

Abanico Veterinario. Janeiro-Dezembro 2020; 10:1-9. <http://dx.doi.org/10.21929/abavet2020.12>
Artigo Original. Recebido: 17/02/2020. Aceito: 10/06/2020. Publicado: 25/06/2020. Chave:2020-21.

Comparação de três locais de coleta de sangue para avaliação fisiometabólica em leitões

Comparison of three blood-sampling sites, for physiometabolic evaluation piglets

Sánchez-Salcedo José¹ ID, González-Lozano Miguel² ID, Bonilla-Jaime Herlinda³ ID, González-Hernández Milagros⁴ ID, Ballesteros-Rodea Gilberto⁴ ID, Orozco-Gregorio Héctor⁴ ID

¹Universidad Autónoma Metropolitana, Doctorado en Ciencias Biológicas y de la Salud, Ciudad de México, México. ²Universidad Nacional Autónoma de México, Centro de Enseñanza, Investigación y Extensión en Producción Porcina, Jilotepec, Estado de México. ³Universidad Autónoma Metropolitana, Departamento de Biología de la Reproducción, Ciudad de México, México. ⁴Universidad Autónoma de San Luis Potosí, Facultad de Agronomía y Veterinaria, San Luis Potosí, México. Autor responsável: Sánchez-Salcedo José. Autor para correspondência: Orozco-Gregorio Héctor. Centro de Enseñanza, Investigación y Extensión en Producción Porcina, Universidad Nacional Autónoma de México. Km. 2 Carretera Jilotepec-Corrales S/N, Col. La Dalia, 54240. Jilotepec, Estado de México, México. jsanchezsalcedo@xanum.uam.mx, migueglozano@yahoo.com.mx, bjh@xanum.uam.mx, milagros.gonzalez@uaslp.mx, gilberto.ballesteros@uaslp.mx, hector.orozco@uaslp.mx

RESUMO

A extração de sangue em leitões neonatais é necessária para a avaliação fisiometabólica e para determinar as alterações gasosas úteis no diagnóstico de vários fenômenos como asfixia intraparto; sendo a principal causa não infecciosa que origina uma elevada taxa de mortalidade neonatal em suínos. Nosso objetivo foi avaliar três dos locais de coleta de sangue mais comuns usados em leitões: cordão umbilical (CU), seio retro orbital (SRO) e veia cava (VC); bem como determinar as diferenças entre eles no que diz respeito às variáveis fisiometabólicas e ao equilíbrio ácido-básico. Trinta e dois leitões saudáveis de nove partos eutócicos foram selecionados aleatoriamente para os três locais de amostragem. Todas as concentrações fisiometabólicas apresentaram valores basais dos parâmetros fisiológicos fetais correspondentes ao local de coleta. No entanto, os valores de UC foram mais confiáveis para o diagnóstico de trocas gasosas durante asfixia, devido à sua semelhança com os parâmetros fisiológicos de um recém-nascido saudável ($pCO_2 = 36,10 \pm 2,03$, $pO_2 = 32,68 \pm 3,03$); enquanto para o perfil metabólico (glicose e lactato) os valores de ROS foram mais precisos na determinação de glicemia e lactato, em comparação aos demais locais. Portanto, quando o perfil fisiometabólico neonatal é necessário, a abordagem metodológica no local de amostragem deve ser específica, de acordo com os objetivos traçados e sua posterior interpretação.

Palavras-chave: leitões, gasometria, cordão umbilical, seio retroorbital e veia cava.

ABSTRACT

Blood drawing of newborn piglets is necessary for physio-metabolic profiles assessment, and to determine gas change levels in it, what it is in various phenomena diagnosis used, such as, intrapartum asphyxia a non-infectious condition that causes a high rate of neonatal mortality in pigs. This study aimed to test three of the most common blood sampling sites used in piglets: umbilical cord (UC), retro-orbital sinus (ROS), and cava vein (VC), besides determining the differences among them, concerning to physio-metabolic variables and the acid-base balance. Thirty-two healthy non-asphyxiated piglets were randomly selected, coming from nine eutocic farrowing to carry out the three sampling sites. All of the physio-metabolic concentrations determined showed basal values within normal fetal ranges corresponding to the sampling site. However, UC values were more suitable for gas exchange diagnosis in asphyxia due to their similarity with physiological parameters of a normal newborn ($pCO_2 = 36.10 \pm$

2.03, $pO_2 = 32.68 \pm 3.03$), whereas for the metabolic profile (glucose and lactate) ROS values were more accurate for measuring a common lactate and glycaemia profile than the other sites. Therefore, when a physio-metabolic profile is required, the methodological approach of the blood-sampling site should be adequate to obtain the data needed for research following planned objectives and subsequent interpretation.

Keywords: newborn pig, blood gasses, umbilical cord, retro orbital sinus, vena cava.

INTRODUÇÃO

Na suinocultura, existe uma elevada taxa de mortalidade neonatal, o que impacta diretamente na esfera econômica e no bem-estar dos animais. Nesse sentido, é amplamente aceito que de forma prática não houve uma diminuição significativa do número de natimortos nos últimos trinta anos, onde se estima que a mortalidade média oscila entre 16% e 20% (Baxter e Edwards, 2018); das quais 8% das mortes correspondem a processos de asfixia fetal e neonatal (Vanderhaeghe *et al.*, 2013; van Dijk *et al.*, 2005). Consequentemente, a asfixia intraparto é considerada a principal causa de origem não infecciosa subjacente à morte de um número considerável de leitões nas primeiras 72 horas pós-parto (Baxter *et al.*, 2011).

Algumas características dos leitões, como a integridade do cordão umbilical, a ordem de expulsão durante o parto e o peso ao nascer, podem predispor ao aparecimento de asfixia intraparto (Sánchez-Salcedo *et al.*, 2019^b). Essas alterações podem causar alterações na ventilação pulmonar neonatal, o que por sua vez provoca uma diminuição do fluxo de oxigênio para o cérebro (Herrera-Marschitz *et al.*, 2014), levando a possíveis danos neurológicos e má aquisição de imunidade passiva, com a consequente incapacidade de ganhar peso durante o período pós-natal (Orozco-Gregorio *et al.*, 2012). Além do exposto, os custos associados à mortalidade pré-desmame, da gestação ao parto, são próximos a 45,72 dólares (Seddon *et al.*, 2013); Portanto, é urgente o desenvolvimento de estratégias terapêuticas voltadas para a prevenção ou tratamento dessa condição.

Por isso, para o correto diagnóstico das disfunções respiratórias em leitões e para uma adequada intervenção terapêutica, é necessário avaliar o perfil fisiometabólico e as concentrações gasosas sanguíneas, como indicador fiável do prognóstico de viabilidade pós-parto dos recém-nascidos. Porém, a extração de sangue de um leitão recém-nascido é difícil, devido às condições inerentes ao nascimento (presença de fluidos no corpo, tamanho reduzido e movimentos rápidos); portanto, o local e o tempo de amostragem devem ser precisos. Nesse sentido, a gasometria pode ser realizada por meio de sangue arterial ou venoso, sendo a opção venosa o procedimento mais seguro e fácil em animais, como porcos. Porém, por se tratar duma espécie de polítopa, uma ampla gama de variáveis fisiometabólicas pode ser esperada no momento de seu nascimento em diferentes membros da mesma ninhada (Orozco-Gregorio *et al.*, 2012), o que torna necessário um diagnóstico individualizado.

Portanto, o objetivo da presente investigação foi avaliar três diferentes locais de coleta de sangue, para a determinação dos perfis fisiometabólicos em leitões recém-nascidos sem evidências de asfixia e suas diferenças entre os diversos locais de coleta: cordão umbilical (CU), seio retro-orbital (SRO) e veia cava (VC); a fim de determinar sua adequação no momento da tomada de decisão para o diagnóstico de asfixia intraparto.

MATERIAL E MÉTODOS

Condições de estudo. Leitões saudáveis sem evidência de sufocamento (n=32), nascidos de 9 porcas multíparas com parição eutócica ($3,6 \pm 0,32$ parição; peso: 200-280 kg) da raça híbrida Yorkshire-Landrace foram usados para realizar este estudo; a fim de determinar as diferenças de linha de base entre os três locais de amostragem. Todas as porcas foram alojadas no Centro de Ensino, Pesquisa e Extensão na Produção Suína da Universidade Nacional Autônoma do México (CEIEPP-UNAM), em condições normais de maternidade (dieta padrão e água *ad libitum* em gaiolas individuais com temperatura controlada de 23 ± 2 °C).

Todos os procedimentos realizados com animais foram aprovados pela Comissão Interna de Cuidado e Uso de Animais da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootécnica (CICUA-FMVZ-UNAM), com o número de aprovação de protocolo 062. Além disso, durante a realização as diretrizes nacionais para o uso ético de animais experimentais foram seguidas para todos os testes.

Procedimentos experimentais. As porcas foram selecionadas aleatoriamente para a amostragem de seus leitões (CU: n = 12 leitões, SRO: n = 10 leitões e VC: n = 10 leitões). Todos os partos foram induzidos 24 horas antes da data provável do parto (dia 115 de gestação) com 1 mL de cloprostenol intramuscular (Bioestrophan, Laboratorios Syva, Querétaro, México), de acordo com as práticas de rotina da unidade de produção. Ao nascer, nenhum leitão recebeu atenção médica ou intervenção terapêutica, para não interferir no processo natural do parto.

Imediatamente após o nascimento e em um tempo não superior a 10 segundos, as amostras de sangue CU e VC foram coletadas por punção com seringas heparinizadas (INHEPAR 5000 UI/mL, PiSA Farmaceutica, México; agulhas 23 gx1"); enquanto as amostras correspondentes a SRO foram coletadas através de tubos capilares de borosilicato também heparinizados (Orozco-Gregorio *et al.*, 2008; (Sánchez-Salcedo *et al.*, 2019^b). Imediatamente após a extração de sangue, concentrações de glicose (mg/dL), lactato (mg/dL), pH e pressões parciais de dióxido de carbono [pCO₂ (mm Hg)] e oxigênio [pO₂ (mm Hg)] foram quantificados, usando um gasômetro clínico automatizado (Epcocal Inc., Ottawa, Canadá).

Análise estatística. Para a análise dos resultados, os valores foram expressos em média \pm SE para as concentrações sanguíneas de pCO₂, pO₂, glicose, lactato e pH em cada um dos três locais de amostragem. Os dados foram analisados por meio de uma análise de variância (ANOVA) unilateral, seguida do teste de Holm-Sidak como post-hoc. Para todas as variáveis os valores de P <0,05 foram considerados significativos.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

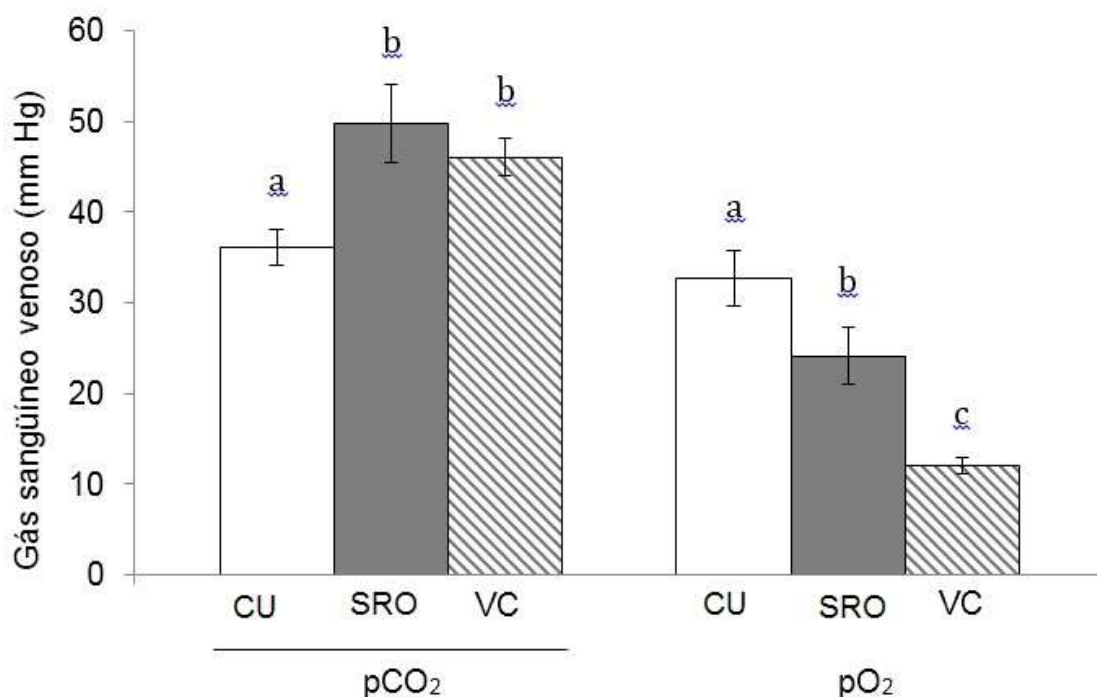


Figura 1. Valores basais de troca gasosa (mm Hg) no nascimento de três locais diferentes em leitões neonatais sem asfixia. Letras diferentes ^{a,b,c} dentro do mesmo grupo indicam diferenças significativas ($P < 0,05$). Os valores são mostrados como médias \pm EP e o teste Holm-Sidak como *post-hoc*, ($P < 0,05$)

Todas as porcas utilizadas para avaliação fisiometabólica de seus leitões tiveram partos eutócicos, com duração aproximada de $305,06 \pm 50,5$ minutos e média de $11,80 \pm 0,68$ leitões vivos por ninhada (ninhadas de $12,30 \pm 0,59$ leitões no total).

Durante o processo de parto, todos os fetos passam por períodos de hipóxia de gravidade variável; que, se não for interrompida pelo início da respiração espontânea no momento do nascimento, pode levar a processos de apnéia neonatal e levar à asfixia (Sánchez-Salcedo *et al.*, 2019^a).

É importante ressaltar que, antes do parto, o pH fetal esperado é de aproximadamente 7,35, para posteriormente diminuir de forma fisiológica para valores próximos a 7,25; sendo ambos os valores considerados normais. Porém, os valores de pH entre 7,25 e 7,20 são considerados subnormais, portanto, requerem monitoramento; enquanto aqueles abaixo de 7,20 indicam a presença iminente de hipóxia fetal (Sánchez-Salcedo *et al.*, 2019^a).

Como pôde ser evidenciado em nossos resultados, apenas os valores de pH obtidos na UC e VC foram consistentes com o perfil dos leitões não asfisiados (tabela 1); enquanto as amostras retiradas das SRO apresentaram valores médios sugestivos de asfixia (pH: $7,19 \pm 0,06$), sem os leitões apresentando indícios do proceso.

Portanto, o referido local de amostragem não é confiável para uma abordagem diagnóstica dessa alteração, pois podemos inferir que poderia ser ainda menos, em condições de asfixia em recém-nascidos. Além disso, para diagnosticar um processo como a asfixia, no qual a troca gasosa está envolvida, os valores de pH deverão estar diretamente relacionados ao oxigênio e ao dióxido de carbono.

As trocas gasosas são um aspecto fundamental para a avaliação fisiometabólica de leitões neonatais, pois essas variáveis permitem avaliar o grau de asfixia durante o parto, ao mesmo tempo que predizem a sobrevivência no pós-parto (Orozco-Gregorio *et al.*, 2008). Em relação às variáveis de trocas gasosas do presente trabalho (Figura 1), os valores de $p\text{CO}_2$ foram significativamente maiores nas amostras obtidas de SRO e VC ($49,76 \pm 4,35$ e $46,06 \pm 2,03$, respectivamente), em comparação com aquelas de CU ($36,10 \pm 2,03$, $P < 0,05$). Isso possivelmente se deve ao fato de que o estado ácido-básico neonatal se reflete melhor na circulação arterial umbilical; enquanto o conteúdo gasoso do sangue venoso umbilical (como tomado neste protocolo), depende principalmente do estado ácido-básico materno e das funções placentárias; mas não diretamente do recém-nascido (Yli e Kjellmer, 2016). Consequentemente, os valores obtidos para $p\text{CO}_2$ das amostras de CU não são de utilidade diagnóstica para os critérios aceitos para um recém-nascido asfítico (hipercapnia e acidose), uma vez que não concordam com o pH do mesmo local de amostragem, que corresponde para um perfil saudável ($7,34 \pm 0,04$), e mesmo com valores acima da média. Pelo contrário, os valores relatados de SRO e VC para $p\text{CO}_2$ podem ser associados aos descritos por Orozco-Gregorio *et al.*, (2012) para leitões saudáveis não asfixiados durante o parto e 24 horas depois ($60,4 \pm 18,7$ e $42,1 \pm 2,2$ mm Hg, respectivamente).

Em contraste, os valores de $p\text{O}_2$ de CU foram aproximadamente três vezes maiores do que aqueles obtidos de VC ($32,68 \pm 3,03$ mm Hg VS $12,01 \pm 0,89$ mm Hg, $P < 0,001$, respectivamente). Em nosso estudo, os valores de leitões saudáveis de VC foram menores do que os relatados para neonatos com asfixia ($21,7 \pm 10,5$ mm Hg) por Orozco-Gregorio *et al.*, (2012), sem um perfil asfítico em sua totalidade (valores pH e $p\text{CO}_2$ dentro dos intervalos normais); o que confirma que esses animais não eram recém-nascidos asfixiados; entretanto, seu $p\text{O}_2$ foi o mais baixo. Ao contrário, a amostragem de SRO apresentou valores 50% maiores que VC para a mesma variável ($p\text{O}_2$: $24,12 \pm 3,09$ mm Hg VS $12,01 \pm 0,89$ mm Hg, $P < 0,05$), mas menores que CU ($32,68 \pm 3,03$ mm Hg, $P < 0,05$); enquanto o oxigênio em SRO, da mesma forma que em VC, exibiu concentrações sugestivas de asfixia intraparto ($< 26,4 \pm 17,7$ mm Hg), o que pode gerar confusão e, portanto, levar a um diagnóstico errôneo, visto que nossos dados em conjunto não corresponderam aos critérios de inclusão de diagnóstico de um leitão com asfixia. No entanto, é amplamente aceito que o parto aumenta o risco de oxigenação comprometida pelo feto, o que pode levar a interrupções nas trocas gasosas, onde certos graus de hipoxemia e acidemia são normais; mesmo em fetos saudáveis durante um parto eutócico (Yli e Kjellmer, 2016).

Em nossos achados para pO_2 , as diferenças entre os três locais de amostragem correspondem mais a uma condição fisiológica do que patológica. No sangue CU, a concentração mais alta de oxigênio entregue ao feto está a uma pressão de apenas 30-35 mm Hg. Posteriormente, 50% do sangue venoso da CU passa pela circulação hepática e se mistura com o sangue pouco oxigenado, para passar da veia cava anterior para a circulação pulmonar; portanto, a amostra obtida de VC (12-24 mm Hg) normalmente será menos oxigenada (Hall, 2016). Por outro lado, a parte superior do corpo em fetos (SRO) é fornecida exclusivamente com sangue do ventrículo esquerdo, que tem uma pO_2 ligeiramente maior do que o sangue perfundido em direção à parte inferior do feto (Hall, 2016).

Quando concentrações subótimas de oxigênio estão presentes em qualquer tecido, ocorre uma perda da capacidade de fosforilação oxidativa e uma transição resultante de um estado metabólico aeróbio para um anaeróbico. Em condições anaeróbicas, o piruvato é reduzido a lactato, levando a uma transferência ineficiente de energia no neonato (Yli e Kjellmer, 2016).

Nossas concentrações de lactato obtidas em SRO foram significativamente maiores ($60,66 \pm 8,51$ mg/dL), do que aquelas de CU e VC ($41,36 \pm 5,08$ mg/dL e $35,21 \pm 7,51$ mg/dL, $P < 0,01$, respectivamente). No entanto, nossos valores de SRO são consistentes com aqueles relatados por Orozco-Gregorio *et al.*, (2008) para neonatos saudáveis ($65,3 \pm 15,5$ mg/dL), que também foram coletados de SRO. Nesse sentido, sabe-se que o lactato também pode funcionar como substrato de energia cerebral em um feto saudável em condições de hipóxia transitória inerente ao trabalho de parto típico, consumindo ainda mais substrato do que o metabolismo oxidativo (Boardman e Hawdon, 2015).

Tabela 1. Variáveis sanguíneas no parto retiradas de três locais de amostragem diferentes em leitões neonatais sem evidência de asfixia

| Variável | CU | SRO | VC |
|-----------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| pH | 7.34 ± 0.04 a | 7.19 ± 0.06 a | 7.27 ± 0.01 a |
| Glicose (mg/dL) | 38.91 ± 2.63 a | 43.60 ± 5.37 a | 38.20 ± 3.89 a |
| Lactato (mg/dL) | 41.36 ± 5.08 a | 60.66 ± 8.51 b | 35.21 ± 7.51 a |

Média \pm EP. CU = cordão umbilical SRO = seio retro orbital VC = veia cava. ^{a,b} Letras diferentes na mesma linha indicam diferenças significativas entre o local de amostragem ($P < 0,001$)

A glicose é considerada a principal fonte de energia dos leitões recém-nascidos, pois esses animais nascem com armazenamento limitado de energia; de forma que, se a suplementação de glicose e as necessidades de glicose estiverem equilibradas, os fetos obterão oxigenação adequada para metabolizar a glicose aerobicamente e transferir a energia necessária para as funções orgânicas (Yli e Kjellmer, 2016). No entanto, as concentrações de glicose no sangue relatadas por diferentes estudos não

são comparáveis com nossos achados, uma vez que são consideravelmente mais altas [CU: $52,25 \pm 0,12$ mg/dL (Rootwelt *et al.*, 2014); SRO: $89,3 \pm 11,4$ mg/dL (Orozco-Gregorio *et al.*, 2008); VC: $62,3 \pm 8,9$ mg/dL (Trujillo-Ortega *et al.*, 2007)], em comparação com nossos resultados (Tabela 1). A esse respeito, é necessário levar em consideração que nossas amostras de sangue foram obtidas imediatamente após o nascimento, com os leitões ainda em apnéia (<10 segundos pós-parto).

É amplamente aceito que uma queda significativa na glicose durante o trabalho de parto demonstra a rapidez com que as reservas desse substrato de energia se esgotam. Nesse momento, o feto (e posteriormente o neonato) precisa manter a normoglicemia por meio da glicólise anaeróbica, devido ao seu estado de hipóxia (Martz *et al.*, 2017); portanto, o cérebro neonatal imaturo, em comparação com um cérebro adulto maduro, é relativamente mais resistente a lesões causadas por hipoglicemia (glicose <40 mg/dL), lidando com essa alteração diminuindo as necessidades de energia do cérebro, aumentando o fluxo sanguíneo ao nível do cérebro e a mobilização de glicose; conseqüentemente melhorando a capacidade de usar o lactato como fonte alternativa de energia (Basu *et al.*, 2009).

Os resultados deste relatório indicam que entre os três locais de coleta de sangue para avaliação fisiometabólica de leitões neonatais, a principal diferença está na dinâmica dos gases sanguíneos, devido a um processo fisiológico normal. Outro aspecto considerável é a abordagem metodológica utilizada, onde a coleta de sangue da CU acaba sendo o único procedimento não invasivo em suínos recém-nascidos, com a limitação de poder obter sangue misto (arterial e venoso), em comparação com SRO e VC, onde ambos podem confirmar uma amostra venosa, mas não o bem-estar dos animais, se a amostragem for realizada por pessoal não treinado. Da mesma forma, tanto SRO quanto VC podem fornecer valores significativamente elevados e diminuídos, respectivamente, caso seja necessário um diagnóstico metabólico do neonato, baseado em glicose e lactato, portanto seu uso deve ser determinado de acordo com as necessidades da pesquisa, uma vez que eles não seriam totalmente funcionais na avaliação das capacidades respiratórias dos recém-nascidos. No entanto, e independentemente do local de amostragem, o diagnóstico correto de asfixia intraparto requer necessariamente o cumprimento dos critérios de hipercapnia, acidose e hipóxia, para ser considerado como uma ferramenta útil na produção.

CONCLUSÃO

A fim de determinar o local de coleta de sangue ideal para o diagnóstico de asfixia intraparto, pode-se concluir que os valores do cordão umbilical foram mais confiáveis para o diagnóstico das trocas gasosas durante a asfixia, devido à sua semelhança com os parâmetros fisiológicos de um recém-nascido saudável ($pCO_2 = 36,10 \pm 2,03$, $pO_2 = 32,68 \pm 3,03$); enquanto para o perfil metabólico, os valores dos seios retro-orbitais foram mais precisos na determinação da glicemia e do lactato.

LITERATURA CITADA

BASU P, Som S, Choudhuri N, Das H. 2009. Contribution of the blood glucose level in perinatal asphyxia. *European Journal of Pediatrics*. 168:833–838. ISSN: 1432-1076. <https://doi.org/10.1007/s00431-008-0844-5>

BAXTER EM, Edwards AS. 2018. Piglet mortality and morbidity. En: *Advances in Pig Welfare*. Elsevier. Pp. 73–100. ISBN: 9780081011195. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-101012-9.00003-4>

BAXTER EM, Jarvis S, Sherwood L, Farish M, Roehe R, Lawrence AB, Edwards SA. 2011. Genetic and environmental effects on piglet survival and maternal behaviour of the farrowing sow. *Applied Animal Behaviour Science*. 130:28-41. ISSN: 0168-1591. <https://doi.org/10.1016/j.applanim.2010.11.020>

BOARDMAN JP, Hawdon JM. 2015. Hypoglycaemia and hypoxic-ischaemic encephalopathy. *Developmental Medicine & Child Neurology*. 57:29–33. ISSN: 1469-8749. <https://doi.org/10.1111/dmcn.12729>

HALL JE. 2016. Guyton y Hall. Compendio de Fisiología Médica. Elsevier Health Sciences Spain. Pp. 157-166. ISBN: 9788491139253.

HERRERA-MARSCHITZ M, Neira-Pena T, Rojas-Mancilla E, Espina-Marchant P, Esmar D, Perez R, Muñoz V, Gutierrez-Hernandez M, Rivera B, Simola N, Bustamante D, Morales P, Gebicke-Haerter PJ. 2014. Perinatal asphyxia: CNS development and deficits with delayed onset. *Frontiers in Neuroscience*. 8:1–11. ISSN: 1662-453X. <https://doi.org/10.3389/fnins.2014.00047>

MARTZ P, Georgiev P, Wehrend A. 2017. Prolonged second stage labour and consequences of hypoxia in the neonate: A review. *Bulgarian Journal of Veterinary Medicine*. 22:131–142. ISSN: 1313-3543. <https://doi.org/10.15547/bjvm.2012>

OROZCO-GREGORIO H, Bonilla-Jaime H, Mota-Rojas D, Trujillo-Ortega ME, Roldan-Santiago P, Martínez-Rodríguez R, Borderas-Tordesillas F, Flores-Peinado S, Mora-Medina P, Ramírez-Necoechea R. 2012. Effects of subcutaneous administration of caffeine on the physiometabolic profile of low-birthweight neonate piglets. *Animal Production Science*. 52:981. ISSN: 1836-5787. <https://doi.org/10.1071/AN11199>

OROZCO-GREGORIO H, Mota-Rojas D, Alonso-Spilsbury M, Olmos-Hernandez A, Ramirez-Necoechea R, Velazquez-Armenta EY, Nava-Ocampo AA, Hernandez-Gonzalez R, Trujillo-Ortega ME, Villanueva-Garcia D. 2008. Short-term neurophysiologic consequences of intrapartum asphyxia in piglets born by spontaneous parturition. *International Journal of Neuroscience*. 118:1299–1315. ISSN: 1563-5279. <https://doi.org/10.1080/00207450701872846>

ROOTWELT V, Reksen O, Farstad W, Framstad T. 2013. Postpartum deaths: Piglet, placental, and umbilical characteristics. *Journal of Animal Science*. 91:2647–2656. ISSN: 1525-3163. <https://doi.org/10.2527/jas.2012-5531>

SÁNCHEZ-SALCEDO J, Bonilla-Jaime H, González-Lozano M, Hernández-Arteaga S, Greenwell-Beare V, Vega-Manriquez X, González-Hernández M, Orozco-Gregorio H. 2019a. Therapeutics of neonatal asphyxia in production animals: a review. *Veterinária medicina*. 64(05):191-203. ISSN: 1805-9392. <https://doi.org/10.17221/86/2018-vetmed>

SÁNCHEZ-SALCEDO JA, Orozco-Gregorio H, González-Lozano M, Roldán-Santiago P, González-Hernández M, Ballesteros-Rodea G, Bonilla-Jaime H. 2019b. Caffeine administered to pregnant sows improves piglet vitality, gas exchange and body weight gain. *Animal Reproduction Science*. 208:1-8. ISSN: 0378-4320. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2019.106120>

SEDDON YM, Cain PJ, Guy JH, Edwards SA. 2013. Development of a spreadsheet based financial model for pig producers considering high welfare farrowing systems. *Livestock Science*. 157:317-321. ISSN: 1871-1413. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2013.07.003>

TRUJILLO-ORTEGA ME, Mota-Rojas D, Olmos-Hernández A, González M, Orozco H, Ramírez-Necochea R, Nava-Ocampo AA. 2007. A study of piglets born by spontaneous parturition under uncontrolled conditions: could this be a naturalistic model for the study of intrapartum asphyxia? *Acta Biomedica: Atenei Parmensis*. 78(1): 29-35. ISSN: 2531-6745. <https://doi.org/10.1080/00207450701872846>

VANDERHAEGHE C, Dewulf J, de Kruif A, Maes D. 2013. Non-infectious factors associated with stillbirth in pigs: A review. *Animal Reproduction Science*. 139:76-88. ISSN: 0378-4320. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2019.106120>

VAN DIJK AJ, Van Rens BTTM, Van der Lende T, Taverne MAM. 2005. Factors affecting duration of the expulsive stage of parturition and piglet birth intervals in sows with uncomplicated, spontaneous farrowings. *Theriogenology*. 64:1573-1590. ISSN: 0093-691X. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2005.03.017>

YLI BM, Kjellmer I. 2016. Pathophysiology of foetal oxygenation and cell damage during labour. *Best Practice & Research: Clinical Obstetrics & Gynaecology*. 30:9–21. ISSN: 1521-6934. <https://doi.org/10.1016/j.bpobgyn.2015.05.004>