solução promove uma excelente fixação dos tecidos para posteriormente ser corado com Hematoxilina eosina.

A coloração com Hematoxilina eosina proporcionou clara identificação e diferenciação entre as camadas intestinais, com ampla visualização da mucosa, permitindo desse modo que os avaliadores definissem as condições de análise dos fragmentos como viáveis ou inviáveis. Nos que foram considerados viáveis, tanto em jejuno quanto cólon menor, identificamos com precisão a lâmina própria e a região intercriptal, sendo que para determinadas enfermidades são nessas estruturas principalmente que ocorrem grande parte das alterações (LINDBERG et al., 1996; SCHUMACHER et al., 2000; PARKER et al., 2005). Devemos ressaltar que o objetivo do trabalho não contemplava a contagem e diferenciação celular, no entanto, constatamos a possibilidade dessas análises serem realizadas nas amostras que foram consideradas adequadas em nosso trabalho.

A visualização das camadas muscular da mucosa e submucosa em jejuno não ocorreu de forma satisfatória em grande parte dos fragmentos. Em contrapartida, nas amostras de cólon menor, foi possível a identificação dessas camadas, com maior eficácia, como descrito por Araújo (2014), durante a análise histopatológica após a realização de biopsias retais em equinos. Acreditamos que por ser mais delgado e flácido, e consequentemente mais frágil do que o cólon menor, o jejuno suporta menos pressão no momento da coleta, resultando em fragmentos superficiais, não sendo possível alcançar de forma efetiva as camadas mais profundas do intestino. Resultados diferentes foram obtidos por Bracamonte et al. (2008), onde os autores coletaram fragmentos contendo todas as camadas intestinais, e Schambourg et al. (2006) que realizaram duas coletas, sendo uma seromuscular e a outra contendo as camadas submucosa e mucosa.

Em nosso estudo, cada segmento foi coletado dez vezes, como estabelecido inicialmente na metodologia do trabalho. Entretanto, observamos variações maiores e menores do número de fragmentos. Podemos atribuir essas oscilações à coleta acidental de muco, que resultaria na diminuição do número de fragmentos, ou na divisão de um fragmento em dois, durante o processamento para confecção das

lâminas. Por sua vez, não foram identificados sinais de autólise e poucos fragmentos apresentaram artefatos em decorrência de manipulação.

Diferentemente de Parker et al. (2005), para a análise em jejuno, preconizamos o mínimo de três vilosidades por campo para que o fragmento fosse enquadrado nos escores 1 ou 2, considerando-o viável para avaliação histológica. Já o autor citado anteriormente, analisou fragmentos desse mesmo segmento, com no mínimo cinco vilosidades por campo. Contudo, nosso padrão de viabilidade, baseado em no mínimo três vilosidades, permitiu a identificação dos grupos celulares presentes na lâmina própria, região intercriptal, e em alguns casos até mesmo na submucosa, demonstrando acurado potencial para uma eventual análise celular que pudesse ser feita.

Os escores utilizados em nosso estudo foram adaptados de Willard et al. (2001) e Araújo (2014), e demonstraram eficácia frente aos objetivos pré-estabelecidos, com o enquadramento dos fragmentos como viáveis ou inviáveis, resultando na adequação ou não das amostras para análise histopatológica. Estabelecemos um critério com alto percentual de aproveitamento, de forma que, no mínimo 50% dos fragmentos deveriam ser viáveis para a amostra serem considerada adequada. Todavia, em casos onde há suspeita de doença intestinal crônica, o diagnóstico histopatológico pode ser estabelecido com apenas um fragmento, como fizeram Menarim et al. (2007), ao diagnosticarem dois casos de enterocolite linfoplasmocítica por meio de análise histopatológica da biópsia de mucosa retal.

Das 12 amostras obtidas em nosso trabalho, 9 foram consideradas adequadas e 3 foram consideradas inadequadas (E5 em jejuno, E1 e E2 em cólon menor). Entretanto, E2 e E5 apresentaram 5 fragmentos viáveis cada, e E1 totalizou viabilidade de 4,33. Contudo, as amostras inadequadas ainda possuem alto percentual de fragmentos viáveis, possibilitando que seja feita a análise histopatológica específica para cada um deles.

7 CONCLUSÕES

A técnica de biópsia intestinal proposta neste estudo foi considerada eficaz e de potencial aplicabilidade, uma vez que provou oferecer amostra adequada, além de ser segura para os animais, promovendo menor trauma cirúrgico aos segmentos intestinais abordados e aos pacientes, favorecendo uma precoce recuperação pós-operatória. A utilização da cola cirúrgica sem sutura local pode ser considerada adequada, por promover o fechamento dos pontos de perfuração de forma eficiente, otimizando o tempo total de cirurgia. Essa técnica ainda não foi descrita na literatura e, portanto, foi realizada apenas em animais saudáveis, sendo necessários estudos clínicos na área para que possa ser validada em equinos com doenças intestinais crônicas, enterites e colites.

REFERÊNCIAS

- ALLEN, K. J.; PEARSON, G. R.; FEWS, D.; MCORIST, S.; BRAZIL, T. J. Lawsonia intracellularis proliferative enteropathy in a weanling foal, with a tentative histological diagnosis of lymphocytic plasmacytic enteritis. **Equine Veterinary Education**, v. 21, n. 8, p. 411-414, 2009.
- ARAÚJO, D. A. O. **Biópsia retal**: avaliação da técnica e dos achados histopatológicos em equinos clinicamente saudáveis ou com alterações do trato gastrointestinal. 2014. 107 f., Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2014.
- ARAYA, O.; VITS, L.; PAREDES, E. ILDEFONSO, R. Grass sickness in horses in southern Chile. **Veterinary Research**, n. 150, p. 695-697, 2002.
- BAIN, F. T.; PETRIZZI, L.; VALBONETTI, L.; MUTTINI, A. Gastroscopy and duodenoscopy. In: SLOVIS, N. M. **Atlas of Equine Endoscopy**, St. Louis: Mosby, 2004. p. 147-168.
- BLIKSLAGER, A. T. Pathophysiology of gastrointestinal disease: obstruction and strangulation. In: WHITE, N. A.; MOORE, J. N.; MAIR, T. S. **The Equine acute abdomen**, Tenton Newmedia, 2009. Chap. 6, p. 100-107.
- BOSCAN, P.; VAN HOOOGMOED, L. M.; FARVER, T. B.; SNYDER, J. R.; Evaluation of the effects of the opioid agonist morphine on gastrointestinal tract function in horses. **American Journal Research**, Chicago, v. 67, n. 6, p. 992-997, 2006.
- BRACAMONTE, J. L.; BOURÉ, L. D.; GEOR, R. J.; RUNCIMAN, J. R.; NYKAMP, S. G.; CRUZ, A. M.; TEETER, M. G.; WATERFALL, H. L. Evaluation of a laparoscopic technique for collection of serial full-thickness small intestinal biopsy specimens in standing sedated horses. **American Journal of Veterinary Research**, v. 69, n. 3, p. 431-439, 2008.
- BURNS, J. Endoscopic instrumentation. In: SLOVIS, N. **Atlas of equine endoscopy**. St. Louis: Mosby, 2004. p. 3-27.
- BUSONI, V.; BUSSCHER, V. D.; LOPEZ, D.; VERWILGHEN, D.; CASSART, D. Evaluation of a protocol for fast localized abdominal sonography of horses (FLASH) admitted for colic. **The Veterinary Journal**, v. 188, p. 77-82, 2011.
- CAMPOS F. G. C. M.; ROLL S. Complicações do acesso abdominal e do pneumoperitônio em cirurgia laparoscópica – causas, prevenção, e tratamento. **Revista Brasileira de Video-Cirurgia**, v. 1, n. 1, p. 21-28, 2003.

CAUBI, A. F.; XAVIER, R. L. F.; LIMA FILHO, M. A.; CHALEGRE, J. F. Biópsia, **Revista de Cirurgia e Traumatologia Buco-Maxilo-Facial**, v.4, n.1, p.39-46, 2004.

CHAMNESS, C. J. Laparoscopic skills and instrumentation, Reusable equipment. In: RAGLE, C. **Advances in Equine Laparoscopy**. 1th Edition, Wiley-Blackwell, 2012. p. 41-56.

CLARK, K. W.; PATON, B. S. Combined use of detomidine with opiates in the horse. **Equine Veterinary Journal**, v. 20, p. 331-334, 1988.

CORLETT, F.; RAISIS, A.; BREARLEY, J. C. Comparasion of morphine and butorphanol as preanaesthetic agents in combination with romifidine for field castration in ponies. **Veterinary Anaesthesia and Analgesia**, v. 1, p. 16-22, 2005.

DESMAIZIÈRES L. M.; MARTINOT S.; LEPAGE O. M.; BAREISS E.; CADORÉ J. L. Complications associated with cannula insertion techniques used for laparoscopy in standing horses. **Veterinary Surgery**, v. 32, p. 501-506, 2003.

DUARTE, C. A.; CATTELAN, J. W.; ALESSI, A. C.; VALENTE, P. P.; AITA, A. C.; RASERA, L. Enterorrafias em plano aposicional convencional e com adesivo à base de cianoacrilato no cólon descendente de equinos. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 32, n. 4, p. 595-601, 2002.

DRAPER, K.; JEFSON, R.; JONGEWARD, JR. R.; MCLEOD, M. Duration of postlaparoscopic pneumoperitoneum. **Surgical Endoscopic**, v. 11, p. 809-811, 1997.

EASLY, J. T.; HENDRICKSON D. A. Advances in laparoscopic techniques and instrumentation in standing equine surgery. **Veterinary Clinics Equine Practice**, v. 30, p. 19-44, 2014.

EVANS, S. E.; BONEZYNSKI, J. J.; BROUSSARD, J. D.; HAN, E.; BAER, K. E. Comparasion of endoscopic and full-thickness biopsy specimens for diagnosis of inflammatory bowel disease and alimentary tract lymphoma in cats. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 229, n. 9, p. 1447-1450, 2006.

FEARY, D. J.; HASSEL, D. M. Enteritis and colitis in horses. **Veterinary Clinics Equine Practice**, v. 22, p. 437-479, 2006.

FENOGLIO-PREISER, C. M.; NOFFSINGER, A. E.; STEMMERMANN, G. N.; LANTZ, P. E.; ISAACSON, P. G. General features of the gastrointestinal tract and evaluation of specimens derived from it. In: FENOGLIO-PREISER, C. M.; NOFFSINGER, A. E.; STEMMERMANN, G. N.; LANTZ, P. E.; ISAACSON, P. G. **Gastrointestinal pathology an atlas and text**. 3 Edition, Lippincott Williams & Wilkins, 2008. Chap. 1, p. 1-10.

FISCHER, A. T.; LOUYD KENT, K. C.; CARLSON, G. P.; MADIGAN, J. E. Diagnostic laparoscopic in the horse. **Journal American Veterinary Medical Association**, v. 189, n. 3, p. 289-292, 1986.

FREEMAN, S. Ultrasonography of the equine abdomen: findings in the colic patient. **In Practice**, v. 24, p. 262-273, 2002.

GABARDO, M. P.; SATO, J. P.; GUEDES, R. M. C. Enteropatia proliferativa em equino. **Archives of Veterinary Science**, v. 18, (supl. 2), p. 62-62, 2013.

GALUPPO, L. Laparoscopic Anatomy. In: FISCHER, A. T. **Equine Diagnostic and Surgical Laparoscopy**. Saunders, 2002. Chap. 2, p. 7-28.

GAMA E SILVA, T. S.; FURLANETTO, T. W. Diagnóstico de doença celíaca em adultos. **Revista da Associação Médica Brasileira**, 56 (1), p. 122-126, 2010.

GRAHAM, S.; FREEMAN, D. Standing diagnostic and therapeutic equine abdominal surgery. **Veterinary Clinics Equine Practice**, v. 30, p. 143-148, 2014.

GROSCHKE, A.; MORTON, A. J.; GRAHAM, A. S.; VALENTINE, J. F.; ABBOTT, J. R.; POLYAK, M. M. R.; FREEMAN, D. E. Mucosal injury and inflammatory cells in response to brief ischaemia and reperfusion in the equine large colon. **Equine Veterinary Journal**, v. 43, n. 29, p. 16-25, 2011.

GRUBB, T. Laparoscopy in the standing horse, Sedation and analgesia in the standing horse. In: RAGLE, C. **Advances in equine laparoscopy**. 2012. Chap. 7, 1th Edition, Wiley-Blackwell, p. 71-82.

GUEDES, A. G. P.; NATALINE, C. C.; Anestesia em equinos com síndrome cólica – Análise de 48 casos – Revisão de literatura. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 32, n. 3, p. 542-545, 2002.

GUIMARÃES-LADEIRA, C. V.; PALHARES, M. S.; OLIVEIRA, J. S.; RAMIREZ, M. A.; GUEDES, R. M. Faecal shedding and serological cross-sectional study of *Lawsonia intracellularis* in horses in the state of Minas Gerais, Brazil. **Equine Veterinary Journal**, v. 41, p. 593-596, 2009.

GUTTMANN, P. M.; VISCARDI, V.; LESSA, D. A. B.; GUEDES, R. M. C. Equine Proliferative Enteropathy caused by *Lawsonia intracellularis* in a foal in Brazil. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 34, p. 701-703, 2014.

HENDRICKSON, D. A. Complications of laparoscopic surgery. **Veterinary Clinics of North America Equine Practice**, v. 24, p. 557-571, 2009.

HENDRICKSON, D. A^a. A review of equine laparoscopy. **ISRN Veterinary Science**, p. 1-17, 2012.

HENDRICKSON, D. A^b. Laparoscopy in the standing horse, Diagnostic techniques. In: RAGLE, C. **Advances in Equine Laparoscopy**. 2012. Chap. 8, 1th Edition, Wiley-Blackwell, p. 83-92.

HERDT T. Fisiologia gastrointestinal e metabolismo, In: CUNNINGHAM J. G. **Tratado de fisiologia veterinária**. 3 Edição, Editora Guanabara Koogan S.A, 2004. cap. 29 e 30, p. 263-288.

HOLCOMBE, S. J.; CARR, E. A. Nutrition for the critically ill horse. In: ROBINSON, N. E.; SPRAYBERRY, K. A. **Current therapy in Equine Medicine 6**. St. Louis, Saunders, 6th Edition, 2009. Chap. 22, p. 97-102.

HOOGMOED, L. V.; SNYDER, J. R.; PASCOE, J. R.; OLANDER, H. Use of pelvic flexure biopsies to predict survival after large colon torsion in horses. **Veterinary Surgery**, v. 29, p. 572-577, 2000.

HOPSTER-IVERSEN, C.; HOPSTER, K.; STASZYK, C.; RONH, K.; FREEMAN, D.; ROTTING, A. K. Influence of mechanical manipulations on the local inflammatory reaction in the equine colon. **Equine Veterinary Journal**, v. 43, n. 29, p. 1-7, 2011.

HUHN, J. C. Laparoscopic skills and instrumentation, Disposable equipment. In: RAGLE, C. **Advances in Equine Laparoscopy**. 1th Edition, Wiley-Blackwell, 2012. p. 57-68.

JUNQUEIRA L. C.; CARNEIRO J. O trato digestivo. In: **Histologia básica**. Rio de Janeiro, 11 Edição, Editora Guanabara Koogan S.A, 2008. cap. 15, p. 283.

KALCK, K. A. Inflammatory bowel disease in horses. **Veterinary Clinics Equine Practice**, v. 25, p. 303-315, 2009.

KING, S. K.; SUTCLIFFE, J. R.; HUTSON, J. M. Laparoscopic seromuscular colonic biopsies: a surgeon's experience. **Journal of Pediatric Surgery**, v. 40, p. 381-384, 2005.

KLOHNEN, A. History of laparoscopy in animals and humans. In: FISCHER, A. T. **Equine Diagnostic and Surgical Laparoscopy**. Saunders, 2002. Chap. 1, p. 3-6.

LADURNER, R.; DROSSE, I.; BURKLEIN, D.; PLITZ, W.; BARBARYKA, G.; KIRCHHOFF, S.; MUTSCHLER, W.; SHIECKER, M.; MUSSACK, T. Cyanoacrylate glue for intra-abdominal mesh fixation of polypropylene-polyvinylidene fluoride meshes in a rabbit model. **Journal of Surical Research**, v. 167, p. 157-162, 2011.

LEAL, A. T.; LEAL, A. B. M.; FLORES, E. F.; SANTURIO, J. M.; Pitiose. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 31, n. 4, p. 735-743, 2001.

LEVI, O.; AFFOLTER, V. K.; BENAK, J.; KASS, P. H.; JEUNE, S. S. L. Use of pelvic flexure biopsy scores to predict short-term survival after large colon volvulus. **Veterinary Surgery**, v. 41, p. 582-588, 2012.

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

LOPES, M. A. F.; DEARO, A. C. O. ; BIONDO, A. W.; GODIN, L. F. P.; IAMAGUTI, P.; THOMASSIAN, A.; KOHAYAGAWA, A. Exame do líquido peritoneal e hemograma de equinos submetidos à laparotomia e infusão intra-abdominal de carboximetilcelulose. **Ciência Rural**, v. 29, n. 1, p. 79-85, 1999.

LUCAS, F. A.; CATTELAN, J. W.; DUARTE, C. A.; BOLELI, I. C.; MALHEIROS, E. B. Aspectos morfométricos da mucosa do cólon descendente de equinos. **Ars Veterinária**, v. 21, n. 2, p. 215-219, 2005.

MAIR, T.; KELLEY, A. M.; PEARSON, G. R. Comparasion of ileal and rectal biopsies in the diagnosis of equine grass sickness. **Veterinary Record**, Short Communications, 2013.

MAIR, T.; PEARSON, G. R.; DIVERS, T. J. Malabsorption syndromes in the horse. **Equine Veterinary Education**, v. 18, n. 6, p. 299-308, 2006.

MAZZIOTTI, M. V.; LANGER, J. C. Laparoscopic full-thickness intestinal biopsies in children. **Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition**, v. 33, p. 54-57, 2001.

MCCONNICO, R. S.; MORGAN T. W.; WILLIAMS, C. C.; HUBERT, J. D.; MOORE, R. Pathophysiologic effects of phenylbutazone on the right dorsal colon in horses. **American Journal of Veterinary Research**, v. 69, n. 11, p. 1496-1505, 2008.

MEE, A. S.; BURKE, M.; VALLON, A. G.; NEWMAN, J.; COTTON, P. B. Small bowel biopsy for malabsorption: comparasion of the diagnostic adequacy of endoscopic forceps and capsule biopsy specimens. **British Medical Journal**, p. 291, 1985.

MENARIM, B. C.; BORGES, A. S.; TEIXEIRA, L. B. C.; TEIXEIRA, R. B. C.; VIEIRA, C. Enterocolite linfo-plasmocítica equina - Diagnóstico clínico e histopatológico. Relato de dois casos, São Paulo, SP. In: CONFERÊNCIA ANUAL DA ABRAVEQ, 8; CONGRESSO INTERNACIONAL DE MEDICINA VETERINÁRIA FEI/CBH, 3. 2007, São Paulo. Anais..., 2007.

MENDES, H. M. F.; ESCOBAR, A.; VASCONCELOS, A. C.; ZUCOLOTO, S.; ALVES, G. E. S.; FALEIROS, R. R. Alterações morfométricas no plexo mioentérico do cólon menor equino distendido experimentalmente, **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 29, n. 7, p. 557-562, 2009.

MESCHTER, C. L.; GILBERT, M.; KROOK, L.; MAYLIN G.; CORRADINO, R. The effects of phenylbutazone on the intestinal mucosa of the horse: a morphological, ultrastructural and, biochemical study, **Equine Veterinary Journal**, v. 22, n. 4, p. 255-263, 1990.

MILNE, E. M.; PIRIE, R. S.; MCGORUM, B. C.; SHAW, D. J. Evaluation of formalin-fixed ileum as the optimum method to diagnose equine dysautonomia (grass sickness) in simulated intestinal biopsies, **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 22, p. 248-252, 2010.

MONTANARI T. **Sistema digestório**. In: Histologia: texto, atlas e roteiro de aulas práticas. 3 Edição, Porto Alegre, cap. 8, p. 132-133, 2016.

MOORE, L. E. The advantages and disadvantages of endoscopy. **Clinical Techniques in Small Animal Practice**, v. 18, n. 4, p. 250-253, 2003.

MURRAY, M. How to perform gastroduodenoscopy. **Proceedings of the Annual Convention of the AAEP**, v. 48, p. 282-286, 2002.

NAHAS, S. C.; MARQUES, F. S.; ARAÚJO, S. A.; AISAKA, A. A.; NAHAS, C. S. R.; PINTO, R. A.; KISS, D. R. Colonoscopia como método diagnóstico e terapêutico das moléstias do intestino grosso: análise de 2.567 exames. **Revista Arquivos de Gastroenterologia**, v. 42, n. 2, p. 77-82, 2005.

NÓBREGA, F. S.; BECK, C. A. C.; FERREIRA, M. P.; VOLL, J. RAMOS, C. A.; SCARTON R. B. Videolaparoscopia topográfica de equinos em estação com três diferentes massas corpóreas. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 63, n. 4, p. 873-880, 2011.

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

PIHL, T. H.; SCHEEPERS, E.; SANZ, M.; GODDARD, A.; PAGE, P.; TOFT, N.; ANDERSEN, P. H.; JACOBSEN, S. Influence of disease process and duration on acute phase proteins in serum and peritoneal fluid of horses with colic. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 29, p. 651-658, 2015.

PIRIE, R. S.; JAGO, R. C.; HUDSON, P. H. Equine grass sickness. **Equine Veterinary Journal**, v. 46, p. 545-553, 2014.

PUSTERLA, N.; GEBHART, C. J. Equine proliferative enteropathy – a review of recent developments. **Equine Veterinary journal**, v. 45, p. 403-409, 2013.

RAGLE, C. Laparoscopy. In: MAIR, T.; DIVERS, T.; DUCHARME, N. **Manual of Equine Gastroenterology**. first published, Saunders, 2002. p. 41-46.

RAGLE, C.; FRANSSON, B. A. Laparoscopic skills and instrumentation, Fundamental laparoscopic skills. In: . RAGLE, C. **Advances in equine laparoscopy**. 1th Edition, Wiley-Blackwell, 2012. p. 3-57.

REEF, V. B.; WHITTIER, M.; GRISWOLD, A. Sonographic evaluation of the adult abdomen. **Clinical techniques in equine practice**, v. 3, p. 294-307, 2004.

REEVES, M. J.; SALMAN, M. D.; SMITH, G. Risk factors for equine acute abdominal disease (colic): Results from a multi-center-case-control study. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 26, p. 285-301, 1996.

ROSSIGNOL, F.; RIVIÈRI, C. M.; VITTE, A.; LECHARTIER, A.; BOENING, K. J. Standing laparoscopic inguinal hernioplasty using cyanoacrylate for preventing recurrence of acquired strangulated inguinal herniation in 10 stallions. **Veterinary Surgery**, v. 43, p. 6-11, 2014.

SAMUELSON D. A. **Sistema digestório I: Cavidade oral e canal alimentar.** In: Tratado de histologia veterinária, 1 Edição, São Paulo, Elsevier Editora, cap. 14, p. 310, 2007.

SCHAMBOURG, M. M.; MARCOUX, M. Laparoscopic intestinal exploration and full-thickness intestinal biopsy in standing horses: a pilot study. **Veterinary Surgery**, v. 35, p. 689-696, 2006.

SCHOLES, S. F. E.; VAILLANT, C.; PEACOCK, P.; EDWARDS, G. B.; KELLY, D. F. Diagnosis of grass sickness by ileal biopsy. **Veterinary Research**, v. 133, p. 7-10, 1993.

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

SILVA, L. C. L. C.; GANDOLFI, W.; ALVARENGA, J.; FANTONI, D. T. Estudo laparoscópico dos órgãos abdominais do equino por abordagem mediana ventral. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 34, n. 5, p. 211-217, 1997.

SILVA, L. C. L. C.; FERREIRA, M. A.; BACCARIN, R. Y. A.; FERNANDES, W. R. Aplicação clínica da laparoscopia em equinos. **Revista de Educação Continuada CRMV-SP**, v. 3, n. 3, p. 12-20, 2000.

SILVA, L. C. L. C.; STOPIGLIA, A. J.; FANTONI, D. T. Técnica de biopsia hepática em equino por laparoscopia. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 32, n. 3, p. 459-465, 2002.

SILVA, L. C. L. C.; ZOPPA, A. L. V.; HENDRICKSON, D. A. Equine Diagnostic Laparoscopy. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 28, n. 4, p. 247-254, 2008.

SPAGNOLO, J. D. **Avaliação do implante de pericárdio homólogo no recobrimento de anel vaginal de equinos por laparoscopia:** estudo experimental. 2010. 83 f., Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2010.

SUTTER, W. W.; HARDY, J. Laparoscopic repair of a small intestinal mesenteric rent in a Broodmare. **Veterinary Surgery**, v. 33, p. 92-95, 2004.

TABET, A. F. **Comparação entre duas técnicas de biopsia renal guiada por laparoscopia em equinos.** 2003. 73 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2003.

TABET, A. F.; SILVA, L. C. L. C.; SHINHORINI, I. L.; ZOPPA, A. L. V. Comparação entre duas técnicas de biopsia renal guiadas por laparoscopia em equinos. **Brazilian**

Journal of Veterinary Research and Animal Science, v. 42, n. 2, p. 150-156, 2005.

TAYLOR, F. Additional diagnostic procedures, Rectal biopsy. In: MAIR, T.; DIVERS, T.; DUCHARME, N. **Manual of Equine Gastroenterology**. first published, Saunders, 2002. p. 9-38.

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

THOMASSIAN, A. Afecções do Aparelho Digestivo. In: **Enfermidades dos Cavalos**. Botucatu, 4ª Edição, Editora Varela, 2005. cap. 12, p. 295-403.

UZAL, F. A.; ROBLES, C. A. Mal seco, a grass sickness-like syndrome of horses in Argentina. **Veterinary Research Communications**, v. 17, p. 449-457, 1993.

WALES, A. D.; WHITWELL, K. E. Potential role of multiple rectal biopsies in the diagnosis of equine grass sickness. **Veterinary Record**, v. 158, p. 372-377, 2006.

WILLARD, M.; LOVERING, S.; COHEN, N. D.; WEEKS, B. R. Quality of tissue specimens obtained endoscopically from the duodenum of dogs and cats. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 219, n. 4, p. 474-479, 2001.

WILLARD, M.; MANSELL, J. Diagnostic approach to gastrointestinal, pancreatic and hepatobiliary problems, Biopsy guidelines. In: WASHABAU, R. J.; DAY, M. J. **Canine & Feline Gastroenterology**. Saunders, 2013. p. 290-296.

WILSON, G. L. Laparoscopic examination of mares. **Journal of American Veterinary Medical Association**. V. 78 , n. 10, p. 1629-1633, 1983.

APÊNDICE

APÊNDICE A – Parâmetros de exame físico dos equinos nos períodos da manhã e tarde

E1 – Manhã															
Dia	Comp.	Atit.	Dor	Apet.	Fezes	Urina	Muc.	TPC	T. Cut.	Ausc. Tr.	Ausc. Pul.	FC	FR	T°C	Ausc. Ab.
Pré Op.	Alerta	Est.	-	+	Normais	Normal	Ros.	2"	2"	Normal	Normal	36	16	37,2	$\frac{++}{++} \mid \frac{2/3'}{++}$
1º	Apático	Est.	+	+	N/O	Normal	Ros.	2"	3"	Normal	Normal	52	32	37,9	$\frac{+}{++} \mid \frac{B}{+}$
2º	Apático	Est.	+	+	N/O	Normal	Ros.	2"	2"	Normal	Normal	52	24	37,7	$\frac{++}{+} \mid \frac{B}{++}$
3º	Calmo	Est.	+	+	Normais	Normal	Ros.	2"	2"	Normal	Normal	48	16	37,6	$\frac{++}{++} \mid \frac{1/3'}{++}$
4º	Calmo	Est.	-	+	Normais	Normal	Ros.	2"	2"	Normal	Normal	40	12	36,9	$\frac{++}{++} \mid \frac{2/3'}{++}$
5º	Alerta	Est.	-	+	Normais	Normal	Ros.	2"	2"	Normal	Normal	36	20	37,1	$\frac{++}{++} \mid \frac{2/3'}{++}$
6º	Calmo	Est.	-	+	Normais	Normal	Ros.	2"	2"	Normal	Normal	36	12	37,3	$\frac{++}{++} \mid \frac{2/3'}{++}$
7º	Calmo	Est.	-	+	Normais	Normal	Ros.	2"	3"	Normal	Normal	44	12	37,2	$\frac{++}{++} \mid \frac{1/3'}{++}$
8º	Calmo	Est.	-	+	Normais	Normal	Ros.	2"	2"	Normal	Normal	24	12	37,5	$\frac{++}{++} \mid \frac{2/3'}{++}$
9º	Calmo	Est.	-	+	Normais	Normal	Ros.	2"	2"	Normal	Normal	36	20	37,6	$\frac{++}{++} \mid \frac{1/3'}{++}$

10º	Calmo	Est.	-	+	Normais	Normal	Ros.	2''	2''	Normal	Normal	38	12	37,5	$\frac{++}{++} \mid \frac{2/3'}{++}$
11º	Calmo	Est.	-	+	Normais	Normal	Ros.	2''	2''	Normal	Normal	36	12	37,3	$\frac{++}{++} \mid \frac{2/3'}{++}$
12º	Calmo	Est.	-	+	Normais	Normal	Ros.	2''	2''	Normal	Normal	40	12	37,1	$\frac{++}{++} \mid \frac{1/3'}{++}$
13º	Calmo	Est.	-	+	Normais	Normal	Ros.	2''	2''	Normal	Normal	44	12	37,0	$\frac{++}{++} \mid \frac{1/3'}{++}$
14º	Calmo	Est.	-	+	Normais	Normal	Ros.	2''	2''	Normal	Normal	32	12	37,2	$\frac{++}{++} \mid \frac{2/3'}{++}$
15º	Calmo	Est.	-	+	Normais	Normal	Ros.	2''	2''	Normal	Normal	38	24	37,4	$\frac{++}{++} \mid \frac{2/3'}{++}$

Fonte: (CASTRO, L. M., 2016)

Comp. – comportamento; Atit. – atitude; Apet. – apetite; Muc. – mucosas; TPC – tempo de preenchimento capilar; T. Cut. – turgor cutâneo; Ausc. Tr. – auscultação traqueal; Ausc. Pul. – auscultação pulmonar; FC – frequência cardíaca; FR – frequência respiratória; T°C – temperatura; Ausc ab. – auscultação abdominal; Pré Op. – pré-operatório; N/O – não observado(a); Ros. – róseas; Est. – estação

E1 – Tarde															
Dia	Comp.	Atit.	Dor	Apet.	Fezes	Urina	Muc.	TPC	T. Cut.	Ausc. Tr.	Ausc. Pul.	FC	FR	T°C	Ausc. Ab.
Pré Op.	Calmo	Est.	-	+	Normais	Normal	Ros.	2"	2"	Normal	Normal	36	20	37,5	$\frac{++}{++} \mid \frac{2/3'}{++}$
1º	Apático	Est.	+	+	N/O	Normal	Ros.	3"	2"	Normal	Normal	48	30	38,2	$\frac{++}{+} \mid \frac{B}{+}$
2º	Apático	Est.	+	+	Normais	Normal	Ros.	2"	2"	Normal	Normal	48	16	37,9	$\frac{+}{+} \mid \frac{B}{+}$
3º	Calmo	Est.	-	+	Normais	Normal	Ros.	2"	2"	Normal	Normal	48	16	37,8	$\frac{++}{++} \mid \frac{B}{++}$
4º	Calmo	Est.	-	+	Normais	Normal	Ros.	2"	2"	Normal	Normal	44	16	38,0	$\frac{++}{++} \mid \frac{1/3'}{++}$
5º	Calmo	Est.	-	+	N/O	Normal	Ros.	2"	2"	Normal	Normal	40	16	38,1	$\frac{++}{++} \mid \frac{2/3'}{++}$
6º	Calmo	Est.	-	+	Normais	Normal	Ros.	2"	2"	Normal	Normal	40	12	38,0	$\frac{++}{++} \mid \frac{2/3'}{++}$
7º	Calmo	Est.	-	+	Normais	Normal	Ros.	2"	2"	Normal	Normal	42	16	37,8	$\frac{++}{++} \mid \frac{2/3'}{++}$
8º	Calmo	Est.	-	+	Normais	Normal	Ros.	2"	2"	Normal	Normal	36	20	37,7	$\frac{++}{++} \mid \frac{2/3'}{++}$
9º	Calmo	Est.	-	+	Normais	Normal	Ros.	2"	2"	Normal	Normal	40	16	37,9	$\frac{++}{++} \mid \frac{2/3'}{++}$
10º	Calmo	Est.	-	+	Normais	Normal	Ros.	2"	2"	Normal	Normal	36	16	37,5	$\frac{++}{++} \mid \frac{2/3'}{++}$

11º	Calmo	Est.	-	+	Normais	Normal	Ros.	2"	2"	Normal	Normal	40	16	38,0	$\frac{++}{++} \mid \frac{1/3'}{++}$
12º	Calmo	Est.	-	+	Normais	Normal	Ros.	2"	2"	Normal	Normal	36	12	37,6	$\frac{++}{++} \mid \frac{2/3'}{++}$
13º	Calmo	Est.	-	+	Normais	Normal	Ros.	2"	2"	Normal	Normal	36	12	38,0	$\frac{++}{++} \mid \frac{2/3'}{++}$
14º	Calmo	Est.	-	+	N/O	Normal	Ros.	2"	2"	Normal	Normal	36	16	37,9	$\frac{++}{++} \mid \frac{2/3'}{++}$
15º	Calmo	Est.	-	+	Normais	Normal	Ros.	2"	2"	Normal	Normal	36	16	37,7	$\frac{++}{++} \mid \frac{2/3'}{++}$

Fonte: (CASTRO, L. M., 2016)

Comp. – comportamento; Atit. – atitude; Apet. – apetite; Muc. – mucosas; TPC – tempo de preenchimento capilar; T. Cut. – turgor cutâneo; Ausc. Tr. – auscultação traqueal; Ausc. Pul. – auscultação pulmonar; FC – frequência cardíaca; FR – frequência respiratória; T°C – temperatura; Ausc ab. – auscultação abdominal; Pré Op. – pré-operatório; N/O – não observado(a); Ros. – róseas; Est. – estação

E2 – Manhã															
Dia	Comp.	Atit.	Dor	Apet.	Fezes	Urina	Muc.	TPC	T. Cut.	Ausc. Tr.	Ausc. Pul.	FC	FR	T°C	Ausc. Ab.
Pré Op.	Calmo	Est.	-	+	Normais	Normal	Ros.	2"	2"	Normal	Normal	40	12	37,5	$\frac{++}{++} \mid \frac{2/3'}{++}$
1º	Apático	Est.	+	+	Normais	Normal	Ros.	2"	2"	Normal	Normal	48	28	38,8	$\frac{+}{+} \mid \frac{B}{++}$
2º	Apático	Est.	-	+	Normais	Normal	Ros.	2"	2"	Normal	Normal	48	28	38,6	$\frac{++}{+} \mid \frac{1/3'}{+}$
3º	Calmo	Est.	-	+	Normais	Normal	Ros.	2"	2"	Normal	Normal	48	16	38,0	$\frac{++}{++} \mid \frac{2/3'}{++}$
4º	Calmo	Est.	-	+	Normais	Normal	Ros.	2"	2"	Normal	Normal	44	16	38,3	$\frac{++}{++} \mid \frac{2/3'}{++}$
5º	Calmo	Est.	-	+	Normais	Normal	Ros.	2"	2"	Normal	Normal	40	24	38,4	$\frac{++}{++} \mid \frac{1/3'}{++}$
6º	Calmo	Est.	-	+	Normais	Normal	Ros.	2"	2"	Normal	Normal	40	16	38,2	$\frac{++}{++} \mid \frac{1/3'}{++}$
7º	Calmo	Est.	-	+	Normais	Normal	Ros.	2"	2"	Normal	Normal	40	16	37,7	$\frac{++}{++} \mid \frac{2/3'}{++}$
8º	Calmo	Est.	-	+	Normais	Normal	Ros.	2"	2"	Normal	Normal	40	16	37,5	$\frac{++}{++} \mid \frac{1/3'}{++}$
9º	Calmo	Est.	-	+	Normais	Normal	Ros.	2"	2"	Normal	Normal	40	12	37,4	$\frac{++}{++} \mid \frac{2/3'}{++}$
10º	Calmo	Est.	-	+	Normais	Normal	Ros.	2"	2"	Normal	Normal	40	12	37,3	$\frac{++}{++} \mid \frac{1/3'}{++}$

11º	Calmo	Est.	-	+	Normais	Normal	Ros.	2''	2''	Normal	Normal	40	12	37,3	$\frac{++}{++} \mid \frac{1/3'}{++}$
12º	Calmo	Est.	-	+	Normais	Normal	Ros.	2''	2''	Normal	Normal	40	12	38,0	$\frac{++}{++} \mid \frac{1/3'}{++}$
13º	Calmo	Est.	-	+	Normais	Normal	Ros.	2''	2''	Normal	Normal	40	16	37,9	$\frac{++}{++} \mid \frac{2/3'}{++}$
14º	Calmo	Est.	-	+	Normais	Normal	Ros.	2''	2''	Normal	Normal	40	12	37,6	$\frac{++}{++} \mid \frac{1/3'}{++}$
15º	Calmo	Est.	-	+	Normais	Normal	Ros.	2''	2''	Normal	Normal	40	16	37,8	$\frac{++}{++} \mid \frac{2/3'}{++}$

Fonte: (CASTRO, L. M., 2016)

Comp. – comportamento; Atit. – atitude; Apet. – apetite; Muc. – mucosas; TPC – tempo de preenchimento capilar; T. Cut. – turgor cutâneo; Ausc. Tr. – auscultação traqueal; Ausc. Pul. – auscultação pulmonar; FC – frequência cardíaca; FR – frequência respiratória; T°C – temperatura; Ausc ab. – auscultação abdominal; Pré Op. – pré-operatório; N/O – não observado(a); Ros. – róseas; Est. – estação

E2 – Tarde															
Dia	Comp.	Atit.	Dor	Apet.	Fezes	Urina	Muc.	TPC	T. Cut.	Ausc. Tr.	Ausc. Pul.	FC	FR	T°C	Ausc. Ab.
Pré Op.	Calmo	Est.	-	+	Normais	Normal	Ros.	2"	2"	Normal	Normal	40	16	37,3	$\frac{++}{++} \mid \frac{2/3'}{++}$
1º	Apático	Est.	+	+	Normais	Normal	Ros.	2"	2"	Normal	Normal	52	28	38,6	$\frac{+}{+} \mid \frac{1/5'}{+}$
2º	Apático	Est.	-	+	N/O	Normal	Ros.	2"	2"	Normal	Normal	48	28	38,7	$\frac{+}{++} \mid \frac{1/5'}{+}$
3º	Calmo	Est.	-	+	Normais	N/O	Ros.	2"	2"	Normal	Normal	50	20	37,5	$\frac{++}{++} \mid \frac{2/3'}{++}$
4º	Calmo	Est.	-	+	Normais	Normal	Ros.	2"	2"	Normal	Normal	40	16	38,1	$\frac{++}{++} \mid \frac{2/3'}{++}$
5º	Calmo	Est.	-	+	Normais	Normal	Ros.	2"	2"	Normal	Normal	40	20	37,9	$\frac{++}{++} \mid \frac{1/3'}{++}$
6º	Calmo	Est.	-	+	N/O	Normal	Ros.	2"	2"	Normal	Normal	40	16	38,0	$\frac{++}{++} \mid \frac{1/3'}{++}$
7º	Calmo	Est.	-	+	Normais	Normal	Ros.	2"	2"	Normal	Normal	40	16	37,8	$\frac{++}{++} \mid \frac{2/3'}{++}$
8º	Calmo	Est.	-	+	Normais	Normal	Ros.	2"	2"	Normal	Normal	40	12	37,8	$\frac{++}{++} \mid \frac{2/3'}{++}$
9º	Calmo	Est.	-	+	Normais	Normal	Ros.	2"	2"	Normal	Normal	40	16	37,9	$\frac{++}{++} \mid \frac{2/3'}{++}$
10º	Calmo	Est.	-	+	Normais	Normal	Ros.	2"	2"	Normal	Normal	40	12	37,6	$\frac{++}{++} \mid \frac{1/3'}{++}$

11º	Calmo	Est.	-	+	Normais	Normal	Ros.	2''	2''	Normal	Normal	40	12	37,7	$\frac{++}{++} \mid \frac{2/3'}{++}$
12º	Calmo	Est.	-	+	Normais	Normal	Ros.	2''	2''	Normal	Normal	40	12	37,7	$\frac{++}{++} \mid \frac{2/3'}{++}$
13º	Calmo	Est.	-	+	Normais	Normal	Ros.	2''	2''	Normal	Normal	40	16	37,8	$\frac{++}{++} \mid \frac{2/3'}{++}$
14º	Calmo	Est.	-	+	Normais	Normal	Ros.	2''	2''	Normal	Normal	40	16	37,2	$\frac{++}{++} \mid \frac{2/3'}{++}$
15º	Calmo	Est.	-	+	Normais	Normal	Ros.	2''	2''	Normal	Normal	40	16	37,3	$\frac{++}{++} \mid \frac{2/3'}{++}$

Fonte: (CASTRO, L. M., 2016)

Comp. – comportamento; Atit. – atitude; Apet. – apetite; Muc. – mucosas; TPC – tempo de preenchimento capilar; T. Cut. – turgor cutâneo; Ausc. Tr. – auscultação traqueal; Ausc. Pul. – auscultação pulmonar; FC – frequência cardíaca; FR – frequência respiratória; T°C – temperatura; Ausc ab. – auscultação abdominal; Pré Op. – pré-operatório; N/O – não observado(a); Ros. – róseas; Est. – estação

3 – Manhã															
Dia	Comp.	Atit.	Dor	Apet.	Fezes	Urina	Muc.	TPC	T. Cut.	Ausc. Tr.	Ausc. Pul.	FC	FR	T°C	Ausc. Ab.
Pré Op.	Alerta	Est.	-	+	Normais	Normal	Ros.	2"	2"	Normal	Normal	40	24	37,6	$\frac{++}{++} \mid \frac{2/3'}{++}$
1º	Apático	Est.	-	+	N/O	Normal	Ros.	2"	2"	Normal	Normal	56	28	37,8	$\frac{+}{++} \mid \frac{B}{+}$
2º	Apático	Est.	-	+	Normais	Normal	Ros.	2"	3"	Normal	Normal	52	24	37,4	$\frac{++}{+} \mid \frac{1/5'}{+}$
3º	Alerta	Est.	-	+	Normais	Normal	Ros.	2"	2"	Normal	Normal	48	12	37,3	$\frac{++}{++} \mid \frac{1/3'}{++}$
4º	Alerta	Est.	-	+	Normais	Normal	Ros.	2"	2"	Normal	Normal	44	20	37,3	$\frac{++}{++} \mid \frac{2/3'}{++}$
5º	Alerta	Est.	-	+	Normais	Normal	Ros.	2"	2"	Normal	Normal	40	16	37,1	$\frac{++}{++} \mid \frac{2/3'}{++}$
6º	Alerta	Est.	-	+	Normais	Normal	Ros.	2"	2"	Normal	Normal	40	24	37,1	$\frac{++}{++} \mid \frac{2/3'}{++}$
7º	Alerta	Est.	-	+	Normais	Normal	Ros.	2"	2"	Normal	Normal	44	24	37,5	$\frac{++}{++} \mid \frac{2/3'}{++}$
8º	Alerta	Est.	-	+	Normais	Normal	Ros.	2"	2"	Normal	Normal	40	18	37,4	$\frac{++}{++} \mid \frac{2/3'}{++}$
9º	Alerta	Est.	-	+	Normais	Normal	Ros.	2"	2"	Normal	Normal	40	24	37,6	$\frac{++}{++} \mid \frac{2/3'}{++}$
10º	Alerta	Est.	-	+	Normais	Normal	Ros.	2"	2"	Normal	Normal	40	16	37,2	$\frac{++}{++} \mid \frac{2/3'}{++}$

11º	Alerta	Est.	-	+	Normais	Normal	Ros.	2''	2''	Normal	Normal	42	20	37,1	$\frac{++}{++} \mid \frac{2/3'}{++}$
12º	Alerta	Est.	-	+	Normais	Normal	Ros.	2''	2''	Normal	Normal	40	24	37,4	$\frac{++}{++} \mid \frac{1/3'}{++}$
13º	Alerta	Est.	-	+	Normais	Normal	Ros.	2''	2''	Normal	Normal	40	24	37,5	$\frac{++}{++} \mid \frac{2/3'}{++}$
14º	Alerta	Est.	-	+	Normais	Normal	Ros.	2''	2''	Normal	Normal	44	16	37,7	$\frac{++}{++} \mid \frac{2/3'}{++}$
15º	Alerta	Est.	-	+	Normais	Normal	Ros.	2''	2''	Normal	Normal	40	24	37,3	$\frac{++}{++} \mid \frac{2/3'}{++}$

Fonte: (CASTRO, L. M., 2016)

Comp. – comportamento; Atit. – atitude; Apet. – apetite; Muc. – mucosas; TPC – tempo de preenchimento capilar; T. Cut. – turgor cutâneo; Ausc. Tr. – auscultação traqueal; Ausc. Pul. – auscultação pulmonar; FC – frequência cardíaca; FR – frequência respiratória; T°C – temperatura; Ausc ab. – auscultação abdominal; Pré Op. – pré-operatório; N/O – não observado(a); Ros. – róseas; Est. – estação

E3 – Tarde															
Dia	Comp.	Atit.	Dor	Apet.	Fezes	Urina	Muc.	TPC	T. Cut.	Ausc. Tr.	Ausc. Pul.	FC	FR	T°C	Ausc. Ab.
Pré Op.	Alerta	Est.	-	+	Normais	Normal	Ros.	2''	2''	Normal	Normal	40	20	37,9	$\frac{++}{++} \mid \frac{2/3'}{++}$
1º	Apático	Est.	-	+	Normais	Normal	Ros.	2''	2''	Normal	Normal	52	32	37,7	$\frac{+}{+} \mid \frac{B}{++}$
2º	Apático	Est.	-	+	N/O	Normal	Ros.	2''	2''	Normal	Normal	52	24	37,6	$\frac{++}{++} \mid \frac{B}{+}$
3º	Alerta	Est.	-	+	Normais	Normal	Ros.	2''	2''	Normal	Normal	50	16	37,5	$\frac{++}{++} \mid \frac{2/3'}{++}$
4º	Alerta	Est.	-	+	N/O	Normal	Ros.	2''	2''	Normal	Normal	40	16	37,4	$\frac{++}{++} \mid \frac{2/3'}{++}$
5º	Alerta	Est.	-	+	Normais	Normal	Ros.	2''	2''	Normal	Normal	40	16	37,0	$\frac{++}{++} \mid \frac{2/3'}{++}$
6º	Alerta	Est.	-	+	Normais	Normal	Ros.	2''	2''	Normal	Normal	40	20	37,2	$\frac{++}{++} \mid \frac{2/3'}{++}$
7º	Alerta	Est.	-	+	Normais	Normal	Ros.	2''	2''	Normal	Normal	40	16	37,6	$\frac{++}{++} \mid \frac{2/3'}{++}$
8º	Alerta	Est.	-	+	Normais	Normal	Ros.	2''	2''	Normal	Normal	40	24	37,7	$\frac{++}{++} \mid \frac{1/3'}{++}$
9º	Alerta	Est.	-	+	Normais	Normal	Ros.	2''	2''	Normal	Normal	40	20	37,9	$\frac{++}{++} \mid \frac{2/3'}{++}$
10º	Alerta	Est.	-	+	Normais	Normal	Ros.	2''	2''	Normal	Normal	40	20	37,5	$\frac{++}{++} \mid \frac{2/3'}{++}$

11º	Alerta	Est.	-	+	Normais	Normal	Ros.	2"	2"	Normal	Normal	40	20	37,6	$\frac{++}{++} \mid \frac{2/3'}{++}$
12º	Alerta	Est.	-	+	Normais	Normal	Ros.	2"	2"	Normal	Normal	40	24	37,8	$\frac{++}{++} \mid \frac{1/3'}{++}$
13º	Alerta	Est.	-	+	Normais	Normal	Ros.	2"	2"	Normal	Normal	40	20	37,6	$\frac{++}{++} \mid \frac{2/3'}{++}$
14º	Alerta	Est.	-	+	Normais	Normal	Ros.	2"	2"	Normal	Normal	44	20	37,4	$\frac{++}{++} \mid \frac{2/3'}{++}$
15º	Alerta	Est.	-	+	Normais	Normal	Ros.	2"	2"	Normal	Normal	40	20	37,5	$\frac{++}{++} \mid \frac{2/3'}{++}$

Fonte: (CASTRO, L. M., 2016)

Comp. – comportamento; Atit. – atitude; Apet. – apetite; Muc. – mucosas; TPC – tempo de preenchimento capilar; T. Cut. – turgor cutâneo; Ausc. Tr. – auscultação traqueal; Ausc. Pul. – auscultação pulmonar; FC – frequência cardíaca; FR – frequência respiratória; T°C – temperatura; Ausc ab. – auscultação abdominal; Pré Op. – pré-operatório; N/O – não observado(a); Ros. – róseas; Est. – estação

E4 – Manhã															
Dia	Comp.	Atit.	Dor	Apet.	Fezes	Urina	Muc.	TPC	T. Cut.	Ausc. Tr.	Ausc. Pul.	FC	FR	T°C	Ausc. Ab.
Pré Op.	Calmo	Est.	-	+	Normais	Normal	Ros.	2"	2"	Normal	Normal	38	16	37,8	$\frac{++}{++} \mid \frac{2/3'}{++}$
1º	Apático	Est.	+	+	Normais	Normal	Ros.	3"	2"	Normal	Normal	80	56	39,0	$\frac{+}{+} \mid \frac{-}{+}$
2º	Apático	Est.	+	+	Normais	Normal	Ros.	2"	2"	Normal	Normal	64	28	39,3	$\frac{+}{-} \mid \frac{B}{B}$
3º	Apático	Est.	+	+	Normais	Normal	Ros.	3"	2"	Normal	Normal	56	24	38,8	$\frac{++}{++} \mid \frac{2/3'}{++}$
4º	Apático	Est.	+	+	Normais	Normal	Ros.	2"	2"	Normal	Normal	52	24	38,1	$\frac{++}{++} \mid \frac{1/3'}{++}$
5º	Calmo	Est.	+	+	Normais	Normal	Ros.	2"	2"	Normal	Normal	52	24	38,1	$\frac{++}{++} \mid \frac{2/3'}{++}$
6º	Calmo	Est.	+	+	Normais	Normal	Ros.	2"	2"	Normal	Normal	48	20	37,9	$\frac{++}{++} \mid \frac{1/3'}{++}$
7º	Calmo	Est.	-	+	Normais	Normal	Ros.	2"	2"	Normal	Normal	44	24	38,0	$\frac{++}{++} \mid \frac{1/3'}{++}$
8º	Calmo	Est.	-	+	Normais	Normal	Ros.	2"	2"	Normal	Normal	40	20	38,2	$\frac{++}{++} \mid \frac{2/3'}{++}$
9º	Calmo	Est.	-	+	Normais	Normal	Ros.	2"	2"	Normal	Normal	44	20	37,9	$\frac{++}{++} \mid \frac{2/3'}{++}$
10º	Calmo	Est.	-	+	Normais	Normal	Ros.	2"	2"	Normal	Normal	44	24	37,8	$\frac{++}{++} \mid \frac{2/3'}{++}$

11º	Calmo	Est.	-	+	Normais	Normal	Ros.	3"	2"	Normal	Normal	44	16	38,0	$\frac{++}{++} \mid \frac{2/3'}{++}$
12º	Calmo	Est.	-	+	Normais	Normal	Ros.	2"	2"	Normal	Normal	38	20	37,7	$\frac{++}{++} \mid \frac{2/3'}{++}$
13º	Calmo	Est.	-	+	Normais	Normal	Ros.	2"	2"	Normal	Normal	36	20	37,8	$\frac{++}{++} \mid \frac{2/3'}{++}$
14º	Calmo	Est.	-	+	Normais	Normal	Ros.	2"	2"	Normal	Normal	36	20	37,9	$\frac{++}{++} \mid \frac{2/3'}{++}$
15º	Calmo	Est.	-	+	Normais	Normal	Ros.	2"	2"	Normal	Normal	32	20	37,8	$\frac{++}{++} \mid \frac{2/3'}{++}$

Fonte: (CASTRO, L. M., 2016)

Comp. – comportamento; Atit. – atitude; Apet. – apetite; Muc. – mucosas; TPC – tempo de preenchimento capilar; T. Cut. – turgor cutâneo; Ausc. Tr. – auscultação traqueal; Ausc. Pul. – auscultação pulmonar; FC – frequência cardíaca; FR – frequência respiratória; T°C – temperatura; Ausc ab. – auscultação abdominal; Pré Op. – pré-operatório; N/O – não observado(a); Ros. – róseas; Est. – estação

E4 – Tarde															
Dia	Comp.	Atit.	Dor	Apet.	Fezes	Urina	Muc.	TPC	T. Cut.	Ausc. Tr.	Ausc. Pul.	FC	FR	T°C	Ausc. Ab.
Pré Op.	Calmo	Est.	-	+	Normais	Normal	Ros.	2"	2"	Normal	Normal	40	12	37,5	$\frac{++}{++} \mid \frac{2/3'}{++}$
1º	Apático	Est.	+	+	N/O	Normal	Ros.	2"	3"	Normal	Normal	76	52	39,2	$\frac{-}{+} \mid \frac{B}{+}$
2º	Apático	Est.	+	+	N/O	N/O	Ros.	2"	2"	Normal	Normal	60	32	39,0	$\frac{+}{+} \mid \frac{B}{+}$
3º	Apático	Est.	+	+	N/O	Normal	Ros.	2"	2"	Normal	Normal	50	22	38,9	$\frac{++}{++} \mid \frac{1/5'}{++}$
4º	Apático	Est.	+	+	Normais	Normal	Ros.	2"	2"	Normal	Normal	54	20	38,0	$\frac{++}{++} \mid \frac{1/3'}{++}$
5º	Calmo	Est.	+	+	Normais	Normal	Ros.	2"	2"	Normal	Normal	52	24	38,3	$\frac{++}{++} \mid \frac{1/3'}{++}$
6º	Calmo	Est.	+	+	Normais	N/O	Ros.	2"	2"	Normal	Normal	50	24	37,7	$\frac{++}{++} \mid \frac{2/3'}{++}$
7º	Calmo	Est.	-	+	Normais	Normal	Ros.	2"	2"	Normal	Normal	40	20	37,9	$\frac{++}{++} \mid \frac{2/3'}{++}$
8º	Calmo	Est.	-	+	Normais	Normal	Ros.	2"	2"	Normal	Normal	40	18	38,0	$\frac{++}{++} \mid \frac{2/3'}{++}$
9º	Calmo	Est.	-	+	Normais	Normal	Ros.	2"	2"	Normal	Normal	40	24	37,6	$\frac{++}{++} \mid \frac{2/3'}{++}$
10º	Calmo	Est.	-	+	Normais	Normal	Ros.	2"	2"	Normal	Normal	40	16	37,5	$\frac{++}{++} \mid \frac{2/3'}{++}$

11º	Calmo	Est.	-	+	Normais	Normal	Ros.	3"	2"	Normal	Normal	44	16	38,2	$\frac{++}{++} \mid \frac{2/3'}{++}$
12º	Calmo	Est.	-	+	Normais	Normal	Ros.	2"	2"	Normal	Normal	40	16	37,5	$\frac{++}{++} \mid \frac{1/3'}{++}$
13º	Calmo	Est.	-	+	Normais	Normal	Ros.	2"	2"	Normal	Normal	36	16	37,9	$\frac{++}{++} \mid \frac{2/3'}{++}$
14º	Calmo	Est.	-	+	Normais	Normal	Ros.	2"	2"	Normal	Normal	40	16	37,8	$\frac{++}{++} \mid \frac{2/3'}{++}$
15º	Calmo	Est.	-	+	Normais	Normal	Ros.	2"	2"	Normal	Normal	40	12	37,6	$\frac{++}{++} \mid \frac{2/3'}{++}$

Fonte: (CASTRO, L. M., 2016)

Comp. – comportamento; Atit. – atitude; Apet. – apetite; Muc. – mucosas; TPC – tempo de preenchimento capilar; T. Cut. – turgor cutâneo; Ausc. Tr. – auscultação traqueal; Ausc. Pul. – auscultação pulmonar; FC – frequência cardíaca; FR – frequência respiratória; T°C – temperatura; Ausc ab. – auscultação abdominal; Pré Op. – pré-operatório; N/O – não observado(a); Ros. – róseas; Est. – estação

E5 – Manhã															
Dia	Comp.	Atit.	Dor	Apet.	Fezes	Urina	Muc.	TPC	T. Cut.	Ausc. Tr.	Ausc. Pul.	FC	FR	T°C	Ausc. Ab.
Pré Op.	Calmo	Est.	-	+	Normais	Normal	Ros.	2"	2"	Normal	Normal	40	16	37,5	$\frac{++}{++} \mid \frac{2/3'}{++}$
1º	Apático	Est.	+	+	N/O	Normal	Ros.	3"	3"	Normal	Normal	48	32	37,2	$\frac{+}{++} \mid \frac{1/5'}{+}$
2º	Apático	Est.	-	+	N/O	Normal	Ros.	2"	2"	Normal	Normal	48	20	38,4	$\frac{++}{+} \mid \frac{1/5'}{+}$
3º	Calmo	Est.	-	+	Normais	Normal	Ros.	2"	2"	Normal	Normal	48	20	37,5	$\frac{++}{++} \mid \frac{2/3'}{++}$
4º	Calmo	Est.	-	+	Normais	Normal	Ros.	2"	2"	Normal	Normal	48	20	37,5	$\frac{++}{++} \mid \frac{2/3'}{++}$
5º	Calmo	Est.	-	+	Normais	Normal	Ros.	3"	2"	Normal	Normal	48	20	37,3	$\frac{++}{++} \mid \frac{2/3'}{++}$
6º	Calmo	Est.	-	+	Normais	Normal	Ros.	2"	2"	Normal	Normal	44	20	37,4	$\frac{++}{++} \mid \frac{2/3'}{++}$
7º	Calmo	Est.	-	+	Normais	Normal	Ros.	2"	2"	Normal	Normal	44	20	38,1	$\frac{++}{++} \mid \frac{2/3'}{++}$
8º	Calmo	Est.	-	+	Normais	Normal	Ros.	2"	2"	Normal	Normal	44	20	37,9	$\frac{++}{++} \mid \frac{2/3'}{++}$
9º	Calmo	Est.	-	+	Normais	Normal	Ros.	2"	2"	Normal	Normal	40	20	37,4	$\frac{++}{++} \mid \frac{2/3'}{++}$
10º	Calmo	Est.	-	+	Normais	Normal	Ros.	2"	2"	Normal	Normal	40	28	37,5	$\frac{++}{++} \mid \frac{2/3'}{++}$

11º	Calmo	Est.	-	+	Normais	Normal	Ros.	3"	2"	Normal	Normal	40	20	37,1	$\frac{++}{++} \mid \frac{2/3'}{++}$
12º	Calmo	Est.	-	+	Normais	Normal	Ros.	2"	2"	Normal	Normal	40	20	37,3	$\frac{++}{++} \mid \frac{2/3'}{++}$
13º	Calmo	Est.	-	+	Normais	Normal	Ros.	2"	2"	Normal	Normal	40	20	37,3	$\frac{++}{++} \mid \frac{1/3'}{++}$
14º	Calmo	Est.	-	+	Normais	Normal	Ros.	2"	2"	Normal	Normal	40	20	37,5	$\frac{++}{++} \mid \frac{2/3'}{++}$
15º	Calmo	Est.	-	+	Normais	Normal	Ros.	2"	2"	Normal	Normal	40	20	37,4	$\frac{++}{++} \mid \frac{2/3'}{++}$

Fonte: (CASTRO, L. M., 2016)

Comp. – comportamento; Atit. – atitude; Apet. – apetite; Muc. – mucosas; TPC – tempo de preenchimento capilar; T. Cut. – turgor cutâneo; Ausc. Tr. – auscultação traqueal; Ausc. Pul. – auscultação pulmonar; FC – frequência cardíaca; FR – frequência respiratória; T°C – temperatura; Ausc ab. – auscultação abdominal; Pré Op. – pré-operatório; N/O – não observado(a); Ros. – róseas; Est. – estação

E5 – Tarde															
Dia	Comp.	Atit.	Dor	Apet.	Fezes	Urina	Muc.	TPC	T. Cut.	Ausc. Tr.	Ausc. Pul.	FC	FR	T°C	Ausc. Ab.
Pré Op.	Calmo	Est.	-	+	Normais	Normal	Ros.	2"	2"	Normal	Normal	40	20	37,4	$\frac{++}{++} \mid \frac{2/3'}{++}$
1º	Apático	Est.	+	+	N/O	Normal	Ros.	2"	2"	Normal	Normal	48	28	37,3	$\frac{+}{++} \mid \frac{1/5'}{++}$
2º	Apático	Est.	-	+	Normais	Normal	Ros.	2"	2"	Normal	Normal	48	20	38,1	$\frac{+}{+} \mid \frac{1/3'}{++}$
3º	Calmo	Est.	-	+	Normais	Normal	Ros.	2"	2"	Normal	Normal	48	20	37,3	$\frac{++}{++} \mid \frac{2/3'}{++}$
4º	Calmo	Est.	-	+	Normais	Normal	Ros.	2"	2"	Normal	Normal	48	20	37,4	$\frac{++}{++} \mid \frac{2/3'}{++}$
5º	Calmo	Est.	-	+	Normais	Normal	Ros.	2"	2"	Normal	Normal	48	20	37,2	$\frac{++}{++} \mid \frac{2/3'}{++}$
6º	Calmo	Est.	-	+	Normais	Normal	Ros.	2"	2"	Normal	Normal	40	20	37,1	$\frac{++}{++} \mid \frac{2/3'}{++}$
7º	Calmo	Est.	-	+	Normais	Normal	Ros.	2"	2"	Normal	Normal	40	20	37,8	$\frac{++}{++} \mid \frac{2/3'}{++}$
8º	Calmo	Est.	-	+	Normais	Normal	Ros.	2"	2"	Normal	Normal	40	20	37,7	$\frac{++}{++} \mid \frac{2/3'}{++}$
9º	Calmo	Est.	-	+	Normais	Normal	Ros.	2"	2"	Normal	Normal	40	20	37,5	$\frac{++}{++} \mid \frac{1/3'}{++}$
10º	Calmo	Est.	-	+	Normais	Normal	Ros.	2"	2"	Normal	Normal	40	20	37,6	$\frac{++}{++} \mid \frac{2/3'}{++}$

11º	Calmo	Est.	-	+	Normais	Normal	Ros.	3"	2"	Normal	Normal	40	20	37,3	$\frac{++}{++} \mid \frac{2/3'}{++}$
12º	Calmo	Est.	-	+	Normais	Normal	Ros.	2"	2"	Normal	Normal	40	20	37,1	$\frac{++}{++} \mid \frac{2/3'}{++}$
13º	Calmo	Est.	-	+	Normais	Normal	Ros.	2"	2"	Normal	Normal	40	20	37,4	$\frac{++}{++} \mid \frac{2/3'}{++}$
14º	Calmo	Est.	-	+	Normais	Normal	Ros.	2"	2"	Normal	Normal	40	20	37,6	$\frac{++}{++} \mid \frac{2/3'}{++}$
15º	Calmo	Est.	-	+	Normais	Normal	Ros.	2"	2"	Normal	Normal	40	20	37,7	$\frac{++}{++} \mid \frac{2/3'}{++}$

Fonte: (CASTRO, L. M., 2016)

Comp. – comportamento; Atit. – atitude; Apet. – apetite; Muc. – mucosas; TPC – tempo de preenchimento capilar; T. Cut. – turgor cutâneo; Ausc. Tr. – auscultação traqueal; Ausc. Pul. – auscultação pulmonar; FC – frequência cardíaca; FR – frequência respiratória; T°C – temperatura; Ausc ab. – auscultação abdominal; Pré Op. – pré-operatório; N/O – não observado(a); Ros. – róseas; Est. – estação

E6 – Manhã															
Dia	Comp.	Atit.	Dor	Apet.	Fezes	Urina	Muc.	TPC	T. Cut.	Ausc. Tr.	Ausc. Pul.	FC	FR	T°C	Ausc. Ab.
Pré Op.	Calmo	Est.	-	+	Normais	Normal	Ros.	2"	2"	Normal	Normal	36	12	37,6	$\frac{++}{++} \mid \frac{2/3'}{++}$
1º	Apático	Est.	-	+	Normais	Normal	Ros.	2"	2"	Normal	Normal	52	28	37,4	$\frac{+}{B} \mid \frac{B}{++}$
2º	Apático	Est.	-	+	N/O	Normal	Ros.	2"	2"	Normal	Normal	48	24	37,4	$\frac{+}{+} \mid \frac{B}{+}$
3º	Alerta	Est.	-	+	Normais	Normal	Ros.	2"	2"	Normal	Normal	46	24	37,3	$\frac{++}{++} \mid \frac{2/3'}{++}$
4º	Alerta	Est.	-	+	Normais	Normal	Ros.	2"	2"	Normal	Normal	48	20	37,3	$\frac{++}{++} \mid \frac{2/3'}{++}$
5º	Calmo	Est.	-	+	Normais	Normal	Ros.	2"	2"	Normal	Normal	44	20	37,1	$\frac{++}{++} \mid \frac{2/3'}{++}$
6º	Calmo	Est.	-	+	Normais	Normal	Ros.	2"	2"	Normal	Normal	40	16	37,5	$\frac{++}{++} \mid \frac{2/3'}{++}$
7º	Calmo	Est.	-	+	Normais	Normal	Ros.	2"	2"	Normal	Normal	36	12	37,7	$\frac{++}{++} \mid \frac{1/3'}{++}$
8º	Calmo	Est.	-	+	Normais	Normal	Ros.	2"	2"	Normal	Normal	36	20	37,4	$\frac{++}{++} \mid \frac{2/3'}{++}$
9º	Calmo	Est.	-	+	Normais	Normal	Ros.	2"	2"	Normal	Normal	40	16	37,5	$\frac{++}{++} \mid \frac{1/3'}{++}$
10º	Calmo	Est.	-	+	Normais	Normal	Ros.	2"	2"	Normal	Normal	36	12	37,8	$\frac{++}{++} \mid \frac{2/3'}{++}$

11º	Calmo	Est.	-	+	Normais	Normal	Ros.	2"	2"	Normal	Normal	36	16	37,6	$\frac{++}{++} \mid \frac{2/3'}{++}$
12º	Calmo	Est.	-	+	Normais	Normal	Ros.	2"	2"	Normal	Normal	40	24	37,5	$\frac{++}{++} \mid \frac{2/3'}{++}$
13º	Calmo	Est.	-	+	Normais	Normal	Ros.	2"	2"	Normal	Normal	36	20	37,9	$\frac{++}{++} \mid \frac{2/3'}{++}$
14º	Calmo	Est.	-	+	Normais	Normal	Ros.	2"	2"	Normal	Normal	36	12	38,0	$\frac{++}{++} \mid \frac{1/3'}{++}$
15º	Calmo	Est.	-	+	Normais	Normal	Ros.	2"	2"	Normal	Normal	36	16	38,1	$\frac{++}{++} \mid \frac{2/3'}{++}$

Fonte: (CASTRO, L. M., 2016)

Comp. – comportamento; Atit. – atitude; Apet. – apetite; Muc. – mucosas; TPC – tempo de preenchimento capilar; T. Cut. – turgor cutâneo; Ausc. Tr. – auscultação traqueal; Ausc. Pul. – auscultação pulmonar; FC – frequência cardíaca; FR – frequência respiratória; T°C – temperatura; Ausc ab. – auscultação abdominal; Pré Op. – pré-operatório; N/O – não observado(a); Ros. – róseas; Est. – estação

E6 – Tarde															
Dia	Comp.	Atit.	Dor	Apet.	Fezes	Urina	Muc.	TPC	T. Cut.	Ausc. Tr.	Ausc. Pul.	FC	FR	T°C	Ausc. Ab.
Pré Op.	Calmo	Est.	-	+	Normais	Normal	Ros.	2"	2"	Normal	Normal	40	16	37,7	$\frac{++}{++} \mid \frac{2/3'}{++}$
1º	Apático	Est.	-	+	Normais	Normal	Ros.	2"	2"	Normal	Normal	54	32	37,5	$\frac{+}{+} \mid \frac{1/5'}{+}$
2º	Apático	Est.	-	+	Normais	Normal	Ros.	2"	2"	Normal	Normal	52	20	37,2	$\frac{++}{+} \mid \frac{B}{++}$
3º	Alerta	Est.	-	+	Normais	Normal	Ros.	2"	2"	Normal	Normal	48	20	37,3	$\frac{++}{++} \mid \frac{2/3'}{++}$
4º	Alerta	Est.	-	+	Normais	Normal	Ros.	2"	2"	Normal	Normal	48	16	37,8	$\frac{++}{++} \mid \frac{1/3'}{++}$
5º	Calmo	Est.	-	+	Normais	Normal	Ros.	2"	2"	Normal	Normal	40	18	37,6	$\frac{++}{++} \mid \frac{2/3'}{++}$
6º	Calmo	Est.	-	+	Normais	Normal	Ros.	2"	2"	Normal	Normal	42	20	37,8	$\frac{++}{++} \mid \frac{2/3'}{++}$
7º	Calmo	Est.	-	+	Normais	Normal	Ros.	2"	2"	Normal	Normal	38	16	37,3	$\frac{++}{++} \mid \frac{2/3'}{++}$
8º	Calmo	Est.	-	+	Normais	Normal	Ros.	2"	2"	Normal	Normal	40	20	37,5	$\frac{++}{++} \mid \frac{2/3'}{++}$
9º	Calmo	Est.	-	+	Normais	Normal	Ros.	2"	2"	Normal	Normal	40	18	37,6	$\frac{++}{++} \mid \frac{2/3'}{++}$
10º	Calmo	Est.	-	+	Normais	Normal	Ros.	2"	2"	Normal	Normal	36	16	37,8	$\frac{++}{++} \mid \frac{2/3'}{++}$

11º	Calmo	Est.	-	+	Normais	Normal	Ros.	2"	2"	Normal	Normal	36	18	37,6	$\frac{++}{++} \mid \frac{2/3'}{++}$
12º	Calmo	Est.	-	+	Normais	Normal	Ros.	2"	2"	Normal	Normal	36	20	37,5	$\frac{++}{++} \mid \frac{2/3'}{++}$
13º	Calmo	Est.	-	+	Normais	Normal	Ros.	2"	2"	Normal	Normal	36	16	37,7	$\frac{++}{++} \mid \frac{2/3'}{++}$
14º	Calmo	Est.	-	+	Normais	Normal	Ros.	2"	2"	Normal	Normal	36	16	37,9	$\frac{++}{++} \mid \frac{2/3'}{++}$
15º	Calmo	Est.	-	+	Normais	Normal	Ros.	2"	2"	Normal	Normal	36	16	37,8	$\frac{++}{++} \mid \frac{2/3'}{++}$

Fonte: (CASTRO, L. M., 2016)

Comp. – comportamento; Atit. – atitude; Apet. – apetite; Muc. – mucosas; TPC – tempo de preenchimento capilar; T. Cut. – turgor cutâneo; Ausc. Tr. – auscultação traqueal; Ausc. Pul. – auscultação pulmonar; FC – frequência cardíaca; FR – frequência respiratória; T°C – temperatura; Ausc ab. – auscultação abdominal; Pré Op. – pré-operatório; N/O – não observado(a); Ros. – róseas; Est. – estação

APÊNDICE B – Resultados dos hemogramas dos equinos

Animal E1

Dias	Hem (x 10 ⁶ /mm ³)	Hb (g/dL)	Ht (%)	VCM (fl)	HCM (pg)	CHCM (%)	Leuc. T. (x 10 ³ /mm ³)	Neu. (/mm ³)	Eos. (/mm ³)	Baso. (/mm ³)	Linf. (/mm ³)	Mon. (/mm ³)
D0	7,45	11,3	36	48,32	15,16	31,38	7.100	1.917	71	71	4.828	213
D1	7,25	11	33	45,51	15,17	33,33	9.300	5.301	0	0	3.813	186
D2	7,4	11,3	32	43,24	15,27	35,31	8.400	2.604	168	84	5.292	168
D3	6,65	11	34	51,12	16,54	32,35	8.400	1.764	252	0	5.880	504
D5	8,62	12,6	36	41,76	14,61	35	10.700	3.210	0	107	7.276	107
D7	7,15	11,2	37	51,74	15,66	30,27	10.300	3.914	103	0	6.077	206
D10	7,2	12	32	44,44	16,66	37,5	11.300	5.085	0	113	5.876	226
D14	8	11	35	43,75	13,75	31,42	11.700	5.499	0	0	6.084	117
D21	8,45	12	35	41,42	14,20	34,28	15.500	5.890	0	0	8.835	620
D30	7,35	11,2	35	47,61	15,23	32	10.700	4.173	214	0	5.992	321

Fonte: (CASTRO, L. M., 2016)

Hem – hemácias; Hb – hemoglobina; Ht – hematócrito; Leuc. T. – leucócitos totais; Neu. – neutrófilos; Eos. – eosinófilos; Bas. – basófilos; Linf. – linfócitos; Mon. – monócitos; Os resultados do diferencial de leucócitos são expressos em valor absoluto.

Animal E2

Dias	Hem (x 10 ⁶ /mm ³)	Hb (g/dL)	Ht (%)	VCM (fl)	HCM (pg)	CHCM (%)	Leuc. T. (x 10 ³ /mm ³)	Neu. (/mm ³)	Eos. (/mm ³)	Baso. (/mm ³)	Linf. (/mm ³)	Mon. (/mm ³)
D0	7,4	11	32	43,24	14,86	34,37	8.400	3.192	168	84	4.620	336
D1	6,55	12	32	48,85	18,32	35	6.000	3.840	0	0	1.980	180
D2	6,42	11,4	33	51,40	17,75	34,54	8.000	1.840	80	0	5.520	480
D3	6,55	11,4	34	51,90	17,40	33,52	7.200	2.736	144	144	4.032	144
D5	7,31	11,3	33	45,14	15,45	34,24	6.400	2.112	64	0	4.032	192
D7	7,4	11	35	47,29	14,86	31,42	11.800	6.844	118	0	4.130	708
D10	7,35	11	34	46,25	14,96	32,35	9.300	3.999	279	93	4.278	651
D14	8,07	11	33	40,89	13,63	33,33	9.400	3.478	0	0	5.734	188
D21	8,4	11	35	41,66	13,09	31,42	9.100	3.276	0	91	5.551	182
D30	7,8	11	34	43,58	14,10	32,35	9.100	4.459	182	91	4.186	182

Fonte: (CASTRO, L. M., 2016)

Hem – hemácias; Hb – hemoglobina; Ht – hematócrito; Leuc. T. – leucócitos totais; Neu. – neutrófilos; Eos. – eosinófilos; Bas. – basófilos; Linf. – linfócitos; Mon. – monócitos; Os resultados do diferencial de leucócitos são expressos em valor absoluto.

Animal E3

Dias	Hem (x 10 ⁶ /mm ³)	Hb (g/dL)	Ht (%)	VCM (fl)	HCM (pg)	CHCM (%)	Leuc. T. (x 10 ³ /mm ³)	Neu. (/mm ³)	Eos. (/mm ³)	Baso. (/mm ³)	Linf. (/mm ³)	Mon. (/mm ³)
D0	9,1	11,2	33	36,26	12,30	33,93	7.800	4.446	78	0	2.964	312
D1	7,3	11	32	43,83	15,06	34,37	8.500	5.865	0	0	2.550	85
D2	8,45	11	32	37,86	13,01	34,37	11.100	2.664	0	0	7.770	666
D3	7,85	11	32	40,76	14,01	34,37	8.800	2.640	352	0	5.368	440
D5	8,25	11	32	38,78	13,33	34,37	6.500	1.300	130	65	4.680	325
D7	7,5	11,3	36	48	15,06	31,38	12.100	5.687	242	0	5.808	363
D10	9,03	12	37	40,97	13,28	32,43	13.700	6.576	137	0	6.576	411
D14	7,55	11,2	36	47,68	14,83	31,11	11.600	4.756	0	0	6.496	348
D21	8,45	12,4	37	43,78	14,67	33,51	12.400	5.828	0	0	6.324	248
D30	9,55	12,2	38	39,79	12,77	32,10	13.100	5.502	131	0	7.336	131

Fonte: (CASTRO, L. M., 2016)

Hem – hemácias; Hb – hemoglobina; Ht – hematócrito; Leuc. T. – leucócitos totais; Neu. – neutrófilos; Eos. – eosinófilos; Bas. – basófilos; Linf. – linfócitos; Mon. – monócitos; Os resultados do diferencial de leucócitos são expressos em valor absoluto.

Animal E4

Dias	Hem (x 10 ⁶ /mm ³)	Hb (g/dL)	Ht (%)	VCM (fl)	HCM (pg)	CHCM (%)	Leuc. T. (x 10 ³ /mm ³)	Neu. (/mm ³)	Eos. (/mm ³)	Baso. (/mm ³)	Linf. (/mm ³)	Mon. (/mm ³)
D0	9,3	12,3	39	41,94	13,23	31,54	12.000	5.760	0	0	6.000	240
D1	6,7	10,8	33	49,25	16,12	32,73	6.600	4.554	0	0	1.848	132
D2	7,35	9,9	31	42,18	13,47	31,94	8.400	4.956	0	0	2.856	588
D3	5,75	8,8	25	43,48	15,3	35,2	9.500	5.035	95	0	4.085	285
D5	5,75	9	27	46,96	15,65	33,33	13.800	9.246	0	0	3.450	1.104
D7	6,35	7,9	26	40,94	12,44	30,38	17.000	10.710	340	0	4.930	1.020
D10	6	7,3	23	38,33	12,17	31,74	14.500	10.440	0	0	3.770	290
D14	6,1	9	29	47,54	14,75	31,03	21.600	14.472	216	0	6.264	648
D21	6,75	9,4	30	44,44	13,93	31,33	9.500	5.890	95	0	3.420	95
D30	6,05	9,4	28	46,28	15,54	33,57	10.200	5.406	102	0	4.488	204

Fonte: (CASTRO, L. M., 2016)

Hem – hemácias; Hb – hemoglobina; Ht – hematócrito; Leuc. T. – leucócitos totais; Neu. – neutrófilos; Eos. – eosinófilos; Bas. – basófilos; Linf. – linfócitos; Mon. – monócitos; Os resultados do diferencial de leucócitos são expressos em valor absoluto.

Animal E5

Dias	Hem (x 10 ⁶ /mm ³)	Hb (g/dL)	Ht (%)	VCM (fl)	HCM (pg)	CHCM (%)	Leuc. T. (x 10 ³ /mm ³)	Neu. (/mm ³)	Eos. (/mm ³)	Baso. (/mm ³)	Linf. (/mm ³)	Mon. (/mm ³)
D0	7	12	35	50	17,14	34,28	11.200	4.144	224	0	6.608	224
D1	7,05	12,2	36	51,06	17,30	33,88	11.600	7.076	0	0	4.176	348
D2	7,3	12	36	49,31	16,43	33,33	10.800	3.240	216	108	7.128	108
D3	7,1	12,1	35	49,29	17,04	34,57	9.700	3.686	97	0	5.723	194
D5	7	11,8	36	51,42	16,85	32,77	6.300	2.268	126	0	3.528	378
D7	7,3	12	35	47,94	16,43	34,28	12.100	4.114	121	0	7.381	484
D10	9,09	12,6	37	40,70	13,86	34,05	16.300	5.542	0	0	10.269	489
D14	7,45	12,4	36	48,32	16,10	34,44	16.600	8.798	332	166	6.806	498
D21	6,83	12	35	51,24	17,56	34,28	15.200	2.325	265	0	5.532	476
D30	7,2	12,5	36	50	17,36	34,72	14.400	6.624	144	0	7.488	144

Fonte: (CASTRO, L. M., 2016)

Hem – hemácias; Hb – hemoglobina; Ht – hematócrito; Leuc. T. – leucócitos totais; Neu. – neutrófilos; Eos. – eosinófilos; Bas. – basófilos; Linf. – linfócitos; Mon. – monócitos; Os resultados do diferencial de leucócitos são expressos em valor absoluto.

Animal E6

Dias	Hem (x 10 ⁶ /mm ³)	Hb (g/dL)	Ht (%)	VCM (fl)	HCM (pg)	CHCM (%)	Leuc. T. (x 10 ³ /mm ³)	Neu. (/mm ³)	Eos. (/mm ³)	Baso. (/mm ³)	Linf. (/mm ³)	Mon. (/mm ³)
D0	7,51	13	38	50,59	17,31	34,21	9.500	5.320	0	0	3.895	285
D1	7,35	12,8	38	51,70	17	33,68	12.700	7.336	0	0	4.826	508
D2	7,32	13,1	38	51,91	17,89	34,47	4.600	1.472	0	0	2.990	92
D3	7,3	13	38	52,05	17,80	34,21	6.000	2.580	0	0	3.060	360
D5	7,5	12,9	38	50,66	17,20	33,94	5.800	3.074	0	0	2.552	174
D7	7,4	13,2	38	51,35	17,83	34,73	9.200	3.956	0	0	4.876	368
D10	7,38	13	38	51,49	17,61	34,21	12.300	8.241	0	0	3.813	246
D14	7,35	12,5	38	51,70	17	32,10	9.600	6.048	0	0	3.360	192
D21	7,32	13,1	38	51,91	17,89	34,47	8.800	7.215	0	0	3.267	273
D30	7,45	12,7	38	51	17,04	33,42	8.200	5.002	0	164	2.952	81

Fonte: (CASTRO, L. M., 2016)

Hem – hemácias; Hb – hemoglobina; Ht – hematócrito; Leuc. T. – leucócitos totais; Neu. – neutrófilos; Eos. – eosinófilos; Bas. – basófilos; Linf. – linfócitos; Mon. – monócitos; Os resultados do diferencial de leucócitos são expressos em valor absoluto.

APÊNDICE C – Resultados dos exames bioquímicos dos equinos**Animal E1**

Dias	GGT (UI/L)	AST (UI/L)	Uréia (mg/dL)	Creatinina (mg/dL)	Prot. Total (g/dL)
D0	11	216	44	1,59	7,2
D1	11	217	46	1,5	6,8
D2	11	212	49	1,49	7
D3	13	213	51	1,49	6,4
D5	13	251	37	1,32	7,2
D7	12	242	48	1,76	6
D10	11	212	39	1,53	6,6
D14	13	184	42	1,58	6,4
D21	12	167	47	1,67	6,8
D30	11	155	44	1,86	6,6

Fonte: (CASTRO, L. M., 2016)

GGT – gama glutamiltransferase; AST – aspartato aminotransferase; Prot. Total – proteína total.

Animal E2

Dias	GGT (UI/L)	AST (UI/L)	Uréia (mg/dL)	Creatinina (mg/dL)	Prot. Total (g/dL)
D0	12	241	49	1,27	7,2
D1	12	167	44	1,22	6,6
D2	11	192	47	1,19	6,6
D3	10	232	48	1,16	6,2
D5	13	187	44	1,18	6,8
D7	12	185	47	1,39	6,8
D10	9	166	41	1,21	6,6
D14	12	247	50	1,32	7,2
D21	8	252	43	1,45	6,8
D30	12	189	42	1,73	6,8

Fonte: (CASTRO, L. M., 2016)

GGT – gama glutamiltransferase; AST – aspartato aminotransferase; Prot. Total – proteína total.

Animal E3

Dias	GGT (UI/L)	AST (UI/L)	Uréia (mg/dL)	Creatinina (mg/dL)	Prot. Total (g/dL)
D0	8	231	47	1,26	7,4
D1	10	186	39	1,18	6,6
D2	10	168	45	1,23	6,4
D3	10	244	36	1,07	6,6
D5	8	180	38	1,27	6,2
D7	8	177	42	1,42	6,4
D10	8	172	34	1,34	6,2
D14	12	174	45	1,25	6
D21	10	251	40	1,32	6
D30	7	210	47	1,73	6,6

Fonte: (CASTRO, L. M., 2016)

GGT – gama glutamiltransferase; AST – aspartato aminotransferase; Prot. Total – proteína total.

Animal E4

Dias	GGT (UI/L)	AST (UI/L)	Uréia (mg/dL)	Creatinina (mg/dL)	Prot. Total (g/dL)
D0	13	328	48	1,49	7,2
D1	10	321	49	1,9	6,4
D2	10	307	49	1,4	6
D3	10	281	35	1,18	6,4
D5	10	250	33	1,14	7
D7	11	216	34	1,12	6,6
D10	11	202	34	1,15	6,8
D14	10	182	30	1,04	7
D21	10	203	38	1,11	6,6
D30	10	246	51	1,9	6,4

Fonte: (CASTRO, L. M., 2016)

GGT – gama glutamiltransferase; AST – aspartato aminotransferase; Prot. Total – proteína total.

Animal E5

Dias	GGT (UI/L)	AST (UI/L)	Uréia (mg/dL)	Creatinina (mg/dL)	Prot. Total (g/dL)
D0	13	357	42	1,34	6,8
D1	11	359	38	1,38	6,6
D2	11	348	39	1,29	7
D3	10	273	39	1,05	6,8
D5	11	309	36	1,38	6,2
D7	11	305	41	1,36	6,4
D10	8	335	37	1,42	7,2
D14	10	311	37	1,31	7
D21	11	331	51	1,56	6,6
D30	9	327	46	1,78	6,4

Fonte: (CASTRO, L. M., 2016)

GGT – gama glutamiltransferase; AST – aspartato aminotransferase; Prot. Total – proteína total.

Animal E6

Dias	GGT (UI/L)	AST (UI/L)	Uréia (mg/dL)	Creatinina (mg/dL)	Prot. Total (g/dL)
D0	13	293	50	1,46	6,2
D1	12	304	48	1,9	6
D2	10	318	44	1,12	6
D3	11	295	44	1,64	6
D5	7	279	36	1,28	6,2
D7	7	263	38	1,53	5,8
D10	11	267	38	1,46	6,2
D14	13	249	33	1,45	6,2
D21	11	278	49	1,77	6,2
D30	11	273	47	1,9	6,2

Fonte: (CASTRO, L. M., 2016)

GGT – gama glutamiltransferase; AST – aspartato aminotransferase; Prot. Total – proteína total.

APÊNDICE D – Análise histológica de cada avaliador das biopsias de jejuno

Avaliador 1

Animal	Nº Fr.	Autólise	Escore 0	Escore 1	Escore 2	Viáveis	Inviáveis	0 = Inadequada 1 = Adequada
E1	10	0	2	3	5	8	2	1
E2	10	0	2	2	6	8	2	1
E3	10	0	2	5	3	8	2	1
E4	12	0	2	7	3	10	2	1
E5	12	0	6	4	2	6	6	1
E6	12	0	5	5	2	7	5	1

Fonte: (CASTRO, L. M., 2016)

Nº Fr. – número de fragmentos

Avaliador 2

Animal	Nº Fr.	Autólise	Escore 0	Escore 1	Escore 2	Viáveis	Inviáveis	0 = Inadequada 1 = Adequada
E1	10	0	3	4	3	7	3	1
E2	10	0	3	5	2	7	3	1
E3	10	0	4	4	2	6	4	1
E4	12	0	4	7	1	8	4	1
E5	12	0	8	4	0	4	8	1
E6	12	0	3	6	3	9	3	1

Fonte: (CASTRO, L. M., 2016)

Nº Fr. – número de fragmentos

Avaliador 3

Animal	Nº Fr.	Autólise	Escore 0	Escore 1	Escore 2	Viáveis	Inviáveis	0 = Inadequada 1 = Adequada
E1	10	0	5	4	1	5	5	1
E2	10	0	4	5	1	6	4	1
E3	10	0	7	3	0	3	7	0
E4	12	0	7	5	0	5	7	0
E5	12	0	7	5	0	5	7	0
E6	11	0	4	7	0	7	4	1

Fonte: (CASTRO, L. M., 2016)

Nº Fr. – número de fragmentos

APÊNDICE E – Análise histológica de cada avaliador das biopsias de cólon menor

Avaliador 1

Animal	Nº Fr.	Autólise	Escore 0	Escore 1	Escore 2	Viáveis	Inviáveis	0 = Inadequada 1 = Adequada
E1	9	0	4	5	0	5	4	1
E2	9	0	4	5	0	5	4	1
E3	12	0	4	3	5	8	4	1
E4	11	0	1	7	3	10	1	1
E5	11	0	2	1	8	9	2	1
E6	11	0	2	6	3	9	2	1

Fonte: (CASTRO, L. M., 2016)

Nº Fr. – número de fragmentos

Avaliador 2

Animal	Nº Fr.	Autólise	Escore 0	Escore 1	Escore 2	Viáveis	Inviáveis	0 = Inadequada 1 = Adequada
E1	9	0	4	5	0	5	4	1
E2	10	0	4	6	0	6	4	1
E3	12	0	3	7	2	9	3	1
E4	11	0	2	7	2	9	2	1
E5	11	0	3	4	4	8	3	1
E6	10	0	3	5	2	7	3	1

Fonte: (CASTRO, L. M., 2016)

Nº Fr. – número de fragmentos

Avaliador 3

Animal	Nº Fr.	Autólise	Escore 0	Escore 1	Escore 2	Viáveis	Inviáveis	0 = Inadequada 1 = Adequada
E1	9	0	6	3	0	3	6	0
E2	12	0	8	4	0	4	8	0
E3	10	0	4	5	1	6	4	1
E4	11	0	6	3	2	5	6	0
E5	11	0	3	7	1	8	3	1
E6	13	0	4	7	2	9	4	1

Fonte: (CASTRO, L. M., 2016)

Nº Fr. – número de fragmentos