

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA
CURSO DE GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA**

GABRIELLA FARIA PEREIRA

**COLHEITA DE LIQUOR ENTRE AS VÉRTEBRAS C1 E C2 GUIADA POR
ULTRASSONOGRRAFIA EM EQUINOS: ASPECTOS CLÍNICOS E
LABORATORIAIS**

UBERLÂNDIA

2022

GABRIELLA FARIA PEREIRA

**COLHEITA DE LIQUOR ENTRE AS VÉRTEBRAS C1 E C2 GUIADA POR
ULTRASSONOGRRAFIA EM EQUINOS: ASPECTOS CLÍNICOS E
LABORATORIAIS**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Faculdade de Medicina Veterinária, Curso de Graduação em Medicina Veterinária, da Universidade Federal de Uberlândia, como requisito para aprovação na disciplina de Trabalho de Conclusão de Curso II (TCC 2, GMV054).

Orientador: Prof. Dr. Diego José Zanzarini Delfiol.

UBERLÂNDIA

2022

GABRIELLA FARIA PEREIRA

**COLHEITA DE LIQUOR ENTRE AS VÉRTEBRAS C1 E C2 GUIADA POR
ULTRASSONOGRRAFIA EM EQUINOS: ASPECTOS CLÍNICOS E
LABORATORIAIS**

**Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado à Faculdade de Medicina
Veterinária, Curso de Graduação em
Medicina Veterinária, da Universidade
Federal de Uberlândia, como requisito para
aprovação na disciplina de Trabalho de
Conclusão de Curso II (TCC 2, GMV054).**

APROVADA EM 29 de março de 2022

**Prof. Dr. Diego José Zanzarini Delfiol
(FAMEV)**

**Prof. Dr. Geison Morel Nogueira
(FAMEV)**

**Profª. Dra. Mônica Horr
(FAMEV)**

**UBERLÂNDIA
2022**

RESUMO

A análise do líquido cefalorraquidiano tem valor diagnóstico, prognóstico e terapêutico em enfermidades neurológicas em equinos. Existem diferentes métodos para a obtenção do liquor, sendo a colheita entre as vértebras C1 e C2 uma metodologia mais recente, que permite realização do procedimento em estação, sem as limitações da anestesia geral e baixa contaminação da amostra com sangue, apresentando-se como uma alternativa prática e segura para a realização desse exame. Tendo em mente as vantagens dessa técnica e a escassez de estudos sobre essa abordagem específica, foi analisada a ocorrência de alterações clínicas em equinos saudáveis submetidos a colheita de liquor por punção entre as vértebras C1 e C2 – com bloqueio local da dura-máter – e as amostras obtidas por esse procedimento foram avaliadas laboratorialmente. O material obtido foi submetido a análise física, química e citológica, e os animais foram avaliados considerando aspectos como dor, sensibilidade, presença de edema, mudanças de temperatura e alterações ultrassonográficas. Foram observadas alterações locais discretas após a punção, sendo o procedimento considerado seguro e de simples execução, O bloqueio com lidocaína foi capaz de reduzir a reação elicitada pela passagem pela dura-máter, assim como pode ter causado hipertermia em alguns animais (7/10). As amostras obtidas apresentaram qualidade satisfatória e resultados laboratoriais condizentes com os valores compilados da literatura.

Palavras-chave: cavalos. Líquido cefalorraquidiano. Análise laboratorial. Alterações locais. Bloqueio infiltrativo. Dura-máter. Lidocaína.

ABSTRACT

The analysis of cerebrospinal fluid has diagnostic, prognostic and therapeutic value in neurological illnesses in horses. There are different methods for obtaining cerebrospinal fluid, with the collection between the C1 and C2 vertebrae being a more recent methodology, which allows the procedure to be performed in station, without the limitations of general anesthesia and low contamination of the sample with blood, presenting itself as a practical and safe alternative for carrying out this exam. Bearing in mind the advantages of this technique and the scarcity of studies on this specific approach, the occurrence of clinical alterations in healthy horses submitted to cerebrospinal fluid collection by puncture between the C1 and C2 vertebrae – with local dural blockade – and the samples obtained by this procedure were evaluated in the laboratory. The material obtained was submitted to physical, chemical and cytological analysis, and the animals were evaluated considering aspects such as pain, sensitivity, presence of edema, temperature changes and ultrasonographic alterations. Discrete local changes were observed after the puncture, and the procedure was considered safe and simple to perform. Lidocaine blockade was able to reduce the reaction elicited by the passage through the dura mater, as well as causing hyperthermia in some animals (7/10). The samples obtained showed satisfactory quality and laboratory results consistent with the values compiled in the literature.

Keywords: horses. Cerebrospinal fluid. Laboratory analysis. Local alterations. Infiltrative blockage. Dura mater. Lidocaine.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. Imagem ultrassonográfica transversa do espaço atlantoaxial.....	24
Figura 2. Imagem ultrassonográfica do espaço atlantoaxial, destacando a dura-máter (1), espaço subdural (2), medula espinhal (3) e corpos vertebrais de C1 e C2 (4).	24
Figura 3. Materiais utilizados para a colheita liquórica em espaço atlantoaxial: gaze estéril (1), agulha espinhal 18x90 mm (2), cateter 20G (3), seringa de 5 ml para coleta (4) e seringa contendo 3 ml de cloridrato de lidocaína (5).....	25
Figura 4. Posicionamento do transdutor ultrassonográfico e do mandril de cateter para realização de bloqueio da dura-máter.....	25
Figura 5. Posicionamento do mandril de cateter para realização de bloqueio da dura-máter...	25
Figura 6. Imagem ultrassonográfica do posicionamento adequado da agulha para realização do bloqueio da dura-máter.....	5
Figura 7. Aplicação de lidocaína sobre o ligamento amarelo e dura-máter	27
Figura 8. Posicionamento da agulha espinhal para colheita de líquido entre vertebrae C1 e C2	5
Figura 9. Imagem ultrassonográfica de agulha epidural prestes a ultrapassar a dura-máter, durante colheita liquórica em espaço atlantoaxial.....	5
Figura 10. Colheita aspirativa de líquido, por punção atlantoaxial.....	5
Figura 11. Eppendorfs contendo amostras seriadas de líquido obtidas por punção liquórica atlantoaxial.....	28

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Valores de referência do fluído cefalorraquidiano de equinos adultos.....	13
Tabela 2. Valores de referência do fluído cefalorraquidiano de equinos neonatos de acordo com a idade.....	13
Tabela 3. Correlação de parâmetros do líquido cefalorraquidiano e desordens do sistema nervoso central.....	14
Tabela 4. Média e desvio padrão da temperatura retal em diferentes tempos em relação ao momento da coleta	33
Tabela 5. Edema observado em diferentes tempos após a coleta.....	35
Tabela 6. Resultado das análises bioquímicas.....	36
Tabela 7. Resultado da contagem de células na câmara de Neubauer.....	36

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	8
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	10
2.1 Líquido cefalorraquidiano	10
2.2 Análise do líquido cefalorraquidiano.....	10
2.3 Colheita.....	15
2.3.1. Reação a punção e a dura-máter	15
2.3.2 Contraindicações	16
2.3.3 Colheita em região atlanto-occipital	17
2.3.4 Colheita em região lombosacra	19
2.3.5 Colheita em região entre C1-C2	21
2.3.6 Efeitos adversos da colheita de liquor.....	22
3 METODOLOGIA.....	23
3.1 Colheita do liquor	23
3.2. Reação a punção	28
3.3 Avaliação pós-punção.....	28
3.2.1 Dor e sensibilidade local.....	29
3.2.2 Temperatura local e retal.....	29
3.2.3 Edema	30
3.2.4 Ultrassonografia	30
3.3 Análise laboratorial do liquor	30
3.3.1 Exame físico do líquido.....	30
3.3.2 Exame químico.....	31
3.3.3 Exame citológico	31
3.4 Análise estatística:	32
4 RESULTADOS	33
4.1 Temperatura local	33
4.2 Temperatura retal	33
4.3 Reação a colheita	34
4.4 Imagem ultrassonográfica e obtenção da amostra	34
4.5 Alterações locais.....	35
4.4 Análise laboratorial do liquor	36
5 DISCUSSÃO	39
6 CONCLUSÃO.....	43

REFERÊNCIAS:..... 44

1 INTRODUÇÃO

A análise do líquido cefalorraquidiano é uma importante ferramenta no diagnóstico, tratamento e prognóstico de equinos com alterações neurológicas (RADOSTITS et al., 2020). Classicamente, a colheita de líquido cefalorraquidiano é realizada por punção em região atlanto-occipital e lombosacra, sendo que ambas as opções apresentam limitações importantes. A colheita em região lombosacra é utilizada em maior proporção na rotina clínica, porém tem como restrições animais obesos, com alterações ósseas, musculatura muito desenvolvida ou em decúbito (palpação de referências anatômicas dificultada), assim como o fato de ser associada a uma maior ocorrência de contaminação iatrogênica das amostras, e reações violentas dos animais que podem levar a lesões a estes ou aos médicos veterinários (MAYHEW, 1975; SCHWARZ; PIERCY, 2006; ALEMAN et al., 2007; CHIDLOW et al., 2020a). Além disso, esse ponto de acesso não representa a melhor alternativa para diagnóstico quando se suspeita de patologias encefálicas, devido à distância do ponto de colheita do encéfalo, optando-se nesses casos, pela abordagem atlanto-occipital (REED; BAYLY; SELTON, 2018). As restrições dessa segunda metodologia estão altamente conectadas a necessidade de anestesia geral, que representa um risco importante para animais com sinais clínicos neurológicos, como ataxia (JOSE-CUNILLERAS; PIERCY, 2007).

A punção entre as vértebras C1 e C2 representa uma alternativa viável para a colheita de líquido cefalorraquidiano em equinos, podendo ser realizada em animais em estação, sem o uso de anestesia geral e apresentando um baixo risco de contaminação iatrogênica, todos fatores que apontam para os benefícios da adoção dessa prática na rotina clínica (PEASE, 2015; CHIDLOW et al., 2020a).

Contudo, até o presente momento, a literatura dispõe de poucos trabalhos que tenham avaliado alterações clínicas nos animais submetidos a esse procedimento, assim como alterações nos resultados de análises laboratoriais realizadas em amostras obtidas por esse método. Portanto, o trabalho objetiva investigar esses aspectos da colheita de liquor entre vértebras C1 e C2 em equinos, visando atestar a segurança do procedimento e a compatibilidade dos resultados laboratoriais obtidos por meio dele em relação aos valores de referência disponíveis na literatura.

Esse método ainda apresenta como um risco em potencial o momento de passagem pela dura-máter, na qual é possível observar reações de movimentação de alguns animais, as quais

dificultam o procedimento, e podem levar a lesões locais (PEASE; BEHAN; BOHART, 2011; ALEMAN; PRANGE; MACKAY, 2019). O atual trabalho traz como uma alternativa para reduzir essa resposta e possíveis acidentes decorrentes dela, o bloqueio da dura-máter com lidocaína, objetivando também avaliar sua eficácia e possíveis efeitos adversos.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Líquido cefalorraquidiano

O líquido cefalorraquidiano (LCR) é um ultrafiltrado de plasma, modificado por transporte ativo, que circula pelos ventrículos cerebrais e pelo espaço subaracnóide. Sua formação ocorre nos plexos coróides e no revestimento ependimário dos ventrículos, e é resultado da filtração do sangue, através da parede dos capilares coróides, e do transporte ativo de substâncias pelo epitélio coróide (REED; BAYLY; SELTON, 2018; KANEKO; HARVEY; BRUSS, 2008). A taxa exata de formação do liquor em equinos não é conhecida, porém, sabe-se que ela é relativamente constante e independente da pressão intracraniana (KANEKO; HARVEY; BRUSS, 2008).

Ele atua fornecendo suporte físico para estruturas neurais que nele ficam suspensas, protegendo o encéfalo de mudanças na pressão arterial e venosa, e fornecendo amortecimento em casos de trauma. O líquido cefalorraquidiano também auxilia na excreção de substâncias pelos tecidos nervosos, função importante, visto que o cérebro não é dotado de sistema linfático. Ele também é responsável pelo transporte intracerebral de hormônios neuroendócrinos e transmissores, e pela nutrição do tecido nervoso (JOHNSON; CONSTANTINESCU, 2000; KANEKO; HARVEY; BRUSS, 2008). O LCR controla o ambiente químico em que o sistema nervoso central se encontra, mantendo o equilíbrio ácido básico e iônico, além de regular a pressão intracraniana (MAYHEW; BEAL, 1980; SCHWARZ; PIERCY, 2006).

2.2 Análise do líquido cefalorraquidiano

Devido ao contato íntimo do líquido cefalorraquidiano com o sistema nervoso central, podem ocorrer alterações secundárias nesse fluido, em patologias neurais (HAYES, 1987). Dessa forma, a colheita e análise do liquor é indicada para direcionar ou confirmar diagnósticos de doenças neurológicas, assim como pode ser utilizado para determinação de prognóstico do paciente, e avaliação de resposta ao tratamento (RADOSTITS et al., 2020).

A avaliação do LCR é indicada quando se suspeita de doenças inflamatórias ativas do sistema nervoso, patologias que rompam a barreira hematoencefálica, doenças degenerativas primárias ou desmielinizantes, neoplasia e isquemia, ou compressão do sistema nervoso central (LORENZ; KORNEGAY, 2006).

É importante ressaltar, que a análise do líquido cefalorraquidiano possui sensibilidade razoável, porém baixa especificidade, de forma que os resultados obtidos devem ser relacionados ao histórico, a clínica apresentada pelo animal e a outros exames complementares, para se alcançar um diagnóstico (KANEKO; HARVEY; BRUSS, 2008). Ademais, é possível que não haja alterações no LCR em animais com presença de doença neurológica grave (HAYES, 1987).

A análise do liquor inclui avaliação de sua aparência (cor, aspecto, coagulação), conteúdo celular, concentração de proteínas (inclusive imunoglobulinas) e glicose e atividade enzimática (creatina quinase, aspartato aminotransferase e lactato desidrogenase), sendo os valores encontrados nas análises comparados a valores de referência disponíveis na literatura, como mostrado nas tabelas 1 e 2 (REED; BAYLY; SELTON, 2018).

O líquido cefalorraquidiano sem alterações na aparência é transparente, límpido e não coagula. Alterações nesse parâmetro podem sugerir hemorragia, aumento da concentração de proteínas, quantidade aumentada de fibrinogênio, aumento na celularidade, presença de microrganismos e condições supurativas (REED; BAYLY; SELTON, 2018).

A avaliação citológica é útil para definir o tipo de reação celular envolvida no processo patológico, podendo direcionar o diagnóstico para grupos de agentes etiológicos específicos, como bactérias, fungos, parasitas ou vírus, como mostrado na tabela 3. Já a dosagem de proteínas é capaz de indicar resposta inflamatória, aumento da permeabilidade capilar, lesão da barreira hematoencefálica e degeneração ou necrose do tecido neural (COWELL; TYLER, 2002). A integridade da barreira hematoencefálica também pode ser avaliada pelo quociente de albumina, determinado pela razão entre a albumina presente no LCR e a albumina sérica (SIEGEL, 2014).

A análise da concentração de glicose no líquido cefalorraquidiano também possui valor diagnóstico, já que sua redução pode ser um indicador do aumento do consumo dessa substância, que pode estar associado a presença de bactérias, ou de uma quantidade excessiva de leucócitos e/ou eritrócitos no liquor (SIEGEL, 2014).

O aumento da atividade enzimática da creatina fosfoquinase no liquor está associado com destruição do tecido nervoso, e com grande degeneração da bainha de mielina, enquanto o aumento da atividade da aspartato aminotransferase, e da lactato desidrogenase, é visto em doenças que afetam cronicamente a substância cinzenta e doenças agudas e extensas do sistema nervoso central (FEITOSA, 2020). É importante ressaltar que a atividade da enzima creatina fosfoquinase é considerada um indicador diagnóstico pouco confiável, já que seu aumento pode ser decorrente da contaminação da amostra por gordura epidural ou dura-máter (JACKSON et al., 1966).

O líquido cefalorraquidiano também pode ser utilizado para identificar a presença de anticorpos contra parasitas, como *Sarcocystis neurona*, *Neospora hughesi* e *Micronema deletrix*, no sistema nervoso central de equinos, o que indica exposição previa a esses agentes (DARIEN; BELKNAP; NIETFELD, 1988; FINNO et al., 2007).

A pressão e o volume de liquor, que podem ser determinados no momento da colheita, também podem oferecer informações importantes para o diagnóstico, estando alterações destes relacionadas a patologias como a hidrocefalia, e a presença de massas intracranianas (REED; BAYLY; SELLON, 2018). A pressão do liquor anterior a colheita varia de 150 – 500 mm H₂O, e após a colheita de 75 – 400 mm H₂O em cavalos adultos saudáveis (MAYHEW, 1975).

Informações relevantes também podem ser obtidas, de forma rápida, através do Teste de Pandy, capaz de realizar análise qualitativa da concentração de imunoglobulinas no LCR (PARRY, 2015). Ele é realizado por meio da adição de algumas gotas do liquor coletado em 1 ml de reagente, que consiste em 10 g de fenol em 150 ml de água destilada. Essa solução, então, é observada para turbidez, graduada de uma a três cruces, sendo que LCR normal não produz alteração na transparência do líquido, já que o teste não detecta a principal proteína normalmente presente no liquor, a albumina (COWELL; TYLER, 2002; SCHWARZ; PIERCE, 2006; KULKARNEI et al., 2009).

Tabela 1. Valores de referência do fluido cefalorraquidiano de equinos adultos

Variável	Unidade	Atlanto-occipital	Lombosacra
Densidade	-	1.004 – 1008	1.004 – 1008
Eritrócitos	céls/ μ L	< 600	< 600
Leucócitos	céls/ μ L	0 – 7	0 – 7
Proteínas totais	mg/dl	10 – 120	10 – 120
Glicose	mg/dL	30 – 80	40 – 75
Albumina	mg/dL	24 – 51	24 – 56
Imunoglobulina G	mg/dl	3,0 – 8,0	3,0 – 10,5
Creatina quinase	UI	0 – 8	0 – 8
Aspartato aminotransferase	UI	15 – 50	15 – 50
Lactato desidrogenase	UI	0 – 8	0 – 8

Fonte: Adaptado de ALEMAN; PRANGE; MACKAY, 2019.

Céls – células

UI – unidades internacionais

Tabela 2. Valores de referência do fluido cefalorraquidiano de equinos neonatos de acordo com a idade

Variável	Unidade	Atlanto-occipital	Lombosacra
Leucócitos	céls/ml	1,3 \pm 1,2	0,87 \pm 1,3
Eritrócitos	céls/ml	208 \pm 471	239 \pm 349
Proteínas totais			
< 48 horas	mg/dl	109 \pm 9,7	-
11-14 dias	mg/dl	81 \pm 22,8	-
21-22 dias	mg/dl	60,5 \pm 22,4	-
31-42 dias	mg/dl	58,5 \pm 17	-
Imunoglobulina G	mg/dl	10,2 \pm 5,5	9,9 \pm 5,7
Quociente de albumina		1,86 \pm 0,29	1,85 \pm 0,51
Glicose			
< 48 horas	mg/dl	98,8 \pm 12,0	-
11-14 dias	mg/dl	67,3 \pm 12,0	-
21-22 dias	mg/dl	65,3 \pm 4,5	-
31-42 dias	mg/dl	70 \pm 5,4	-

Fonte: FURR; REED, 2015.

Céls – células.

Tabela 3. Correlação de parâmetros do líquido cefalorraquidiano e desordens do sistema nervoso central

Patologia	Aparência	Proteína total (mg/dl)	Total de células nucleadas (por ml)	Achados citológicos
Normal	Límpido, incolor	40 – 90	0 – 5	Todas as células mononucleares
Infecção bacteriana	Branco-âmbar a amarelo; pode haver turbidez	>100	>50	± neutrófilos
Infecção viral	Límpido-túrbido, incolor, âmbar	100 - 200	Limite inferior do normal ou aumentado	Predomínio de linfócitos
Hemorragia ou trauma	Uniformemente vermelho ou amarelo	>100	0 – variável	Macrófagos, eritrofagia e neutrófilos.
Infecção fúngica	Límpido a amarelo	100 – 200	>100	± neutrófilos
Infecção por protozoários	Límpido a amarelo	40 - 200	0 – 40	Mistura de macrófagos, linfócitos e neutrófilos.

Fonte: ORSINI; DIVERS, 2014.

É importante ressaltar que os resultados obtidos também dependem da qualidade da amostra, sendo a contaminação iatrogênica do material com sangue capaz de elevar a concentração de proteínas séricas e contagem de células nucleadas, assim como resultar em falso-positivo em testes para mieloencefalite protozoária equina (EPM) pelo método Western blot (SWEENEY; RUSSEL, 2000; FINNO et al., 2007).

2.3 Colheita

Atualmente, existem diversos procedimentos para a colheita de líquido cefalorraquidiano em equinos, de forma que o local e método escolhido devem ser determinados de acordo com o tamanho do animal, localização neurológica da lesão, saúde sistêmica do paciente, opções de contenção e considerações anestésicas do procedimento (KANEKO; HARVEY; BRUSS, 2008; MAYHEW, 1975).

A coluna vertebral protege e aloja a medula espinhal, que é banhada pelo líquido cefalorraquidiano. As vertebbras se organizam de forma que os arcos vertebrais se encaixam, resultando na ausência de espaço entre elas, exceto em três pontos: o espaço atlanto-occipital, atlantoaxial e o lombossacral, sendo essas janelas correspondentes aos três locais de coleta disponíveis para obtenção de amostras de líquido (KÖNIG; LIEBICH, 2016).

Também deve se considerar que o fluxo de líquido é cefalo-caudal, fluindo do sistema ventricular, sobre o encéfalo, e então até o espaço subaracnóide. Dessa forma, recomenda-se que seja feita punção em região atlanto-occipital ou atlantoaxial, para lesões localizadas acima do forame magno, e punção em região lombossacra, em lesões localizadas caudais ao forame magno, de forma que se colete o líquido em local caudal à lesão (REED; BAYLY; SELLON, 2018).

Orienta-se também a colheita de três amostras em frascos diferentes, submetendo-se a última à análise, de forma a reduzir a contaminação da amostra, com possível hemorragia iatrogênica causada pelo procedimento (SWEENEY; RUSSELL, 2000).

Em todos os procedimentos é recomendado a tricotomia de área ampla em volta do local de punção, uso de luvas e campo estéril, assim como a realização de assepsia da pele do local (JOHNSON; CONSTANTINESCU, 2000).

2.3.1. Reação a punção e a dura-máter

A dura-máter é a membrana mais externa que envolve o sistema nervoso central, sendo a mais espessa e fibrosa das meninges (KÖNIG; LIEBICH, 2016). Ela atua como uma camada

protetora que circunda a medula espinhal e a protege de danos causados por impactos mecânicos, assim como auxilia na defesa contra agentes infecciosos (KINACI et al., 2020).

Ela é inervada por pequenos ramos dos nervos espinhais intitulados ramos meníngeos, que se originam logo após a saída do nervo espinhal pelo forame intervertebral, e denotam alta sensibilidade dolorosa a essa estrutura (BLYTHE; ENGEL, 1999; DERHAM et al., 2021).

Esse folheto se encontra diretamente acima do espaço raquidiano, o qual é preenchido por líquido cefalorraquidiano, logo, para sua obtenção, é necessário ultrapassar essa camada. Durante a punção para colheita de liquor, por métodos em que não se faz uso de anestesia geral, mas apenas de sedação - como a coleta em região lombosacra e entre as vértebras C1 e C2 - é relatada a ocorrência de reação do animal no momento da passagem da agulha de colheita por essa membrana (MAYHEW, 1975; PEASE; BEHAN; BOHART, 2011; ALEMAN; PRANGE; MACKAY, 2019; ANDRADE et al., 2021).

Tal reação pode se apresentar em diferentes intensidades, e inclui movimentos de cauda, cabeça e pescoço, leve flexão de membros pélvicos, contração de músculos axiais e até movimentos violentos (MAYHEW, 1975; ANDRADE et al., 2021).

A ocorrência dessas movimentações é um detalhe importante dos procedimentos de colheita - correlacionado diretamente aos principais riscos inerentes do procedimento - uma vez que esses movimentos repentinos podem levar a contaminação da amostra, e em casos mais graves, levar a lesão de estruturas adjacentes, formação de hematomas, ou até lacerações medulares (PEASE, 2015; ALEMAN; PRANGE; MACKAY, 2019; ANDRADE et al., 2021).

2.3.2 Contraindicações

A colheita de liquor é contraindicada quando se suspeita de aumento da pressão intracraniana, pois a remoção de líquido do espaço subaracnóide (em qualquer local de punção), pode causar um gradiente de pressão e resultar em herniação do cerebelo pelo forame magno, o que pode levar a apneia e morte do animal, por compressão das vias medulares respiratórias (LORENZ; KORNEGAY, 2006). Esse risco se encontra intensificado quando se opta por técnicas que requerem que o animal esteja sob anestesia geral, já que é relatado aumento marcante da pressão intracraniana e da pressão de perfusão cerebral em cavalos saudáveis anestesiados em decúbito, podendo-se presumir que animais que apresentam elevações

preexistentes desses fatores, estão mais predispostos a sofrer herniação encefálica (SMITH, 2008).

O procedimento também não deve ser realizado caso exista piodermite, furunculose ou celulite em área próxima ou sobre o local de punção, para evitar a translocação da infecção (KANEKO; HARVEY; BRUSS, 2008). Ademais, a colheita não deve ser realizada em animais que apresentem diátese hemorrágica, pois pode levar a sangramento excessivo (JOHNSON; CONSTANTINESCU, 2000).

2.3.3 Colheita em região atlanto-occipital

A colheita de liquor em região atlanto-occipital é rotineiramente realizada em cavalos sob anestesia geral, em decúbito lateral (JOHNSON; CONSTANTINESCU, 2000). Com as devidas medidas de assepsia tomadas, a cabeça do animal é flexionada para que o eixo médio da cabeça esteja perpendicular ao eixo médio das vértebras cervicais, devendo-se estar atento, pois esta flexão por tempo prolongado pode resultar em obstrução das vias aéreas superiores (MAYHEW, 1975).

Utiliza-se para o procedimento agulha de 9 cm de comprimento, com mandril, a qual deve ser inserida no ponto de interseção entre linhas imaginárias traçadas entre as bordas craniais do atlas e protuberância occipital externa, seguindo a linha média dorsal (ORSINE; DIVERS, 2014). A agulha deve estar em ângulo reto com a pele, e ser direcionada à parte rostral da mandíbula do cavalo, avançando até que se sinta perda de resistência (passagem pela dura-máter), e então o líquido deve passar a fluir com a retirada do mandril (MAYHEW, 1975).

Pode-se utilizar da técnica de ultrassonografia para guiar o procedimento por meio de abordagem sagital, e abordagem parassagital oblíqua, com transdutor convexo de 7,5 MHz, realizando-se a identificação de estruturas referenciais, e reduzindo as complicações associadas com a punção ‘às cegas’ (AUDIGIÉ et al., 2004).

A colheita em região atlanto-occipital se mostra vantajosa, por resultar em menor contaminação da amostra, e obtenção de maior quantidade de líquido, quando comparada a amostras provenientes de região lombosacra. Ademais, é preferida no diagnóstico de doenças encefálicas (MAYHEW, 1975; SCHWARZ; PIERCY, 2006; JOHNSON; CONSTANTINESCU, 2000).

A necessidade de anestesia geral para realização do procedimento, pode mostrar uma limitação, já que a sedação de animais com sinais clínicos neurológicos é contraindicada. Essa contraindicação está relacionada à ataxia, alteração frequente em animais afetados neurologicamente, que implica em um maior risco de ferimento durante a recuperação anestésica (JOHNSON; CONSTANTINESCU, 2000; JOSE-CUNILLERAS; PIERCY, 2007).

Ademais, em caso de herniação caudal do cerebelo, existe o risco de perfuração do encéfalo, podendo levar à morte do animal, assim como também existe o risco de perfuração da medula espinhal (JOHNSON; CONSTANTINESCU, 2000; AUDIGIÉ et al., 2004). Também é relatada a possibilidade de perfuração da articulação atlanto-occipital, durante o procedimento, obtendo-se líquido sinovial ao aspirar (FANKHAUSER, 1962).

Em 2013, foi descrita técnica para punção de atlanto-occipital, guiada por ultrassom, em cavalos em estação. O procedimento é realizado em animais sob sedação, com anestesia local, em troncos ou baias de recuperação, com a cabeça apoiada em uma cabeçada posicionada a um metro do chão (DEPECKER; BIZON-MERCIER; COUROUCÉ-MALBLANC, 2013).

Foram utilizados transdutores microconvexo de 5 a 7,5 MHz, ou convexo de 3,5 a 5 MHz, com localização do ponto de punção em vista mediana ou parassagital oblíqua, e visualização do espaço atlanto-occipital, da dura-máter e do canal central da medula espinhal (DEPECKER; BIZON-MERCIER; COUROUCÉ-MALBLANC, 2013).

Não foram observadas reações adversas no momento de passagem pela dura-máter, assim como não houve contaminação das amostras com sangue por meio deste método (DEPECKER; BIZON-MERCIER; COUROUCÉ-MALBLANC, 2013).

É importante ressaltar que o estudo em que esta técnica foi aplicada, foi realizado em cavalos saudáveis ou levemente atáxicos, sendo necessários maiores estudos em animais com comprometimento do sistema nervoso, para que esse procedimento possa ser implantado na rotina clínica (DEPECKER; BIZON-MERCIER; COUROUCÉ-MALBLANC, 2013). Ademais, Pease (2015) relata como um limitante para o uso desta técnica, o alto risco de que o cavalo eleve sua cabeça durante o procedimento, resultando em laceração da medula espinhal pela agulha.

Cuidados pós-procedimento para todas as técnicas incluem limpeza do local de punção, uso de anti-inflamatórios não esteróides para redução de dor cervical se necessário e manutenção do cavalo em baia, com fornecimento de feno em local elevado por até dois dias, evitando que o animal mantenha a cabeça abaixada para se alimentar, o que pode exacerbar dor em região cervical (FURR; REED, 2015). Caso o procedimento tenha sido realizado sob

anestesia geral, pode-se realizar suplementação de oxigênio, e a recuperação anestésica deve ser feita com auxílio de cordas em cabeça e cauda, em local livre de distrações (SMITH, 2008).

2.3.4 Colheita em região lombosacra

A colheita de líquido cefalorraquidiano também pode ser feita por centese da cisterna lombosacra, tanto em cavalos em estação sob sedação e anestesia local, como em cavalos anestesiados em decúbito lateral (PEASE; BEHAN; BOHART, 2011). A punção neste local é recomendada em síndromes relativas a patologias raquidianas, onde se suspeita de lesões medulares mais caudais (HAYES, 1987).

A centese em estação é feita com o cavalo sedado, posicionado da forma mais simétrica possível, podendo ser utilizado tronco de contenção e pito para contenção do animal (MAYHEW, 1975).

Utiliza-se para esse procedimento agulhas com até 18 cm, com mandril, porém isso pode ser alterado de acordo com o peso corporal e o tamanho do animal, que estão fortemente relacionados com o tamanho da agulha necessária para se realizar a colheita. Utiliza-se também uma seringa para realizar aspiração do liquor (ALEMAN et al., 2007).

Nesse método de colheita, a inserção da agulha deve ser feita na interseção entre uma linha imaginária que une as bordas caudais de cada túber coxal com a linha média dorsal do corpo do animal, ou cranialmente à depressão que pode ser palpada cranial ao túber sacral, entre as vértebras L6 e S1 (MAYHEW, 1975).

O animal geralmente esboça reação à punção somente no momento de penetração da dura-máter, podendo ela ser restrita a uma resposta local de movimento da cauda, leve flexão de membros pélvicos, e leve contração de músculos axiais, e ocasionalmente, pode haver movimentos violentos em resposta à penetração (MAYHEW, 1975).

A colheita em região lombosacra em cavalos em estação é considerada superior por Mayhew (1975), no caso de animais que apresentam enfermidades neurológicas, pois pode ser realizado sem anestesia geral. Porém, esse método se prova de difícil execução em equinos que apresentam conformação óssea anormal, musculatura muito desenvolvida ou deposição de gordura na região lombosacra, pois a identificação dos pontos anatômicos se torna um desafio (ALEMAN et al., 2007).

Nesses casos, pode-se utilizar como auxílio imagens ultrassonográficas com o uso de transdutores microconvexo de 7,5 MHz, ou convexo de 3,5 MHz, para identificação de estruturas anatômicas como o túber sacral, as vértebras L6 e S1, e o canal vertebral, e posteriormente realizar-se a punção (ALEMAN et al., 2007).

A colheita em animais em decúbito lateral é realizada sob anestesia geral, observando-se alterações no alinhamento da coluna vertebral e pelves, devido a discrepâncias anatômicas posicionamento dependentes, de forma que pode haver a necessidade de um maior número de tentativas para realizar a colheita de liquor (ALEMAN et al., 2007). Essas alterações podem ser reduzidas elevando-se o membro pélvico superior, de forma que o túber coxal esteja perpendicular ao chão, podendo-se também avançar os membros pélvicos cranialmente, visando flexionar a pelve e a articulação lombosacra (MAYHEW, 1975). Também pode-se utilizar imagens ultrassonográficas como auxílio (ALEMAN et al., 2007).

Esse procedimento pode ser útil em animais que necessitam estar sob anestesia geral, devido à gravidade da sintomatologia, ou animais tetraplégicos (MAYHEW, 1975).

Uma das principais desvantagens, frequentemente associada a esse método de colheita, está ligada a hemorragias iatrogênicas, que levam à contaminação da amostra com sangue, sendo isso provavelmente decorrente de danos à veia epidural, vasos meningeais, ou vasos da medula espinhal, assim como pode ser decorrente da grande massa muscular que necessita ser transpassada para obtenção da amostra (SCHWARZ; PIERCY, 2006; PEASE, 2015). Pode-se tentar evitar essa contaminação mantendo o mandril acoplado à agulha, enquanto esta avança, sempre ao longo do plano mediano, e utilizar sucção leve para aspiração do fluido (MAYHEW, 1975).

Os cuidados pós-colheita incluem manter o local de punção limpo e seco, observando se há aumento de volume ou descarga de fluidos. Pode-se utilizar fenilbutazona ou analgésicos similares caso tenha sido necessário maior número de tentativas para realizar a colheita, resultando em maior traumatismo no local (FURR; REED, 2015). Caso o procedimento tenha sido realizado sob anestesia geral, pode-se realizar suplementação de oxigênio, e a recuperação anestésica deve ser feita com assistência de cordas em cabeça e cauda, em área livre de distrações (SMITH, 2008).

2.3.5 Colheita em região entre C1-C2

A colheita em região entre a primeira e segunda vertebrae cervicais é uma técnica mais recente de abordagem da cisterna cerebelo medular, que pode ser realizada em cavalos em estação sob sedação e anestesia local, provendo uma amostra com maior valor diagnóstico para patologias encefálicas, sem as limitações da anestesia geral (PEASE, 2015).

A sedação do animal é feita com a administração de cloridrato de detomidina intravenoso (2 a 5 mg), sendo administrado após 3 minutos sulfato de morfina, também por via intravenosa, na quantidade de 15 mg para animais abaixo de 450 kg, e 30 mg para animais acima dessa faixa de peso. Pode-se repetir a dose de cloridrato de detomidina de acordo com a necessidade para manutenção da sedação. Também pode-se utilizar cloridrato de mepivacaína por via subcutânea na região de punção, visando diminuir a reação à penetração da agulha (PEASE, 2015).

O procedimento é feito com auxílio ultrassonográfico para orientação da agulha, por meio de abordagem lateral com transdutores microconvexo de 4 a 10 MHz, ou linear de 7,5 a 12 MHz, que permite a avaliação da medula espinhal, com colocação da probe no terço dorsal do pescoço. A inserção da agulha é orientada pela identificação ultrassonográfica do espaço subaracnóide, e dos corpos vertebrais de C1 e C2. A agulha deve ser inserida ventral à probe ultrassonográfica, em direção dorsoventral, visando-se colocá-la no aspecto dorsal do espaço subaracnóide, sem atingir medula espinhal e artérias vertebrais, também identificadas com auxílio do ultrassom (PEASE, 2015; PEASE; BEHAN; BOHART, 2011).

Utiliza-se para esse procedimento agulha espinhal de 8,9 cm, sendo o tamanho da agulha independentemente do tamanho do animal, já que a medula espinhal se encontra apenas 6 cm abaixo da pele. Também é necessário o acoplamento de seringa de 5 ml e aplicação de sucção gentil para obtenção do líquido cefalorraquidiano (PEASE, 2015).

Nessa abordagem, relata-se sensação tátil mínima ao perfurar a dura-máter, assim como reação praticamente ausente do animal, podendo o procedimento ser realizado em tronco de contenção ou em baía, assim como em animais em decúbito lateral, quando estes se encontram incapazes de permanecer em estação. Também não foram observadas reações adversas após o procedimento (PEASE, 2015).

Foi relatada presença de leve contaminação com sangue em poucas amostras, sendo isto minimizado com um menor número de redirecionamento da agulha (PEASE; BEHAN; BOHART, 2011).

2.3.6 Efeitos adversos da colheita de liquor

São relatadas poucas alterações em cavalos pós procedimento de colheita de líquido cefalorraquidiano. Pode ocorrer hemorragia extradural, no espaço subaracnóide e no cone medular (MAYHEW, 1975; JOHNSON; CONSTANTINESCU, 2000). Ademais, aspirações sequenciais para obtenção de liquor podem levar a traumatismo local, podendo haver aumento de volume na região e descarga de fluídos (ALEMAN et al., 2007; FURR; REED, 2015).

Há relatos de desenvolvimento de adesão fibrosa entre o ligamento interarqueado e dura-máter, assim como de vazamento do LCR para o espaço extradural (MAYHEW, 1975). Também há o risco de desenvolvimento de meningite séptica, celulite ou abscessos locais, se o procedimento não for realizado com a assepsia adequada.

Em estudo dos efeitos de cateterização da cisterna lombosacra de equinos, é relatado reação inflamatória aguda após 12 horas, porém, frequência cardíaca e respiratória, temperatura corporal e pressão arterial permaneceram inalteradas, assim como a função neurológica dos animais (NATALINI; ROBINSON, 1999).

Em humanos, são relatados efeitos adversos da colheita de liquor, tais como sangramento, hematoma no local de punção, dorsalgia e cefaleia. A cefaleia está relacionada ao vazamento de líquido cefalorraquidiano pela solução de continuidade presente na dura-máter, como resultado do procedimento (MATATA et al., 2012). Tal sintomatologia não é relatada em equinos, sendo as avaliações pós-colheita sucintas e frequentemente restritas ao relato de ausência de complicações ou reações adversas posteriores à colheita (MAYHEW; WHITLOCK; TASKER, 1977; PEASE, 2015).

3 METODOLOGIA

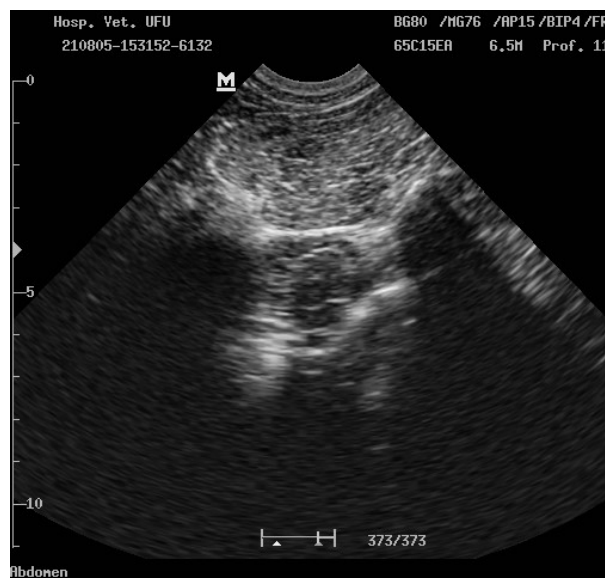
Foram utilizados 10 equinos mestiços, com idades variando de 18 meses a nove anos, sendo oito fêmeas, e dois machos castrados, hígidos e livres de alterações neurológicas. As colheitas foram realizadas no Setor de Clínica Médica e Cirúrgica de Grandes Animais do Hospital Veterinário da Universidade Federal de Uberlândia e as análises laboratoriais foram feitas no Laboratório Clínico Veterinário do hospital. Os animais foram submetidos a exame físico e neurológico antes da realização do procedimento, sendo o exame físico repetido diariamente durante todo o período de avaliação. A metodologia foi submetida a Comissão de Ética na Utilização de Animais (CEUA), e aprovada sob o número de protocolo 043/20.

3.1 Colheita do liquor

Os animais foram mantidos em jejum por 12 horas em preparação para o procedimento. Eles foram colocados em tronco de contenção, foi realizada tricotomia ampla de 25x15 cm em região lateral direita e esquerda do pescoço, iniciada diretamente caudal ao pavilhão auricular e ventral ao ligamento nugal. Foi realizada tricotomia nas mesmas dimensões na tábua do pescoço do lado direito (ipsilateral a punção). A crina foi presa, ou cortada, visando não interferir com a temperatura das áreas tricotomizadas, assim como não contaminar o campo no momento da punção.

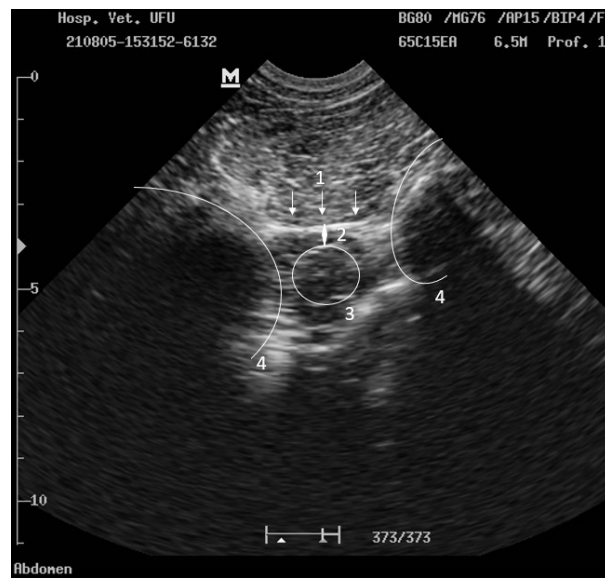
Foi utilizado transdutor ultrassonográfico microconvexo curvilíneo de 4 – 10 MHz para obtenção de imagens em plano transversal dos arcos vertebrais de C2, da medula espinhal, da dura-máter e do espaço subaracnóide (Figuras 1 e 2). O transdutor foi posicionado na região dorso lateral do pescoço, na altura das vértebras C1 e C2, dois centímetros ventral a crina, orientado dorsoventralmente (PEASE; BEHAN; BOHART, 2011). Foi utilizado álcool 70% para aumentar o contato entre a pele e o transdutor, visando melhorar a imagem obtida.

Figura 1. Imagem ultrassonográfica transversa do espaço atlantoaxial.



Fonte: Acervo pessoal.

Figura 2. Imagem ultrassonográfica do espaço atlantoaxial, destacando a dura-máter (1), espaço subdural (2), medula espinhal (3) e arcos da segunda vertebra cervical (4).



Fonte: Acervo pessoal.

Após identificação das estruturas mencionadas, foi realizada assepsia cirúrgica do local feita com solução alcoólica de clorexidina e gluconato de clorexidina com auxílio de gazes estéreis respeitando sentindo centro-periferia, e proteção do transdutor ultrassonográfico com luva estéril, contendo gel de ultrassom em seu interior (PEASE; BEHAN; BOHART, 2011; FOSSUM, 2014). O operador também realizou limpeza das mãos e fez uso de luvas estéreis, assim como o campo de mesa e todos os materiais utilizados em seguida encontravam-se estéreis.

Figura 3. Materiais utilizados para a colheita líquórica em espaço atlantoaxial: gaze estéril (1), agulha espinhal 18x90 mm (2), cateter 20G (3), seringa de 5 ml para coleta (4) e seringa contendo 3 ml de cloridrato de lidocaína (5).



Fonte: Acervo pessoal.

Em seguida, o animal foi sedado com detomidina (0,01 mg/kg, IV), suas orelhas foram imobilizadas fazendo uso de dispositivo adesivo (visando evitar a contaminação da região adjacente), e em seguida foi realizada o bloqueio da dura-máter, da musculatura e da pele da região do punção com cloridrato de lidocaína 2% (LEBLANC, 1991; HUBBELL, 2009; PEASE; BEHAN; BOHART, 2011; CHIDLOW et al., 2020a). O bloqueio foi realizado utilizando o mandril de um cateter calibre 20G, com uso da imagem ultrassonográfica como guia. Uma vez localizada a medula espinhal, o espaço subaracnóide e os arcos vertebrais de C2, foi feita a introdução da agulha diretamente acima do transdutor ultrassonográfico, introduzindo-o até a proximidade da dura-máter, sem ultrapassar o ligamento amarelo (Figura 6). Em seguida, injetou-se 1 ml de lidocaína no local e foi realizada a retirada progressiva do mandril concomitante a deposição de anestésico na musculatura e na pele adjacentes ao caminho percorrido pela mandril, realizando um bloqueio em linha, sendo depositados mais 2 ml de anestésico nesse trajeto (GARCIA, 2017; CARPENTER; BYRON, 2017).

Figura 4. Posicionamento do transdutor ultrassonográfico e do mandril de cateter para realização de bloqueio da dura-máter.



Fonte: Acervo pessoal.

Figura 5. Posicionamento do mandril de cateter para realização de bloqueio da dura-máter.



Fonte: Acervo pessoal.

Figura 6. Imagem ultrassonográfica do posicionamento adequado da agulha para realização do bloqueio da dura-máter.



Fonte: Acervo pessoal.

Figura 7. Aplicação de lidocaína sobre o ligamento amarelo e dura-máter.



Fonte: Acervo pessoal.

Em seguida, a região foi limpa com gaze com álcool para remover qualquer traço de sangue proveniente da primeira perfuração, e nova imagem foi formada, visualizando as mesmas estruturas, e a introdução da agulha espinha com mandril (18x90mm) é realizada, dorsalmente ao transdutor ultrassonográfico.

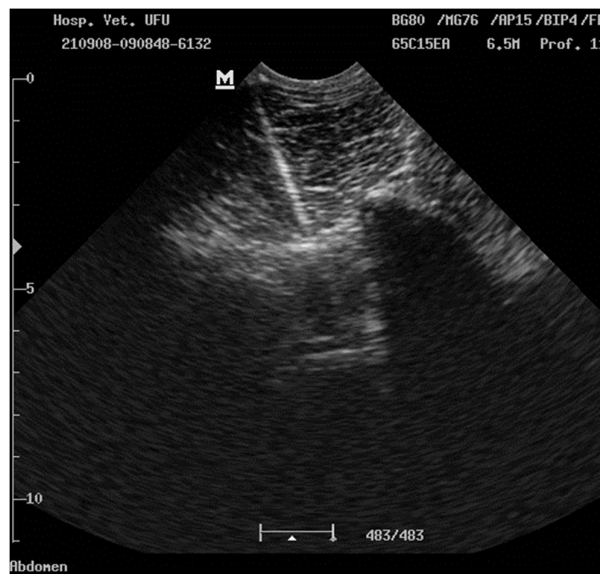
A agulha foi avançada até o nível da dura-máter, em sentido dorsomedial, até alcançar o aspecto dorsal do espaço subaracnóide, o ligamento amarelo e a dura-máter foram penetrados (Figuras 8 e 9), e após visualização da passagem e sensação tátil da mesma, o mandril foi removido e uma seringa de 5 ml acoplada a agulha para aspiração do líquido (Figura 10) (PEASE; BEHAN; BOHART,2011; PEASE, 2015).

Figura 8. Posicionamento da agulha espinhal para colheita de líquido entre vertebrae C1 e C2.



Fonte: Acervo pessoal.

Figura 9. Imagem ultrassonográfica de agulha epidural prestes a ultrapassar a dura-máter, durante colheita líquorica em espaço atlantoaxial.



Fonte: Acervo pessoal.

Figura 10. Colheita aspirativa de líquido, por punção atlantoaxial.



Fonte: Acervo pessoal.

As amostras foram acondicionadas em três tubos plásticos de 1,5 ml previamente enumerados e prontamente encaminhadas para análise laboratorial (Figura 11).

Figura 11. Tubos plásticos contendo amostras seriadas de líquor obtidas por punção líquórica atlantoaxial.



Fonte: Acervo pessoal.

A agulha foi então removida, e o animal foi mantido no tronco até redução dos efeitos do anestésico intravenoso, sendo em seguida encaminhado para baia, sendo observado por 48 horas para evidências de desconforto e/ou alterações clínicas (PEASE; BEHAN; BOHART, 2011).

3.2. Reação a punção

A avaliação da reação dos animais ao procedimento de punção foi realizada lançando mão de score que gradua a resposta desses animais a punção líquórica, de acordo com a seguinte escala: animal sem reação a punção (0), animal que apresentou movimentos de cauda ou pequeno movimento de cabeça ou pescoço (1), animal que realizou movimentos bruscos de cabeça, tentativa de coice ou coice, andou ou pulou para frente (2) e animal que tentou ou conseguiu pular o tronco de contenção ou caiu no tronco (3) (CHIDLOW et al., 2020a).

3.3 Avaliação pós-punção

A avaliação foi realizada visando identificar aspectos de dor e inflamação local na região da punção, aferindo parâmetros como frequência cardíaca e respiratória, dor e sensibilidade local, temperatura local e retal, presença de edema e alterações ultrassonográficas.

Para comparação, duas áreas controle foram tricotomizadas e avaliadas. A primeira área controle estava localizada na mesma altura contralateral a área puncionada, e a segunda ipsilateral a punção, em região cervical cranial a cernelha (GERBER et al., 2012).

3.2.1 Dor e sensibilidade local

Foi avaliada dor e sensibilidade local por meio de palpação direta com diferentes pressões de toque, utilizando o dígito e pinça anatômica, sendo atribuída uma pontuação de 0 a 3 a reação do animal. A resposta do animal foi caracterizada da seguinte forma: não mostrou resposta a palpação digital (0), reação moderada a palpação digital (1), reação moderada a toque leve (2), reação intensa a toque leve (3). Foram considerados reflexos de dor abaixar a cabeça, se afastar do examinador, tentar morder ou coicear (GERBER et al., 2012; ALVARENGA, 2016).

Essa análise foi realizada antes da punção, para avaliação da reação natural do animal ao toque naquela região, assim como 30 minutos, duas, quatro, seis, oito, 12, 24 e 48 horas após a punção (LINDEGAARD et al., 2009).

Para os animais que possivelmente apresentassem dor exacerbada à avaliação, foi proposto protocolo de resgate consistindo na administração de tramadol (2 mg/kg) via intramuscular.

3.2.2 Temperatura local e retal.

A temperatura local foi avaliada por meio de termômetro infravermelho. Também foi registrada a temperatura ambiente no momento da aferição, por meio do aplicativo AccuWeather. A temperatura retal foi aferida. Essas análises foram realizadas antes da punção, 30 minutos, duas, quatro, seis, oito, 12, 24 e 48 horas após a punção (LINDEGAARD et al., 2009).

A temperatura local foi mensurada em 5 pontos de cada região tricotomizada, sendo eles: o centro e os quatro cantos da tricotomia. Foi calculada a média aritmética dos valores encontrados e o resultado foi utilizado para realização das análises estatísticas. Ademais, foi aferida a temperatura diretamente sobre o local de entrada da agulha espinhal (LINDEGAARD et al., 2009).

3.2.3 Edema

O edema foi classificado de maneira subjetiva como ausente (0), leve (1), moderado (2) ou intenso (3), sendo documentado por fotos, e avaliado por ultrassonografia (ALVARENGA, 2016).

3.2.4 Ultrassonografia

Foi utilizado transdutor ultrassonográfico microconvexo curvilíneo de 4 – 10 MHz, para avaliação da região no plano longitudinal. Foram avaliadas alterações na ecogenicidade, ecotextura e paralelismo entre as fibras musculares para avaliação de inflamação, edema e hematomas (ALVARENGA, 2016).

Essa análise foi realizada no local de punção e na região contralateral, visando comparação, antes da punção, assim como 24 e 48 horas após o procedimento (ALVARENGA, 2016).

3.3 Análise laboratorial do liquor

As análises laboratoriais foram realizadas em até uma hora após a colheita, no Laboratório Clínico Veterinário do Hospital Veterinário da Universidade Federal de Uberlândia.

3.3.1 Exame físico do líquido

O volume de líquido correspondente a amostra foi registrado, assim como a ausência ou presença de coagulação do líquido. A cor foi avaliada comparando-se grande volume da amostra em tubo de vidro com outro tubo contendo água destilada (KANEKO; HARVEY; BRUSS, 2008).

Em relação ao aspecto, a análise foi realizada colocando a amostra armazenada em tubo de vidro em frente a papel com texto impresso, sendo a classificação feita a partir da capacidade de ler o texto perfeitamente através do frasco. As amostras foram classificadas como límpida, discretamente turva ou turva (KANEKO; HARVEY; BRUSS, 2008).

A densidade da amostra foi determinada utilizando refratômetro (GAMA et al., 2005).

3.3.2 Exame químico

Fita de urinálise Combur-Test da Roche foi utilizada para avaliar os parâmetro pH, proteína, glicose e sangue oculto (CHRISMAN, 1992).

A quantidade de proteína também foi mensurada, de forma precisa, utilizando kit para detecção de baixas quantidades de proteína Bioprot U/LCR da Bioclin, cuja leitura foi realizada por aparelho bioquímico, por método colorimétrico (GAMA et al., 2005).

3.3.3 Exame citológico

A contagem de células foi feita em câmara de Neubaur contendo a amostra sem diluição, com auxílio de microscópio óptico com objetiva de 40x. A contagem foi feita abrangendo os nove quadrados de ambos os lado da câmara, sendo hemácias e células nucleadas contadas separadamente, e a média do resultado encontrado em cada lado da câmara foi multiplicado por 1,1, para se obter a quantidade de células por microlitro da amostra (KANEKO; HARVEY; BRUSS, 2008).

A contagem diferencial de células foi realizada após procedimento de citocentrifugação. Para isso, foi adicionada amostra a cubeta da citocentrífuga, adaptado juntamente a uma lâmina e um filtro para absorção da porção líquida e concentração das células em um botão. A centrifugação foi realizada feita por 8 minutos, a 700 RPM. A lâmina foi corada com panótico rápido após secagem, e então foi avaliada em microscópio óptico utilizando objetiva de 100x e óleo de imersão. O diferencial foi realizado na totalidade de células presentes na lâmina, calculando posteriormente o diferencial de cada tipo celular. Além disso foi avaliada presença

de hemácias, plaquetas, agentes infecciosos, além de morfologia celular (MACWILLIAMS, 2002).

3.4 Análise estatística:

Os resultados obtidos em cada momento de aferição geraram valores de média aritmética e desvio padrão que foram submetidos a análise usando o programa GraphPad Prism 5. Os valores de frequência cardíaca e temperatura retal foram avaliados por teste de Tukey e análise de variância (ANOVA), enquanto os resultados de frequência respiratória e temperatura local média no local da punção foram avaliados por teste de Dunn seguido de teste de Friedman.

Foram comparados os resultados da temperatura média no local de punção com a temperatura média da região controle contralateral, assim como temperatura no local exato de punção com a temperatura média da região controle contralateral, por teste Two Tailed e T-pareado, ou Two Tailed e Wilcoxon, de acordo com a normalidade dos dados.

Análises estatísticas foram consideradas significativas para valores de $p \leq 0,05$.

4 RESULTADOS

Os animais avaliados não apresentaram alterações significativas em frequência cardíaca e respiratória em relação a aferição inicial e aos momentos pós-coleta (24 e 48 horas).

4.1 Temperatura local

Em relação a temperatura local média no local da punção, observou-se diferença estatística significativa em relação a aferição em T0 (momento anterior a coleta) e nos momentos seis, oito e doze horas após a punção, com valores de p iguais a $p < 0,01$, $p < 0,001$ e $p < 0,05$ respectivamente.

Porém, ao realizar comparação entre a temperatura local no lado da punção, e na região contralateral (utilizada como controle) não houve diferença significativa em nenhum dos momentos avaliados.

A temperatura diretamente sobre o ponto de punção com relação a região controle também não apresentou diferenças estatísticas significativas.

4.2 Temperatura retal

Foi observada a ocorrência de hipertermia em sete dos dez animais avaliados, sendo que esta ocorreu seis horas após a coleta em cinco animais, e oito horas após a coleta em dois animais. Todos os quadros de hipertermia já haviam se resolvido no momento da aferição da temperatura retal 24 horas após a coleta.

Observou-se diferença estatística significativa na temperatura retal dos animais em relação a aferição controle – realizada antes da punção – nos momentos seis, oito e 12 horas após a coleta, com um valor de $p < 0,001$.

Os valores de média e desvio padrão obtidos a partir das aferições de todos os animais estão descritas na tabela 4, assim como a média da temperatura ambiente observada nos momentos de avaliação.

Tabela 4. Média e desvio padrão da temperatura retal em diferentes tempos em relação ao momento da coleta.

Tempo	Média ± desvio padrão da temperatura retal (C°)	Média ± desvio padrão da temperatura ambiental (C°)
T0	36,50 ± 1,21 ^a	20,60
30 minutos	36,06 ± 0,96 ^a	22,90
2 horas	36,34 ± 1,05 ^a	25,90
4 horas	37,00 ± 0,99 ^a	28,10
6 horas	37,88 ± 0,61 ^b	28,90
8 horas	38,42 ± 0,59 ^b	28,70
12 horas	38,51 ± 0,46 ^b	25,40
24 horas	37,61 ± 0,29 ^a	22,50
48 horas	37,39 ± 0,49 ^a	22,60

T0 – momento anterior a coleta.

Letras diferentes (a, b) na coluna indicam diferenças significativas ($p \leq 0,05$) entre as médias dos tratamentos.

4.3 Reação a colheita

Foi observada ausência de reação a colheita em (8/10) 80% dos animais avaliados, enquanto (2/10) 20% esboçaram reações classificadas como leves, graduadas como um pelo sistema de pontuação adotado, se resumindo a pequenos movimentos de cabeça ou pescoço.

4.4 Imagem ultrassonográfica e obtenção da amostra

A formação da imagem ultrassonográfica guia para o procedimento de coleta de líquido entre vertebrae C1-C2 se mostrou de execução relativamente simples para operador com pouco experiência ultrassonográfica.

Com o progresso no domínio da técnica o número de redirecionamentos necessários para obtenção da amostra diminuiu, assim como o tempo de extensão do procedimento, sendo

realizado em poucos minutos ao final do estudo, mesmo com a etapa adicional de bloqueio da dura-máter.

Em alguns casos, a deposição da lidocaína próximo a dura-máter levou a formação de artefatos de reverberação, diminuindo a qualidade da imagem e dificultando a definição das estruturas.

4.5 Alterações locais

Em relação a sensibilidade local, foi observado leve incomodo nas primeiras 24 horas após a coleta, classificado como uma reação grau um, ou seja, resposta moderada a palpação digital. Todos os animais mostravam-se livres de qualquer incomodo local 48 horas após o procedimento, exceto um animal, que apresentava temperamento reativo a palpação no local de punção mesmo na avaliação prévia, podendo isso ter interferido com a análise da sua resposta a palpação.

A resposta a palpação digital ou com a pinça foram idênticas em todas as aferições.

Foi possível observar a formação de edema local, circunscrevendo o ponto de entrada da agulha espinhal. Ele se apresentou como leve majoritariamente, e se resolveu por completo em todos os animais em 24 a 48 horas, estando os dados obtidos descritos na tabela 5.

Tabela 5. Edema observado em diferentes tempos após a coleta.

ANIMAL/ TEMPO	30 min	2 horas	4 horas	6 horas	8 horas	12 horas	24 horas	48 horas
ANIMAL 01	2	1	1	1	1	1	0	0
ANIMAL 02	1	1	1	1	1	1	1	0
ANIMAL 03	0	1	1	1	1	1	0	0
ANIMAL 04	0	0	0	0	0	0	0	0
ANIMAL 05	0	1	1	0	0	0	0	0
ANIMAL 06	1	1	1	1	0	0	0	0
ANIMAL 07	0	1	1	1	1	1	0	0
ANIMAL 08	1	1	0	0	0	0	0	0
ANIMAL 09	0	1	1	1	1	1	0	0
ANIMAL 10	1	1	1	1	1	1	0	0

0 = edema ausente; 1 = edema leve; 2 = edema moderado; 3 = edema intenso.

Não foram observadas alterações ultrassonográficas em nenhuma das regiões avaliadas às 24 ou 48 horas após a punção.

4.4 Análise laboratorial do liquor

Em relação a análise de líquido, foi observada coagulação ausente e aspecto límpido em todas as amostras obtidas. Nove das 10 amostras apresentavam-se incolores, e uma delas foi classificada como rósea.

Em relação a densidade, oito das 10 amostras se apresentaram dentro dos limites propostos pela literatura (1.004-1.008), e duas apresentaram valores superiores, tendo sido estas provenientes do dois primeiros animais coletados (ALEMAN; PRANGE; MACKAY, 2019).

O pH de todas as amostras foi alcalino. A proteína observada em analisador bioquímico por método colorimétrico variou de 17 – 147 mg/dL, apresentando média de 44,29 mg/dL, estando acima dos valores de referência (10 – 120 mg/dL) em apenas uma das amostras (tabela 6) (ALEMAN; PRANGE; MACKAY, 2019).

Tabela 6. Resultado das análises bioquímicas.

ANIMAL/PARÂMETRO	DENSIDADE	PROTEINA FITA	PROTEINA SENSIPROT	GLICOSE	SANGUE OCULTO
ANIMAL 01	1,012	traços	17 mg/dL	++	++++
ANIMAL 02	1,013	+	43 mg/dL	traços	++++
ANIMAL 03	1,004	traços	58 mg/dL	traços	+++
ANIMAL 04	1,006	+	28 mg/dL	traços	+++
ANIMAL 05	1,005	negativo	28 mg/dL	traços	++
ANIMAL 06	1,005	+	25,9 mg/dL	++	++++
ANIMAL 07	1,005	+	29 mg/dL	+	+
ANIMAL 08	1,005	traços	37 mg/dL	traços	++++
ANIMAL 09	1,006	++	147 mg/dL	+	++++
ANIMAL 10	1,005	+	30 mg/dL	+	++++

Os resultados obtidos na contagem células realizada na câmara de Neubauer estão elencados na tabela 7.

Tabela 7. Resultado da contagem de células na câmara de Neubauer.

ANIMAL/PARÂMETRO	HEMÁCIAS/UL	NUCLEADAS/UL
ANIMAL 01	0	0
ANIMAL 02	2.705	2
ANIMAL 03	48	0
ANIMAL 04	10	1
ANIMAL 05	31	13
ANIMAL 06	23	0
ANIMAL 07	0	2
ANIMAL 08	47	2
ANIMAL 09	277	10
ANIMAL 10	72	1

As amostras apresentaram quantidade de células vermelhas dentro dos parâmetros da literatura (<600 céls/ μ L) em 90% das amostras, e apenas duas amostras apresentaram número

de células nucleadas acima dos valores estabelecidos (0 - 7 céls/ μ L) pela mesma referência. (ALEMAN; PRANGE; MACKAY, 2019).

O método de centrifugação utilizado não foi capaz de realizar a concentração adequada das células, dessa forma, não foram obtidos resultados fidedignos para a análise diferencial das células.

5 DISCUSSÃO

Os valores de frequência cardíaca e respiratória foram aferidos levando em consideração seu uso como indicadores inespecíficos de dor ou desconforto em equinos, sendo a ausência de diferença significativa nas médias obtidas um indicativo de que os animais não apresentavam um quadro de desconforto condizente com alteração desses parâmetros (DE GRAUW ; VAN LOON, 2016).

Teoriza-se que a hipertermia observada em 70%(7/10) dos animais pode estar relacionada a ativação de receptores TRPV1 de maneira antagonista pela lidocaína utilizada para bloqueio da dura-máter.

De acordo com Gavva e colaboradores, os receptores TRPV1 (Transient Receptor Potential Vanilloid type-1) apresentam função termorreguladora, e o bloqueio desses receptores tonicamente ativos pode causar hipertermia persistente em humanos susceptíveis, assim como em roedores, cães e primatas (GAVVA et al., 2008). O mecanismo de ação da hipertermia causada por ativação antagonista dos receptores TRPV1 está relacionado ao bloqueio de sua função tônica de termorregulação, realizada principalmente pela supressão do tônus vasomotor e termogênese (GAVVA et al., 2008).

Também foi relatado que a lidocaína é capaz de ativar os receptores TRPV1 (KOZLOV, 2012), podendo atuar como antagonista, causando modificações na termorregulação que resultam em hipertermia (KOZLOV, 2012).

Da Cunha e colaboradores (2008) relatam a presença de receptores TRPV-1 no sistema nervoso central de equinos, tendo sido analisadas amostras de hipotálamo, hipocampo, gânglio da raiz dorsal, substância nigra, cordão espinhal cervical e nervo digital palmar, em específico. O estudo também relata que existe variação na expressão desses receptores, e os autores especulam que utilização de medicações nas raízes nervosas ou espaço subaracnóide gerariam uma maior ativação dos receptores (DA CUNHA et al., 2008).

Dessa forma, teoriza-se a expressão de tais receptores na dura-máter ou estruturas adjacentes que foram expostas a lidocaína, reconhecidamente capaz de causar uma ativação antagonista de TRPV-1, resultando no quadro de hipertermia observado.

Ademais, a ausência de diferença significativa ao realizar comparação entre a temperatura local no lado da punção, e na região contralateral (utilizada como controle) nos momentos avaliados, sugere que os valores com significância estática apresentados na análise

da temperatura local são decorrentes do aumento generalizado da temperatura corporal, e não de um aumento regional apenas.

Pease, Behan e Bohart (2011) e Andrade e colaboradores (2021) relatam a ocorrência de reações durante o momento de coleta de líquido cefalorraquidiano pela técnica cervical, tendo Pease e colaboradores (2011) optado por fazer uso da morfina para redução da movimentação e Andrade e colaboradores fizeram uso de infiltração com lidocaína apenas em pele e musculatura, reportando inclusive que a movimentação de cabeça e pescoço contribuíram para o aumento da contaminação das amostras obtidas (PEASE; BEHAN; BOHART, 2011; ANDRADE et al., 2021).

Neste estudo, optou-se por não fazer uso da morfina, tendo em vista relatos de excitação moderada do animal após administração de opioides em equinos. Foram descritas reações que incluem tremores musculares e movimentos de cabeça (CLARKE; PATON, 1988), os quais dificultariam a realização do procedimento, podendo levar a maior traumatismo local durante a punção, e tornar a formação de imagem ultrassonográfica bem definida um desafio.

Optou-se por fazer uso da lidocaína por meio de infiltração local, objetivando-se a redução da sensibilidade da dura-máter. A lidocaína é um anestésico local que age bloqueando reversivelmente a excitação e condução de impulsos pelas fibras nervosas, resultando em percepção reduzida de sensações dolorosas. Esse fármaco é dotado de período de latência curto, e período hábil da analgesia de aproximadamente uma hora, apresentando alto poder de penetração tecidual (ALMEIDA et al., 2005; GARCIA, 2017; RABÊLO et al., 2019).

A infiltração do anestésico foi feita diretamente dorsal ao ligamento amarelo e a dura-máter, tendo em vista que a técnica infiltrativa visa o alcance de terminais nervosos nas estruturas pelas quais o anestésico se difunde (ALMEIDA et al., 2005). A aplicação foi realizada externa ao ligamento amarelo, já que não se objetiva uma analgesia peridural, e tendo em vista relatos na literatura de difusão de anestésicos por estruturas ligamentares em bloqueio torácico paravertebral em humanos (COSTACHE et al., 2016).

Essa ocorrência se baseia na variabilidade da densidade e continuidade dos ligamentos, que dificultam afirmar que esses constituam uma camada de tecido definitiva, que compartimentalize a medula e a dura-máter, podendo a lidocaína acessar a estrutura alvo por meio de fenestrações e pontos de perda de continuidade das fibras ligamentares (COSTACHE et al., 2016).

A deposição de um volume maior de lidocaína sobre a dura-máter pode levar a redução da qualidade da imagem ultrassonográfica utilizada como guia, porém a ausência ou redução significativa de reação a punção observada aparenta se manter vantajosa, por possibilitar maior precisão na inserção da agulha e evitar o redirecionamento acidental desta por movimentação do animal.

Uma limitação do presente estudo é que não foi avaliada qual seria a resposta dos animais ao procedimento sem a realização do bloqueio, e pesquisas nesse sentido seriam vantajosas para elucidar a magnitude da eficácia e necessidade de tal procedimento, uma vez que temperamento e sensibilidade individual dos animais são influências importantes para a exibição ou não de reação a punção. Tal investigação também seria vantajosa no sentido de elucidar a relação da hipertermia observada com a utilização desse bloqueio.

Porém, tendo em vista os múltiplos relatos de reação durante a punção líquórica entre C1 e C2 (PEASE; BEHAN; BOHART, 2011; CHIDLOW et al., 2020a; ANDRADE et al., 2021) e os efeitos adversos conhecidos relacionados a utilização de morfina em equídeos (CLARKE; PATON, 1988), o bloqueio da dura-máter com lidocaína se mostra uma alternativa vantajosa, capaz de diminuir o desconforto do procedimento para o animal, e facilitar a realização deste pelo veterinário.

Em relação á indicadores locais de dor e inflamação, foi possível observar que o procedimento não resulta em alterações importantes, sendo a dor e edema identificados de intensidade mínima e resolução rápida, assim como não houve alterações ultrassonográficas observadas no local.

Chidlow e colaboradores (2020) estabelecem como contaminação substancial de amostras a apresentação de contagem de hemácias igual ou superior a 9.000 hemácias por microlitro (CHIDLOW et al., 2020b). De acordo com este parâmetro, todas as amostras obtidas pelo estudo são adequadas para análise e possuem bom valor diagnóstico.

O diagnóstico de Encefalomielite Protozoária Equina (EPM) é o destino de uma parcela importante das amostras de liquor coletadas em cavalos, e a contaminação com sangue é um fator que pode levar a falso-positivos. De acordo com Miller e colaboradores (1999), a presença de 8 hemácias por microlitro de amostró é suficiente para causar um falso-positivo pelo método WesternBlot. (MILLER et al., 1999)

Porém, sabe-se que análises como teste sorológico de imunofluorescência indireta ou ELISA SnSAG2 para detecção de anticorpos anti *S.neurona* com cálculo de coeficientes de anticorpos são capazes de fornecer resultados confiáveis em amostras com até 10.000 hemácias por microlitro (FINNO et al., 2007; FURR et al., 2011).

Logo, as amostras obtidas pelo método avaliado são adequadas para diagnóstico de EPM, desde que se opte por testes diagnósticos menos sensíveis a contaminação sanguínea.

Os demais parâmetros avaliados na análise laboratorial apresentam-se dentro dos parâmetros esperados para equinos saudáveis, podendo a ausência de resultados na contagem diferencial de células ser atribuída a técnica de centrifugação utilizada ou também a qualidade do filtro disponível para processamento das amostras.

6 CONCLUSÃO

Conclui-se que a coleta de líquor em cavalos em estação sob sedação, com punção no espaço entre a primeira e segunda vértebras cervicais é um procedimento seguro e com mínimos riscos e efeitos colaterais para o animal envolvido, fornecendo amostras em volume e qualidade adequados para a realização de análises laboratoriais.

Observou-se também que a utilização de lidocaína local para redução da reação elicitada pela passagem pela dura-máter é capaz de tornar esse procedimento mais seguro, podendo-se teorizar que seja responsável pela ocorrência de hipertermia transitória em alguns animais, havendo a necessidade de mais estudos para a elucidação desse fenômeno.

REFERÊNCIAS:

ALEMAN, M.; PRANGE, T.; MACKAY, R. J. Diagnostic Procedures. *In: AUER, J. A. et al. Equine Surgery*. 5. ed. St. Louis: Elsevier, 2019. cap. 51, p. 834-859. ISBN 978-0-323-48420-6.

ALEMAN, M. et al. Ultrasound-assisted collection of cerebrospinal fluid from the lumbosacral space in equids. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, [s. l.], v. 230, n. 3, p. 378-384, 1 fev. 2007. DOI: <https://doi.org/10.2460/javma.230.3.378>. Disponível em: <https://avmajournals.avma.org/doi/abs/10.2460/javma.230.3.378>. Acesso em: 3 out. 2019.

ALMEIDA, G. P. *et al.* Latência da lidocaína a 1% para anestesia infiltrativa da pele. **Rev. Bras. Anesthesiol.**, [s. l.], v. 55, ed. 3, p. 284-288, 2005. DOI <https://doi.org/10.1590/S0034-70942005000300005>. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rba/a/JNvdTyFkwqqtWsGF5sTFjBP/?lang=pt>. Acesso em: 7 mar. 2022.

ALVARENGA, M. L. **Avaliação da reação inflamatória após implante seriado de células tronco mesenquimais allogênicas em equinos**. 2016. 66 p. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia Animal) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista Julio de Mesquita Filho, [S. l.], 2016. Disponível em: <https://repositorio.unesp.br/handle/11449/139543>. Acesso em: 31 ago. 2020.

ANDREDE, D. G. A. *et al.* Sequential cerebrospinal fluid sampling in horses: comparison of sampling times and two different collection sites. **Journal of Equine Veterinary Science**, [s. l.], v. 108, 14 out. 2021. DOI 10.1016/j.jevs.2021.103794. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34800797/>. Acesso em: 1 fev. 2022.

AUDIGIÉ, F. et al. Ultrasound-guided atlanto-occipital puncture for myelography in the horse. **Veterinary radiology & amp: Ultrasound**, [s. l.], v. 45, n. 4, p. 340-344, 4 ago. 2004. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1740-8261.2004.04065.x>. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/j.1740-8261.2004.04065.x>. Acesso em: 2 out. 2019.

BLYTHE, L. L.; ENGEL, H. N. Neuroanatomy and neurological examination. **Veterinary Clinics of North America: Equine Practice**, [s. l.], v. 15, ed. 1, p. 71-85, 1999. DOI [https://doi.org/10.1016/S0749-0739\(17\)30164-5](https://doi.org/10.1016/S0749-0739(17)30164-5). Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0749073917301645>. Acesso em: 7 mar. 2022.

CARPENTER, R. E.; BYRON, C. R. Técnicas de Anestesia e Analgesia Locais para Equinos. In: GRIMM, K. A. *et al.* **Lumb & Jones: Anestesiologia e analgesia em Veterinária**. 5. ed. Rio de Janeiro: Roca, 2017. cap. 48, p. 2589-2660. ISBN 978-85-277-3176-8.

CHIDLOW, H. *et al.* Comparison of 2 collection methods for cerebrospinal fluid analysis from standing, sedate adult horses. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, [s. l.], v. 34, n. 2, p. 972-978, 2020a. DOI: <https://doi.org/10.1111/jvim.15702>. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/jvim.15702>. Acesso em: 25 ago. 2020.

CHIDLOW, H. *et al.* The effect of prior thecal puncture on cerebrospinal fluid analytes in normal adult horses. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, [s. l.], n. 5, ed. 34, p. 2117-2121, 2020b. DOI 10.1111/jvim.15842. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32614120/>. Acesso em: 22 fev. 2022.

CHRISMAN, C. L. Cerebrospinal Fluid Analysis. **Veterinary Clinics of North America : Small Animal Practice**, [s. l.], v. 22, n. 4, p. 781-810, jul. 1992. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0195-5616\(92\)50077-8](https://doi.org/10.1016/S0195-5616(92)50077-8). Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0195561692500778>. Acesso em: 31 ago. 2020;

CLARKE, K. W.; PATON, B. S. Combined use of detomidine with opiates in the horse. **Equine Veterinary Journal**, [s. l.], v. 20, ed. 5, p. 331-334, 1988. DOI 10.1111/j.2042-3306.1988.tb01540.x. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/3181117/>. Acesso em: 7 mar. 2022.

COSTACHE, I. *et al.* Does paravertebral block require access to the paravertebral space?. **Anesthesia**, [s. l.], v. 71, p. 847-861, 2016. DOI <https://associationofanaesthetists-publications.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/anae.13527>. Disponível em: <https://associationofanaesthetists-publications.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/anae.13527>. Acesso em: 7 mar. 2022.

COWELL, R. L.; TYLER, R. D. **Cytology and Hematology of the Horse**. 2nd ed. [S. l.]: Mosby, 2002.

DA CUNHA, A. F. *et al.* Quantitative expression of the TRPV-1 gene in central and peripheral nervous tissue in horses. **Intern J. Appl. Res. Vet. Med.**, [s. l.], v. 6, ed. 1, p. 15-23, 2008. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/298904887_Quantitative_expression_of_the_TRPV-1_gene_in_central_and_peripheral_nervous_tissue_in_horses. Acesso em: 7 mar. 2022.

DARIEN, B. J.; BELKNAP, J.; NIETFELD, J. Cerebrospinal fluid changes in two horses with central nervous system nematodiasis (*Micronema deletrix*). **Journal of Veterinary Internal Medicine**, [s. l.], v. 2, n. 4, p. 201-205, out. 1988. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1939->

1676.1988.tb00317.x. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1939-1676.1988.tb00317.x>. Acesso em: 4 out. 2019.

DE GRAUW , J. C.; VAN LOON, J. P. A. M. Systematic pain assessment in horses. **The Veterinary Journal** , [s. l.], v. 209, p. 14-22, 2016. DOI 10.1016/j.tvjl.2015.07.030. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26831169/>. Acesso em: 9 fev. 2021.

DEPECKER, M.; BIZON-MERCIER, C.; COUROUCÉ-MALBLANC, A. Ultrasound-guided atlanto-occipital puncture for cerebrospinal fluid analysis on the standing horse. **Veterinary Record** , [s. l.], v. 174, n. 45, p. 1-3, 13 nov. 2013. DOI: <http://dx.doi.org/10.1136/vr.101758>. Disponível em: <https://veterinaryrecord.bmj.com/content/174/2/45.info>. Acesso em: 2 out. 2019.

DERHAM, A. M. *et al.* Implications of the neuroanatomy of the equine thoracolumbar vertebral column with regional anesthesia and complications following desmotomy of the interspinous ligament. **Equine Veterinary Journal** , [s. l.], v. 53, ed. 4, p. 649-655, 2021. DOI 10.1111/evj.13402. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33336365/>. Acesso em: 7 mar. 2022.

FANKHAUSER, R. The cerebrospinal fluid. *In*: INNES, J. R. M.; SAUNDERS, L. Z. **Comparative Neuropathology**. 1st ed. [S. l.]: Academic Press, 1962. cap. 3, p. 21 - 54.

FEITOSA, F. L. F. *et al.* **Semiologia Veterinária: A arte do diagnóstico**. 4. ed. São paulo: Roca, 2020. 704 p. ISBN 978-8527736152.

FINNO, C. J. *et al.* Effects of blood contamination of cerebrospinal fluid on results of indirect fluorescent antibody tests for detection of antibodies against *Sarcocystis Neurona* and *Neospora Hugesii*. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, [s. l.], v. 19, n. 3, p. 286-289, 1 maio 2007. DOI: <https://doi.org/10.1177/104063870701900310>. Disponível em: <https://journals.sagepub.com/doi/full/10.1177/104063870701900310>. Acesso em: 2 out. 2019.

FOSSUM, T. W. Preparação do campo operatório. *In*: FOSSUM, T. W. **Cirurgia de pequenos animais**. 4. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2014. cap. 5, p. 39-44.

FURR, M. *et al.* Antibody Coefficients for the Diagnosis of Equine Protozoal Myeloencephalitis. **J Vet Intern Med**, [s. l.], v. 25, p. 138-142, 2011. DOI <https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2010.0658.x>. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/j.1939-1676.2010.0658.x>. Acesso em: 7 mar. 2022.

FURR, M.; REED, S. **Equine Neurology**. 2. ed. Aves: Blackweel Publishing Professional, 2015. 505 p. ISBN 978-1-118-50147-4.

GAMA, F. G. V. et al. Caracteres físico-químicos e citológicos do liquor de cães em diferentes fases da cinomose. **Ciênc. Rural**, [s. l.], v. 35, n. 3, p. 596-601, 2005. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0103-84782005000300016>. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0103-84782005000300016&script=sci_abstract&tlng=pt. Acesso em: 13 abr. 2020.

GARCIA, E. R. Anestésicos Locais. In: GRIMM, K. A. et al. **Lumb & Jones: Anestesiologia e analgesia em Veterinária**. 5. ed. Rio de Janeiro: Roca, 2017. cap. 17, p. 1007-1079. ISBN 978-85-277-3176-8.

GAVVA, N. R. et al. Pharmacological blockade of the vanilloid receptor TRPV1 elicits marked hyperthermia in humans. **Pain**, [s. l.], v. 136, ed. 2008, p. 202-210, 2008. DOI 10.1016/j.pain.2008.01.024. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18337008/>. Acesso em: 7 mar. 2022.

GERBER, M. I. et al. Health factor associated with microchip insertion in horses. **Journal of Equine Veterinary Science**, [s. l.], v. 32, n. 3, p. 177-182, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jevs.2011.08.016>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0737080611005053>. Acesso em: 30 ago. 2020.

HAYES, T. E. Examination of cerebrospinal fluid in the horse. **The Veterinary Clinics of North America: Equine Practice**, [s. l.], v. 3, n. 2, p. 283-291, 1 ago. 1987. DOI: 10.1016/S0749-0739(17)30673-9. Disponível em: <https://europepmc.org/abstract/MED/3304567>. Acesso em: 2 out. 2019.

<https://doi.org/10.1111/j.2042-3292.2000.tb01755.x>. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1111/j.2042-3292.2000.tb01755.x>. Acesso em: 1 out. 2019.

HUBBELL, J. A. E. Practical standing chemical restraint of the horse. **AAEP Proceedings**, [s. l.], v. 55, p. 2-6, 2009. Disponível em: <https://aaep.org/sites/default/files/issues/proceedings-09proceedings-z9100109000002.pdf>. Acesso em: 30 ago. 2020.

JACKSON, C. et al. The diagnostic utility of cerebrospinal fluid creatine kinase activity in the horse. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, [s. l.], v. 10, n. 4, p. 246-251, 1 jul. 1966. DOI: 10.1111/j.1939-1676.1996.tb02057.x. Disponível em: <https://europepmc.org/abstract/MED/8819050>. Acesso em: 7 nov. 2019.

JOHNSON, P. J.; CONSTANTINESCU, G. M. Collection of cerebrospinal fluid in horses. **Equine Veterinary Education**, [s. l.], v. 12, n. 1, p. 7-12, 2000. DOI:

JOSE-CUNILLERAS, E.; PIERCYY, R. J. Advanced diagnostic imaging options in horses with neurological disease that localises to the head. **Equine Veterinary Education**, [s. l.], v. 19, n. 4, p. 179-181, 5 jan. 2007. DOI: <https://doi.org/10.2746/095777307X196892>. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.2746/095777307X196892>. Acesso em: 2 out. 2019.

KANEKO, J.; HARVEY, J.; BRUSS, M. **Clinical Biochemistry of Domestic Animals**. 6th ed. [S. l.]: Academic Press, 2008.

KINACI, A. *et al.* Histologic Comparison of the Dura Mater among Species. **Comp. Med.**, [s. l.], v. 70, ed. 2, p. 170-175, 2020. DOI 10.30802/AALAS-CM-19-000022. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32014084/>. Acesso em: 7 mar. 2022.

KÖNIG, H. E.; LIEBICH, H. **Anatomia dos animais domésticos**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2016. 824 p. ISBN 978-85-8271-300-6.

KOZLOV, I. Why Labor Epidural Causes Fever and Why Lidocaine Burns on Injection? Role of TRPV1 Receptor in Hyperthermia: Possible Explanation of Mechanism of Hyperthermia during Labor Epidural and Burning Sensation on Injection of Local Anesthetics. **Open Journal of Anesthesiology**, [s. l.], v. 2, p. 134-137, 2012. DOI 10.4236/ojanes.2012.24030. Disponível em: https://file.scirp.org/Html/8-1920033_22228.htm. Acesso em: 7 mar. 2022.

KULKARNEI, M. D. *et al.* Diagnostic importance of cerebrospinal fluid in pathognomic condition. **Veterinary World**, [s. l.], v. 2, n. 11, p. 441-443, 2009. Disponível em: <http://www.veterinaryworld.org/Vol.2/November/Diagnostic%20Importance%20of%20Cerebrospinal%20Fluid%20in%20Pathognomic%20.pdf>. Acesso em: 1 set. 2020.

LEBLANC, P. H. Chemical restraint for surgery in the standing horse. **Veterinary Clinics of North America: Equine Practice**, [s. l.], v. 7, n. 3, p. 521-533, 1991. DOI: 10.1016/s0749-0739(17)30484-4. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1820224/>. Acesso em: 30 ago. 2020.

LINDEGAARD, C. *et al.* Evaluation of pain and inflammation associated with hot iron branding and microchip transponder injection in horses. **American Journal of Veterinary Research**, [s. l.], v. 70, n. 7, p. 840-847, 2009. DOI: <https://doi.org/10.2460/ajvr.70.7.840>. Disponível em: <https://avmajournals.avma.org/doi/abs/10.2460/ajvr.70.7.840>. Acesso em: 31 ago. 2020.

LORENZ, M. D.; KORNEGAY, J. N. **Neurologia Veterinária**. 4. ed. [S. l.]: Manole, 2006.

MACWILLIAMS, P. S. Cerebrospinal Fluid. *In*: COWELL, R. L.; TYLER, R. D. **Diagnostic cytology and hematology of the horse**. 2nd ed. St. Louis: Mosby, 2002. cap. 11, p. 172-179.

MATATA, C. et al. Lumbar puncture: Diagnosing acute central nervous system infections. **Nursing Standard**, [s. l.], v. 27, n. 8, p. 49-56, 26 jul. 2012. DOI: 10.7748/ns2012.10.27.8.49.c9364. Disponível em: <https://journals.rcni.com/nursing-standard/lumbar-puncture-diagnosing-acute-central-nervous-system-infections-ns2012.10.27.8.49.c9364>. Acesso em: 15 out. 2019.

MAYHEW, I. G. Collection of cerebrospinal fluid from the horse. **Cornell Vet.**, [s. l.], v. 65, n. 4, p. 500-511, 1975. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1192748>. Acesso em: 3 out. 2019.

MAYHEW, I. G.; BEAL, C. R. Technique of analysis of cerebrospinal fluid. **The Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, [s. l.], v. 10, n. 1, p. 155-176, 1 fev. 1980. DOI: 10.1016/s0195-5616(80)50010-0. Disponível em: <https://europepmc.org/abstract/med/6996285>. Acesso em: 1 out. 2019.

MAYHEW, I. G.; WHITLOCK, R. H.; TASKER, J. B. Equine cerebrospinal fluid: Reference values of normal horses. **American Journal of Veterinary Research**, [s. l.], v. 38, n. 8, p. 1271-1274, set. 1977. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/22244050_Equine_cerebrospinal_fluid_Reference_values_of_normal_horses. Acesso em: 10 out. 2019.

MILLER, M. M. *et al.* Effects of blood contamination of cerebrospinal fluid on western blot analysis for detection of antibodies against *Sarcocystis neurona* and albumin quotient and immunoglobulin G index in horses. **Journal of American Veterinary Medical Association**, [s. l.], v. 215, ed. 1, p. 67-71, 1999. DOI 10397068. Disponível em: <https://europepmc.org/article/MED/10397068>. Acesso em: 7 mar. 2022.

NATALINI, C. C.; ROBINSON, E. P. Effects of lumbosacral subarachnoid catheterization in horses. **Veterinary Surgery**, [s. l.], v. 28, n. 6, p. 525-528, 1 nov. 1999. DOI: 10.1111/j.1532-950X.1999.00525.x. Disponível em: <https://europepmc.org/abstract/MED/10582752>. Acesso em: 2 out. 2019.

ORSINI, J. A.; DIVERS, T. J. **Equine emergencies: treatment and procedures**. 4. ed. St. Louis: Elsevier, 2014. 917 p. ISBN 978-1-4557-0892-5.

PARRY, B. W. Clinical Pathology Reference Data. *In*: SPRAYBERRY, K. A.; ROBINSON, N. E. **Robinson's Current Therapy in Equine Medicine**. 7th ed. [s. l.]: Saunders, 2015. Apêndice 2, p. 956-978.

PEASE, A. P. Cerebrospinal fluid standing tap. *In*: SPRAYBERRY, K. A.; ROBINSON, N. E. (ed.). **Robinson's current therapy in equine medicine**. 7th ed. [S. l.]: Elsevier, 2015. cap. 84, p. 366-368.

PEASE, A.; BEHAN, A.; BOHART, G. Ultrasound-guided cervical centesis to obtain cerebrospinal fluid in the standing horse. *Veterinary Radiology & Ultrasound*, [s. l.], v. 53, n. 1, p. 92-95, 10 ago. 2011. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1740-8261.2011.01855.x>. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1740-8261.2011.01855.x>. Acesso em: 3 out. 2019.

RABÊLO, H. T. L. B. *et al.* Anestésicos locais utilizados na odontologia: Uma revisão da literatura. **Arch Health Invest**, [s. l.], v. 8, ed. 9, p. 540-548, 2019. DOI <https://doi.org/10.21270/archi.v8i9.4655>. Disponível em: <https://archhealthinvestigation.emnuvens.com.br/ArcHI/article/view/4655>. Acesso em: 7 mar. 2022.

RADOSTITS, O. M. *et al.* **Clínica Veterinária: Um tratado de doenças dos bovinos, ovinos, suínos, caprinos**. 11. ed. São Paulo: Guanabara, 2020. 2400 p. ISBN 9788527736923.

REED, S. M.; BAYLY, W. M.; SELTON, D. C. **Equine Internal Medicine**. 4. ed. St. Louis: Elsevier, 2018. 1576 p. ISBN 978-0-323-44329-6.

SCHWARZ, B.; PIERCY, R. J. Cerebrospinal fluid collection and its analysis in equine neurological disease. *Equine Veterinary Education*, [s. l.], v. 18, n. 5, p. 243-248, 2006. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.2042-3292.2006.tb00456.x>. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.2042-3292.2006.tb00456.x>. Acesso em: 2 out. 2019.

SIEGEL, A. Cerebrospinal Fluid. *In*: WALTON, R. M. (ed.). **Equine Clinical Pathology**. 1st ed. [S. l.]: John Wiley & Sons, 2014. cap. 13, p. 253-269.

SMITH, A. Anesthetic Considerations for Horses with Neurologic Disease. *In*: FURR, M.; REED, S. (ed.). **Equine Neurology**. 1st ed. [S. l.]: Blackwell Publishing, 2008. cap. 11, p. 149-156.

SWEENEY, C. R.; RUSSELL, G. E. Differences in total protein concentration, nucleated cell count, and ref blood cell count among sequential samples of cerebrospinal fluid from horses. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, [s. l.], v. 217, n. 1, p. 54-57, 1 jul. 2000. DOI: <https://doi.org/10.2460/javma.2000.217.54>. Disponível em: <https://avmajournals.avma.org/doi/abs/10.2460/javma.2000.217.54>. Acesso em: 3 out. 2019.

