

**DIAGNÓSTICO DE GESTAÇÃO,
QUANTIFICAÇÃO E SEXAGEM FETAIS POR
MEIO DE ULTRA-SONOGRAFIA
CONVENCIONAL EM ÉGUAS E OVELHAS**

LILIAN MARA KIRSCH DIAS

2007

LILIAN MARA KIRSCH DIAS

**DIAGNÓSTICO DE GESTAÇÃO, QUANTIFICAÇÃO E
SEXAGEM FETAIS POR MEIO DE ULTRA-SONOGRAFIA
CONVENCIONAL EM ÉGUAS E OVELHAS**

Dissertação apresentada à
Universidade Federal de Lavras como
parte das exigências do Curso de
Mestrado em Zootecnia, área de
concentração em Produção Animal,
para obtenção do título de "Mestre".

Orientador

PhD José Camisão de Souza

LAVRAS
MINAS GERAIS - BRASIL

2007

**Ficha Catalográfica Preparada pela Divisão de Processos Técnicos da
Biblioteca Central da UFLA**

Kirsch Dias, Lilian Mara

Diagnóstico de gestação, quantificação e sexagem fetais por meio de ultrasonografia convencional em éguas e ovelhas / Lilian Mara Kirsch Dias. –
Lavras: UFLA, 2007.

70 p. : il.

Orientador: José Camisão de Souza.

Dissertação (Mestrado) – UFLA.

Bibliografia.

1. Equino. 2. Fetos. 3. Ovelha. 4. Sexo. 5. Tuberculo genital. 5. Cordeiros. I.
Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD-636.089607543

LILIAN MARA KIRSCH DIAS

**DIAGNÓSTICO DE GESTAÇÃO, QUANTIFICAÇÃO E
SEXAGEM FETAIS POR MEIO DE ULTRA-SONOGRAFIA
CONVENCIONAL EM ÉGUAS E OVELHAS**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras
como parte das exigências do Curso de Mestrado em
Zootecnia, área de concentração em Produção Animal,
para obtenção do título de "Mestre".

APROVADA em 7 de março de 2007

Prof. Dr. Henrique Ribeiro Alves de Resende UFLA

Prof. Dra Nadja Gomes Alves UFLA

Prof. Dr. Carlos Artur Lopes Leite UFLA

Phd José Camisão de Souza

UFLA

(Orientador)

LAVRAS

MINAS GERAIS - BRASIL

Aos meus pais, Irene e Edson, pelo amor e incentivo.

DEDICO

AGRADECIMENTOS:

À minha mãe, meu anjo da guarda, agradeço todo seu carinho, amor e dedicação à família .

Ao meu pai, meu melhor amigo, agradeço pelo amor incondicional, apoio, força e ensinamentos de cada dia.

Ao meu irmão, Márcio, pelo carinho, apoio e torcida.

Ao meu irmão, Júnior, pelo amor, incentivo, força e presença.

Ao meu orientador, mestre e amigo, José Camisão de Souza pela confiança, apoio, amizade e ensinamentos durante estes cinco anos de convivência.

A toda minha família (Sueli, Maria-Estela, Rafael, Carol, Edmar, Ednilse, Sérgio, Mônica, Sibebe, Simone, Ednea, Francisco, Luís, René, Elaine, Vovô Estevão, Vovó Ana, Vovó Maria, Vovô Antônio, Ednasir, Thiago, Alê, Jorges, Cristina, Vanessa, Priscila, Aninha, Luís, Marcos, Lucas, Alex e Katy) responsáveis por minha estrutura emocional, pelo sentimento de união e amor, agradeço por transmitirem muita energia positiva de apoio e carinho.

À minha tia Ednasir pela sua presença de amor, seu carinho maternal, compreensão e apoio nos momentos difíceis.

À minha amiga de infância, Luciana, agradeço sua amizade incondicional, companheirismo, e apoio nestes últimos 15 anos.

À minha amiga Renata que, mesmo distante, sempre me fortaleceu com suas palavras de amizade, com seu apoio e carinho.

À minha amiga Thaísa, irmã de coração, sintonia total de pensamentos e ações, obrigada por tudo!

À minha amiga Viviane, pessoa iluminada, irradia alegria para quem está em volta. Agradeço por me receber em sua casa e por todas as vezes que me fez rir e me confortou com suas palavras.

A todos os meus amigos de graduação, em especial José Nélio, Matheus, Adriana, Marcus, Endrigo, Duzão, Roberta, Ludmila, Daniela e amigos do Predinho agradeço pelos ótimos momentos que me ajudaram a suportar a saudade da família.

Aos meus amigos de Pós-Graduação Roberta, Marcela e Gilberto agradeço de coração a amizade e ajuda nas pesquisas.

A todos os estagiários da ovinocultura pela ajuda no projeto.

Aos funcionários dos haras, em especial Edvaldo por estar sempre pronto para ajudar.

Aos amigos André Canizza e Maico Santos pelo incentivo e ajuda no experimento.

Aos animais, todo meu respeito e agradecimento por contribuírem para o meu aprendizado e pesquisa.

Ao Departamento de Zootecnia por permitir a continuação dos meus estudos.

Aos professores: Nadja Alves, Henrique Resende e Carlos Leite pela ajuda no projeto.

A CAPES, pelo apoio financeiro.

A Deus por tudo!

**Viva!!! Bom mesmo é ir à luta com determinação,
abraçar a vida e viver com paixão,
perder com classe e vencer com ousadia,
porque o mundo pertence a quem se atreve
e a vida é muito para ser
insignificante.**

"Charlie Chaplin"

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS	11
RESUMO.....	ii
ABSTRACT.....	iii
INTRODUÇÃO.....	5
CAPÍTULO 1	7
REVISÃO DE LITERATURA	7
1.TÉCNICAS DE SEXAGEM FETAL EM ÉGUAS E OVELHAS	7
2.PERÍODO DE GESTAÇÃO PARA REALIZAR A SEXAGEM FETAL EM EQUÍNOS E OVINOS.....	8
3.PONTOS QUE DETERMINAM A EFICIÊNCIA DA SEXAGEM.....	9
4. ACURÁCIA DA SEXAGEM FETAL EM ÉGUAS E OVELHAS	10
5.DIAGNÓSTICO DE GESTAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO FETAL EM OVINOS.....	10
REFERÊNCIAS.....	13
CAPÍTULO 2	17
SEXAGEM FETAL EM ÉGUAS.....	17
RESUMO.....	18
ABSTRACT.....	19
INTRODUÇÃO.....	20
MATERIAL E MÉTODO.....	22
RESULTADOS	29
DISCUSSÃO E CONCLUSÕES	33
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	38

CAPÍTULO 3	40
DIAGNÓSTICO DE GESTAÇÃO, QUANTIFICAÇÃO E SEXAGEM FETAL EM OVELHAS	40
RESUMO.....	41
ABSTRACT.....	42
INTRODUÇÃO.....	43
MATERIAL E MÉTODOS	45
RESULTADOS	53
DISCUSSÃO E CONCLUSÕES	59
REREFÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	66
CAPÍTULO 4	69
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	69

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Resultados da determinação do sexo fetal em éguas expressos numericamente e em porcentagens	29
Tabela 2 - Efeito do período de gestação sobre a acurácia da sexagem fetal.	30
Tabela 3 - Resultados da sexagem fetal a campo e após visualização em DVDs	30
Tabela 4 - Resultados da sexagem fetal em relação à tolerância das éguas ao exame.	31
Tabela 5 - Efeito do observador sobre os resultados de determinação do sexo fetal.....	31
Tabela 6 - Efeito do sexo sobre a acurácia dos exames de sexagem	32
Tabela 7 - Efeito da raça sobre a acurácia dos exames de sexagem.	32
Tabela 1 - Dados do rebanho: raça, taxa de gestação e taxa de aborto expressos numericamente e em porcentagens	53
Tabela 2 - Acurácia da quantificação fetal em relação ao tipo de prenhez.....	55
Tabela 3 - Resultados de determinação do sexo fetal	56
Tabela 4 - Efeito do período de gestação sobre a acurácia da sexagem fetal.	56
Tabela 5 - Efeito do sexo do feto sobre a acurácia da sexagem.....	57
Tabela 6 - Efeito de tipo de gestação sobre a acurácia da sexagem fetal.....	58
Tabela 7 - Efeito do tempo de exame sobre a acurácia da sexagem fetal.....	58

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Plano transversal da região abdominal do feto macho com 65 dias de gestação. Observar a imagem hiperecogênica do tubérculo genital (↑) próximo ao cordão umbilical.	26
Figura 2: Plano frontal do feto macho com 64 dias de gestação. Imagem hiperecogênica do tubérculo genital (↑) e membros.	26
Figura 3: Plano transversal da região pélvica do feto macho 68 dias de gestação. Observar a ausência do tubérculo genital entre a cauda (↑) e membros pélvicos (imagem transversal da tíbia) (↑)	27
Figura 4: Plano transversal da região pélvica do feto fêmea com 68 dias de gestação. Observar a imagem hiperecogênica do tubérculo genital (↑) entre a imagem hiperecogênica de cauda e membros pélvicos	27
Figura 5: Plano frontal da região posterior do feto com 68 dias de gestação. Este posicionamento do feto não permite a determinação do sexo. Observar as imagens hiperecogênica da coluna cervical (↑) e não-ecogênica do úraco (↑).	28
Figura 6: Plano transversal da cabeça (↑) do feto com 72 dias de gestação. Observar a grande quantidade de estruturas ecogênicas. Este posicionamento não permite a identificação do sexo.	28
Figura 1: ovelha Santa Inês presa a uma gaiola. Observar a utilização da barrigueira para suspensão do abdômen do animal.	46
Figura 2: Imagem da região pélvica do feto fêmea com 53 dias de gestação. Observar as imagens não-ecogênica do úraco (↑) e ecogênica do cordão umbilical (↑) à direita do úraco. Observar que a cauda (↑) está impedindo a visualização do tubérculo genital.	50
Figura 3: Mesmo feto da figura anterior, mas com a cauda (↑) deslocada, permitindo a visualização do tubérculo genital logo abaixo (↑). Observar a imagem do cordão umbilical (↑).....	50
Figura 4: Plano frontal: imagem da cabeça (↑) e coluna cervical (↑) do feto com 58 dias de gestação. Este posicionamento não permite a identificação do tubérculo genital.	51
Figura 5: Observar a imagem do útero com a presença de dois fetos em plano transversal com 53 dias de gestação. No feto à esquerda, é possível visualizar a região não-ecogênica do úraco (↑). É possível visualizar a região abdominal (↑) e o cordão umbilical (↑) no segundo feto	51
Figura 6: Plano sagital do feto macho com 56 dias de gestação. Observar a imagem hiperecogênica do tubérculo genital (↑) e do cordão umbilical. (↑) logo à frente.	52
Figura 7: Imagem do útero gestante (35 dias) com grande quantidade de líquido (imagem não-ecogênica).	52

RESUMO

KIRSCH DIAS, Lilian Mara. Diagnóstico de gestação, quantificação e sexagem fetais por meio de ultra-sonografia convencional em éguas e ovelhas. 2007. 70 p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Federal de Lavras, MG.*

Experimento I: foi realizado um exame ultra-sonográfico em 35 éguas gestantes (Mangalarga Marchador, n=21 ; Quarto de Milha n=14:). O tempo de gestação das éguas variou de 57 a 81 dias. Todos os exames foram gravados para posterior análise e entregues a outro veterinário para que fizesse seu diagnóstico. Após o nascimento dos potros, os respectivos sexos foram observados para determinar a acurácia do exame de sexagem fetal. Os dados foram analisados pelo Qui-quadrado (χ^2) ou Teste de Fisher. O sexo foi diagnosticado em 82,9% (n=29) dos 35 fetos examinados, sendo que em 89,6% (n=26) dos casos, o diagnóstico do sexo dos fetos foi correto. A acurácia da determinação do sexo fetal foi maior a partir de imagens gravadas. Houve efeito do observador na proporção de exames sem diagnóstico. Não houve diferença significativa entre os observadores sobre acurácia da sexagem. Houve efeito do sexo sobre a acurácia na determinação do sexo fetal. Portanto, a sexagem fetal em éguas é possível, sendo mais eficaz a partir de imagens gravadas, com operador experiente, podendo ser influenciada pelo sexo do feto. Experimento II: Foi realizado apenas um exame ultra-sonográfico intra-retal em cada ovelha para simular uma rotina de exames a campo. Para o diagnóstico da sexagem fetal foram utilizadas 55 ovelhas da raça Santa Inês com período de gestação entre 49 e 59 dias. As imagens de todos os exames foram gravadas em DVD para permitir posterior análise. Foi adotado um escore para avaliar a percentagem de certeza do diagnóstico (65%, 95% e 99%). Após o nascimento dos cordeiros, os respectivos sexos foram observados para determinar a precisão do exame para diagnóstico do sexo fetal. Os dados foram analisados como no experimento I. Dos 69 fetos examinados, foi possível diagnosticar o sexo fetal em 87% (n =60). Destes fetos, 90% (n=54) tiveram o sexo diagnosticado corretamente. Quanto à acurácia da sexagem, o diagnóstico de campo não foi diferente dos diagnósticos feitos após a observação de imagens gravadas. Não houve diferença significativa entre os exames em relação ao critério de percentagem de certeza do diagnóstico. Portanto, a acurácia da sexagem fetal em ovelhas depende do tipo de gestação e da experiência do operador para alcançar índices ótimos.

* Comitê Orientador: José Camisão de Souza - UFLA (Orientador), Henrique Ribeiro Alves de Resende – UFLA, Carlos Artur Lopes Leite – UFLA, Nadja Gomes Alves – UFLA.

ABSTRACT

KIRSCH DIAS, Lilian Mara. **Gestation diagnostic, quantification and fetal sexing in mare and ewes by ultrasonography.** 2007. 70 p. Dissertation (Master Program in Animal Science) – Federal University of Lavras, Lavras, MG.*

The objective of experiment I: was to evaluate the accuracy of fetal sex determination, with a single exam, with images recorded on DVD. Thirty five mares of the Mangalarga Marchador (n=21) and Quarter Horse (n=14) breeds were examined by ultrasound using an Aloka 500 with a 5.0 MHz probe. Mare gestational ages varied from 57 to 81 days. All DVDs recorded were examined by a second veterinarian in order to compare the effect of the observer on accuracy. A score was used and was applied to evaluated diagnose certainty. Each exam duration was recorded to evaluate the effect of mare exam tolerance. Data was analyzed through chisquare (χ^2) or Fisher's test. Of 35 examined fetuses, it was possible to diagnose the fetal sex in 82.9% (n=29). Of the diagnosed fetuses, 89,6% (n=26) were correct. Fetal sexing accuracy was higher with recorded images compared to live exams. There was an observer effect on the proportion of exams without diagnosis. There was no difference between observer on sexing accuracy. It was more difficult to determine the female fetus sex compared to male. There was no certainty percentage effect as to sexing, breed, gestational age and of mare exam tolerance on fetal sexing accuracy. Therefore, fetal sexing in mares is a viable process, being more efficient from recorded images and with more experienced examiner. The objective of experiment II: was to evaluate the accuracy of gestation, fetal sexing and quantification diagnoses in ewes. Only one intra-rectal exam was performed on each ewe to simulate routine farm exams. Pregnancy was diagnosed in the whole herd (n=105) jointly with fetal quantification when fetal age was close to 35 ± 1 day. For the fetal sexing diagnose 55 Santa Inês breed ewes between 49 and 59 days of pregnancy were used. All exams were recorded on DVD for posterior analyses. A score system was applied to evaluate the percentage(65%, 95% and 99%)of diagnostic certainty. After birth, lamb sex was recorded to determine fetal sexing precision. Data were analyzed by chisquare (χ^2) or Fisher's test. One hundred percent of pregnancy ultrasound diagnoses were correct. On the other hand, for the fetal quantification diagnose, there was an error of 12% and the remaining 88% were correct conclusions. It was possible to diagnose the fetal sex in 87% (n=60) of the 69 examined fetuses. Of the fetuses with a diagnosis, 90% (n=54) were diagnosed correctly. The real time or live farm exam did not differ from the recorded DVD image

* Guidance Committee: José Camisão de Souza - UFLA (Major Professor), Henrique Ribeiro Alves de Resende – UFLA, Carlos Artur Lopes Leite – UFLA, Nadja Gomes Alves – UFLA.

exam. There was no difference between the methods in relation to the diagnostic certainty percentage. Therefore, pregnancy diagnosis accuracy may reach 100%, differing from fetal sexing and quantification which are dependent upon other variables such as fetal gender and examiner experience.

INTRODUÇÃO

A ultra-sonografia foi incorporada à Medicina Veterinária na década de 80 e desde então tornou-se uma ferramenta de grande utilidade para a reprodução animal. Através do exame ultra-sonográfico, pode-se acompanhar o ciclo estral, diagnosticar e avaliar transtornos reprodutivos, diagnosticar a prenhez, sexo fetal e no caso de espécies multíparas, como os ovinos, quantificar os fetos.

O diagnóstico precoce da gestação e quantificação fetal são recursos que podem aperfeiçoar o sistema reprodutivo e agregar valor à atividade pecuária tecnificada, por racionalizar as ações de manejo e comercialização dos animais.

A sexagem fetal é uma técnica que pode contribuir para aumentar o lucro tanto no setor de equideocultura como de ovinocultura. Isto porque permite ao criador planejar os cruzamentos com antecedência, selecionar o rebanho em menor tempo, agregar valor ao produto e à própria fêmea gestante, além de influenciar na produção animal. A sexagem também permite melhor planejamento para adquirir e comercializar animais, concentrando as fêmeas nos rebanhos leiteiros e os machos nos de corte. Além disso, a determinação do sexo fetal dinamizam os projetos de pesquisa com sexagem embrionária e de espermatozoides.

A técnica de sexagem fetal nas espécies eqüina e ovina tem sido pouco explorada tanto na rotina de exames de campo quanto em pesquisas científicas. Isto ocorre, possivelmente, pelo maior interesse comercial pela espécie bovina, baixos índices de exames com determinação correta do sexo fetal, deficiência de treinamento e capacitação dos médicos veterinários, falta de equipamentos adequados e pelo desconhecimento da técnica pelos próprios criadores.

Considerando o crescimento dos setores de equideocultura e ovinocultura no país, torna-se importante o estudo da técnica de sexagem fetal, para que esta possa ser incorporada aos exames reprodutivos de rotina e proporcionar benefícios econômicos a estes setores.

CAPÍTULO 1

REVISÃO DE LITERATURA

1. Técnicas de sexagem fetal em éguas e ovelhas

A sexagem fetal pode ser feita pela visualização do tubérculo genital ou da própria genitália externa, sendo o exame realizado pela(s) via(s) retal e/ou abdominal. (Curran & Ginther, 1989; Renaudin et al, 1999; Wolf & Gabaldi, 2002; Holder, 2003; Bucca, 2005). O tubérculo genital é a estrutura embrionária que originará o pênis no macho ou o clitóris na fêmea (Noden et al, 1998). Até o 55º dia de gestação nos eqüinos de ambos os sexos, situa-se entre os membros pélvicos, na porção ventral da linha média do corpo (Barros & Visintin, 2001; Mari et al, 2002; Holder, 2003; Ali, 2004; Bucca, 2005). Com o desenvolvimento do feto, o tubérculo genital inicia uma migração cranial, em direção ao cordão umbilical, no feto masculino e caudal, em direção à base da cauda, no feto feminino.

O tubérculo genital durante o exame ultra-sonográfico aparece como um sinal de igualdade hiperecogênico, bilobulado, de aproximadamente 2 a 3 milímetros de comprimento (Curran e Ginther, 1989).

Na sexagem fetal, deve-se seguir o critério de localizar a cabeça, o coração, a cauda e o cordão umbilical do feto para que sua correta orientação seja observada e assim se possa determinar com precisão a posição do tubérculo genital, antes do diagnóstico do sexo. Geralmente, o plano transversal contribui

para a determinação do tubérculo genital e dos pontos de referência descritos, enquanto o plano frontal determina a localização relativa do tubérculo genital em relação às estruturas adjacentes (Curran, 1992).

2. Período de gestação para realizar a sexagem fetal em eqüinos e ovinos.

O período ideal para a sexagem fetal nas éguas é entre o 59º e o 68º dia de gestação. Antes deste período, existe a possibilidade de o tubérculo genital ainda não ter finalizado sua migração e exames feitos nessas circunstâncias podem induzir à emissão de diagnósticos errados. A partir do 69º dia de gestação, a acurácia diminui drasticamente devido a problemas na obtenção de uma visualização adequada da região posterior do feto eqüino, já que este se posiciona profundamente no útero da égua, tornando inacessível sua imagem ultra-sonográfica (Curran, 1992; Wolf & Gabaldi, 2002; Bucca, 2005).

Nos fetos das raças Santa Inês, Dorper, Damara e Morada Nova, a migração do tubérculo genital ocorre entre o 37º e 46º; 38º e 48º; 38º e 51º; e 38º e 48º dia de gestação respectivamente (Santos et al, 2006 a,b; Santos et al, 2007 a, b).

Recomenda-se, no entanto, que a sexagem de fetos ovinos originados de monta natural seja realizada a partir do 50º dia de gestação. Quanto aos fetos provenientes da transferência de embriões descongelados, a migração do tubérculo genital ocorre mais tardiamente, entre o 36º e o 58º dia de gestação na raça Dorper e entre o 42º e o 52º na raça Morada Nova -- sendo que neste caso, o diagnóstico do sexo fetal deve ser efetuado pelo menos a partir do 55º dia de gestação (Santos et al, 2006 b).

Em relação às raças nativas e exóticas, pesquisas têm sido feitas a fim de estabelecer com maior precisão o período de migração do tubérculo genital de caprinos e ovinos, visando a aumentar a acurácia do diagnóstico do sexo fetal (Santos et al, 2005c; Santos et al, 2006 a, b; Santos et al, 2007 a, b).

3. Pontos que determinam a eficiência da sexagem

Os pontos que determinam a eficiência da sexagem fetal são: utilização de *scanners* de alta qualidade, com pouca luz externa; tela próxima e à altura dos olhos do operador; seleção de animais tolerantes ao procedimento; experiência do médico veterinário; adequada visualização do tubérculo genital e alto grau de certeza do diagnóstico (Curran & Ginther, 1989; Wolf & Gabaldi, 2002).

A sexagem fetal com base unicamente no posicionamento do tubérculo genital requer habilidade e experiência do operador, além de equipamento ultrasonográfico apropriado, que permita qualidade de imagem para distinguir as estruturas anatômicas responsáveis pela identificação do sexo. Segundo Santos (2006 a), o transdutor de dupla frequência permite melhores resultados para sexagem fetal nos pequenos ruminantes.

Durante os estudos, ocorrem mais erros de determinação do sexo fetal das fêmeas do que dos machos. Isto pode ser explicado pela maior dificuldade de localização do tubérculo genital nas fêmeas, que pode ser escondido pela cauda do feto. De forma semelhante, dificuldades no exame podem ocorrer devido à seção transversal do membro pélvico flexionado, que pode simular o tubérculo genital do feto macho (Merck et al, 1999; Marie et al, 2002; Ali, 2004).

4. Acurácia da sexagem fetal em éguas e ovelhas

A acurácia da sexagem fetal em éguas varia bastante entre os pesquisadores. Curran (1992) observou 97% de exames corretos. Mari e colaboradores (2002) avaliaram a eficiência do exame de sexagem fetal em condições de campo e relataram 74% de exames corretos. Merkt e colaboradores (1999) determinaram o sexo em 50,7% dos exames com 85% de acurácia e observaram que a visualização de imagens gravadas dos exames quase dobrou a eficiência da sexagem.

A acurácia da sexagem fetal em ovinos pode variar de 78% a 100% (Coughbrough & Castell 1998; Bürstel et al , 2002; Andrade et al 2004; Santos et al 2005 a, c; Santos, 2006 a; Santos, 2007 a, b) e pode ser afetada por gestações múltiplas (Bürstel et al 2002; Oliveira et al, 2005; Santos et al, 2005 b), especialmente quando utilizada apenas a visualização do tubérculo genital para determinar o sexo dos fetos. Dependendo do período e tipo de gestação, nem sempre é possível quantificar todos os fetos de forma precisa, como ocorre nas gestações múltiplas e, muito menos, identificar o sexo de todos num único exame (Santos, 2006 a, b).

5. Diagnóstico de gestação e quantificação fetal em ovinos

O primeiro relato de utilização da ultra-sonografia na reprodução dos animais domésticos foi no diagnóstico de gestação em ovinos (Lindahl, 1966). No entanto, foi na década de 80 que a técnica se difundiu e os veterinários reconheceram a ultra-sonografia como instrumento valioso de diagnóstico e

pesquisa (Santos, 2004). Este recurso tem sido amplamente utilizado para diagnóstico precoce da gestação em pequenos ruminantes (Martinez et al, 1998) com acurácia próxima de 100% (Buckrell, 1988; Garcia et al, 1993; Haibel, 1990).

Além disso, a quantificação fetal através do exame ultra-sonográfico contribui para racionalizar as formas de manejo, sendo este um fator relevante a ser considerado pois implica benefícios financeiros para a produção de ovinos. Este método permite, por exemplo, eliminar do rebanho ovelhas não gestantes ou com problemas reprodutivos, reduzindo gastos com alimentação destes animais. Além disso, a diferenciação de gestações únicas e múltiplas permite ao criador fornecer um manejo nutricional adequado no final da gestação, otimizando peso ao nascimento, ganho de peso e sobrevivência dos cordeiros (White et al, 1984; Gearhart et al, 1988; Santos et al 2004 e 2006b).

As principais imagens do ultra-som de tempo real que caracterizam a fase inicial da gestação são: presença de líquido intra-uterino, visualização da vesícula embrionária, detecção de pelo menos um embrião, visualização dos batimentos cardíacos fetais, identificação da membrana amniótica, visualização dos placentomas, diferenciação de cabeça e tronco, identificação do botão germinativo dos membros, movimento embrionário fetal, delimitação do cordão umbilical e visualização do globo ocular (Chalhoub, 2002; Santos, 2004).

A vesícula embrionária já pode ser vista no 20º dia de gestação com transdutor transretal (Azevedo et al, 2001), porém a acurácia próxima a 100% no diagnóstico de gestação ocorre a partir do 32º dia (Garcia et al, 1993). No 35º dia de gestação, o saco gestacional mede aproximadamente 100 x 63 mm com presença de formação esquelética, determinando imagens com fortes ecos (Santos, 2004). No 36º dia, pode ser feito um diagnóstico preciso da diferenciação do embrião ovino em cabeça e tronco, assim como a identificação do botão germinativo dos membros, quando se utiliza um transdutor linear de

5,0 MHz, (Azevedo et al, 2001). O período para sua observação do movimento fetal varia de 36 a 45 dias (Azevedo et al, 2001; Buckrell et al, 1986).

O cordão umbilical pode ser precocemente identificado entre o 24° e 30° dia de gestação, coincidindo com o dia de identificação dos placentomas. Em fases mais avançadas de gestação, a observação do cordão umbilical torna-se mais fácil, passando a ser, inclusive, um importante ponto de referência para realização da sexagem fetal (Santos, 2004).

A quantificação fetal pode ser realizada no 31° dia, embora a determinação seja mais segura quando feita pela via transabdominal e entre o 40° e 100° dia de gestação (White et al, 1984; Gearhart et al, 1988). A diferenciação entre gestação dupla, tripla e quádrupla torna-se difícil em virtude de o número de fetos normalmente ser subestimado (Buckrell, 1988).

Segundo White et al (1984) e Santos et al (2004), existem muitas informações sobre a nutrição de pequenos ruminantes domésticos durante o final da gestação, porém, a inabilidade em se determinar o número de fetos é um fator limitante à aplicação deste conhecimento. A acurácia da quantificação fetal é determinada pelo período de gestação, qualidade do equipamento utilizado e experiência prática do operador (Haibel, 1990). A quantificação fetal tem maior acurácia nas gestações duplas do que nas triplas e os resultados falso-positivos, em muitas ocasiões, decorrem das perdas embrionárias ou abortamentos não detectados após a realização dos exames (Santos, 2004).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALI, A. Effect of gestational age and fetal position on the possibility and accuracy of ultrasonographic fetal gender determination in dairy cattle. **Reproduction Domestic Animals**, Berlin, v. 39, p. 190-194, junho, 2004.
- ANDRADE, J. C. O.; GUIDO, S. I.; SOUSA, B. P. A. Sexagem fetal em ovinos. **Acta Scientiae Veterinariae**, Porto Alegre, v. 32, p. 185, abril, 2004.
- AZEVEDO, A.; CHALHOUB, M.; FURST, R.; MOURA NETO, A. V.; RIBEIRO FILHO, A. J. Momento de detecção ultra-sonográfica de algumas características do concepto ovino Santa Inês do 20º ao 46º dia de prenhez. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v. 25, n. 2, p.147-148, novembro, 2001.
- BARROS, B. J. P.; VISINTIN, J. A. Controle ultra-sonográfico de gestações, de mortalidades embrionárias e fetais e do sexo de fetos bovinos zebuínos. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v. 38, n. 2, p. 74-79, setembro, 2001.
- BUCCA, S. Equine fetal gender determination from mid-to advanced-gestation by ultrasound. **Theriogenology**, Woburn, v. 64, p. 568-571, agosto, 2005.
- BUCKRELL, B. C. Application of ultrasonography in reproduction in sheep and goats. **Theriogenology**, Woburn, v. 29, p. 71-84, Janeiro, 1988.
- BUCKRELL, B. C.; BONNETT, B. N.; JOHNSON, W. H. The use of real-time ultrasound rectally for early pregnancy diagnosis in sheep. **Theriogenology**, Woburn, v. 25, p. 665-673, maio, 1986.
- BÜRSTEL, D.; MEINECKE-TILLMAN, S.; MEINECKE, B. Ultrasonographic diagnosis of fetal sex in small ruminants bearing multiple fetuses. **The Veterinary Record**, London, v. 23, p. 635-636, novembro 2002.

CHOULHOU, M.; RIBEIRO FILHO, A. L. Diagnóstico de gestação em pequenos ruminantes por ultrasonografia de tempo real. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v.5, p. 27-30, outubro, 2002.

COUGHBROUGH, C. A.; CASTELL, M. C. Fetal sex determination by ultrasonically locating the genital tubercle in ewes. **Theriogenology**, Woburn, v. 50, n. 2, p. 263-267, julho, 1998.

CURRAN, S. Fetal sex determination in cattle and horses by ultrasonography. **Theriogenology**, Woburn, v. 37, p. 17-21, janeiro 1992.

CURRAN, S.; GINTHER, O. J. Ultrasonic diagnosis of equine fetal sex by location of the genital tubercle. **Journal Equine Veterinary Science**, Colorado, v. 9, n. 2, p. 77-83, janeiro/fevereiro 1989.

GARCIA, A.; NEARLY, M. K.; KELLY, G. R.; PIERSON, R. A. Accuracy of ultrasonography in early pregnancy diagnosis in ewes. **Theriogenology**, Woburn, v. 39, p. 847-861, abril, 1993.

GEARHART, M. A.; WINGFIELD, W. E.; KNIGHT, A. P.; SMITH, J. A.; DARGATZ, D. A.; BOON, J. A.; STOKES, C. A. Real-time ultrasonography for determining pregnancy status and viable fetal numbers in ewes. **Theriogenology**, Woburn, v. 30, n. 2, p. 323-349, agosto, 1988.

HAIBEL, G. K. Use of ultrasonography in reproductive management of sheep and goats herd. **Veterinary Clinics of North - America Food and Animal Practice** Philadelphia, v. 3, n. 3, p. 597-613, março, 1990.

HOLDER, R. D. Fetal sex determination. **Journal Equine Veterinary Science**, Colorado, v. 23, n. 9, p.419, setembro, 2003.

LINDAHL, I. L. Detection of pregnancy in sheep by means of ultrasound. **Nature**, London, v. 212, p. 642-643, junho, 1966.

MARI, G.; CASTAGNETTI, C.; BELLUZI, S. Equine fetal sex determination using a single ultrasonic examination under farm conditions. **Theriogenology**, Woburn, v. 58, p. 1237-1243, outubro, 2002.

MARTINEZ, M. F.; BOSCH, P.; BOSCH, R. A. Determination of early pregnancy and embryonic growth in goats by transrectal ultrasound scanning. **Theriogenology**, Woburn, v. 49, p. 1555-1565, junho, 1998.

MERKT, H.; MOURA, J. C. de A.; JÖCHLE, W. Gender determination in equine foetuses between 50 and 90 days of gestation. **Journal of Equine Veterinary Science**, Colorado, v. 19, n. 2, p. 90-94, fevereiro, 1999.

NODEN, D. M.; LAHUNTA, A. de. Derivados del mesoderma intermedio; órganos reproductores. In: NODEN, DM; DE LAHUNTA, A. **Embriología de los Animales domésticos**. Espanha: Acríbia, 1998. p. 361-367.

OLIVEIRA, M. A. L.; SANTOS, M. H. B.; MORAES, E. P. B. X.; MOURA, R. T. D.; CHIAMENTI, A.; RABELO, M. C.; BEZERRA, F. Q. G.; LIMA, P. F. Early identification of fetal sex and determination of the genital tubercle migration's day in dairy goats using ultrasound. **Acta Scientiae Veterinariae**, Porto Alegre, v. 32, p. 459, maio, 2005.

RENAUDIN, C. D.; GILLIS, C. L.; TARANTAI, A. F. Transabdominal combined with transrectal ultrasonographic determination of equine fetal gender during midgestation. **Equine Veterinary Journal**, Colorado, v.31, n.6, p.483-487, novembro, 1999.

SANTOS, M. H. B.; CHIAMENTI, A.; C. R. A FILHO, A. R.; MORAES, E. P. B. X.; NETO, C. C.; LIMA, P. F.; OLIVEIRA, M. A. L. Utilização da ultrasonografia na sexagem de fetos da raça Anglo-nubiana pela identificação do tubérculo genital e da genitália externa. **Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 12, n. 1/2, p. 52-60, novembro, 2005a.

SANTOS, M. H. B.; GONZALEZ, C. I. M.; BEZERRA, F. Q. G.; NEVES, J. P.; REICHENBACH, H. D.; LIMA, P. F.; OLIVEIRA, M. A. L. Sexing of Dorper Sheep fetuses derived from natural mating and embryo transfer by ultrasonography. **Reproduction Fertility and Development**, Austrália, v. 19, p. 366-369, Janeiro, 2007a.

SANTOS, M. H. B.; MORAES, E. P. B. X.; GUIDO, S. I.; BEZERRA, F. Q. G. B.; MELO, A. N.; LIMA, P. F.; OLIVEIRA, M. A. L. Fetal sexing in Santa Inês ewe by ultrasonography. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 36, n. 2, p. 573-578, março-abril 2006a.

SANTOS, M. H. B.; MORAES, E. P. B. X.; GUIDO, S. I.; GONDIM, F. Q. B.; LIMA, P. F.; FREITAS, V. J. F.; OLIVEIRA, M. A. L. Identificação do sexo de fetos em úteros de cabras e ovelhas utilizando a ultra-sonografia. **Ciência Veterinária nos Trópicos**, Recife, v. 8, n. 1/2/3, p. 65-69, janeiro/dezembro 2005b.

SANTOS, M. H. B.; MORAES, E. P. B. X.; RABELO, M. C.; MELO, A. N.; LIMA, P. F.; OLIVEIRA, M. A L. Fetal sexing by ultrasonography in ewe of Santa Inês breed. **Acta Scientiae Veterinariae**, Porto Alegre, v. 32, p. 247, outubro, 2005c.

SANTOS, M. H. B.; RABELO, M. C.; GUIDO, S. I.; TORREÃO, J. N. C.; LOPES JÚNIOR, E. S.; FREITAS, V. J. F.; LIMA, P. F. de; OLIVEIRA, M. A. L. Determination of the genital tubercle migration period in Morada Nova sheep fetuses by ultrasonography. **Reproduction Domestic Animal**, Berlin, v. 41, 2007b IN PRESS.

SANTOS, M.H.B.; CHIAMENTI, A; MORAES, E.P.B.X.; MOURA, R.T.D.; LIMA, P.F.; OLIVEIRA, M.A L. Diagnóstico precoce do sexo fetal nas espécies caprinas e ovina através da ultra-sonografia. **Acta Scientiae Veterinariae**, Porto Alegre, v.34, n.1, p.59-64, setembro, 2006b.

SANTOS, M. H. B; OLIVEIRA, M.A L.; MORAES, E.P.B.X.; CHALHOUB, M.; BICUDO, S.D. Diagnóstico de gestação por ultra-sonografia em tempo real. In: SANTOS, M.H.B.; OLIVEIRA, MAL; LIMA, PF. **Diagnóstico de gestação na cabra e na ovelha**. São Paulo: Varela, 2004. p. 97-116.

WHITE, I. R.; RUSSEL, A. J. F.; FOWLER, D. G. Real-time ultrasonic scanning in the diagnosis of pregnancy and the determination of fetal numbers in sheep. **The Veterinary Record**, London, v. 115, n. 18, p. 140-143, agosto 1984.

WOLF, A.; GABALDI, S. H. Acompanhamento ultra-sonográfico da gestação em grandes animais. **Ciências Agrárias e Saúde**, Andradina, v. 2, n. 2, p. 77-83, julho/dezembro 2002.

CAPÍTULO 2

FETAL SEXING IN MARES

Dias, LMK; Souza, JC; Sales, JNS; Marques, TC; Cannizza, AP.

Artigo a ser submetido à revista Theriogenology

Key words: equine, mare, genital tubercle, sex, fetuses

RESUMO

KIRSCH DIAS, Lilian Mara. **Sexagem fetal em éguas**. LAVRAS: UFLA, 2007, p. 18-39 (Dissertação - Produção Animal).*

Com o objetivo de avaliar a acurácia da determinação do sexo fetal, a partir de um único exame, com imagens gravadas em DVD, 35 éguas gestantes (Mangalarga Marchador, n=21; Quarto de Milha n=14) foram examinadas. A idade de gestação das éguas variou de 57 a 81 dias. Após o nascimento dos potros, os respectivos sexos foram observados para determinar a acurácia do exame de sexagem fetal. Todos os DVDs gravados foram entregues a outro veterinário para que este fizesse o diagnóstico do sexo fetal. Foi adotado um escore para avaliar a percentagem de certeza do diagnóstico. A duração de cada exame foi observada para avaliar o efeito de tolerância da égua ao exame. Os dados foram analisados através do teste Qui-quadrado (χ^2) ou Teste de Fisher. Dos 35 fetos examinados, foi possível diagnosticar o sexo fetal em 82,9%, com 89,6% de acerto. A acurácia da determinação do sexo fetal foi maior a partir de imagens gravadas. Houve efeito do observador na proporção de exames sem diagnóstico, mas não houve diferença significativa entre os observadores sobre a acurácia da sexagem. Foi mais difícil determinar corretamente o sexo fetal das fêmeas do que dos machos. Não houve efeito da percentagem de certeza do diagnóstico, das raças, do período de gestação e da tolerância da égua ao exame sobre a acurácia da sexagem fetal. Portanto, a sexagem fetal em éguas é possível, sendo mais eficaz a partir de imagens gravadas e com operador experiente.

* Comitê Orientador: José Camisão de Souza (Orientador), Henrique Ribeiro Alves de Resende - UFLA, Carlos Artur Lopes Leite - UFLA, Nadja Gomes Alves - UFLA.

ABSTRACT

KIRSCH DIAS, Lilian Mara. **Fetal sexing in mares**. LAVRAS: UFLA, 2007. p. 18-39. Dissertation (Master Program in Animal Science).*

The objective was to evaluate the accuracy of fetal sex determination, on with single exam, with images recorded on DVD. Thirty five mares of the Mangalarga Marchador (n=21) and Quarter Horse (n=14) breeds were examined by ultrasound using an Aloka 500 with a 5.0 MHz probe. Mare gestational ages varied from 57 to 81 days. After birth, offspring sex was recorded in order to determine the accuracy of fetal sexing. All DVDs recorded were examined by a second veterinarian in order to compare the effect of observer on accuracy. A score was used and applied to evaluated diagnose certainty. Each exam duration was recorded to evaluate the effect of mare exam tolerance. Data was analyzed through chisquare (χ^2) or Fisher's test, with a probabilities of 0.05 for significance level. Of 35 examined fetuses, it was possible to diagnose the fetal sex in 82.9% (n=29) and 17,1% (n=6) were not diagnosed. Of the diagnosed fetuses, 89,6% (n=26) were correct and 10,4% (n=3) were incorrect. Fetal sexing accuracy was higher with recorded images compared to live exams. There was an observer effect on the proportion of exams without diagnosis. There was no difference between observers on sexing accuracy. It was more difficult to determine female fetuses sex compared to male fetuses. There was no certainty percentage effect as to sexing, breed, gestational age and of mare exam tolerance on fetal sexing accuracy. Therefore, fetal sexing in mares is a viable process, being more efficient from recorded images and with more experienced examiner.

* Guidance Committee: José Camisão de Souza (Major Professor), Henrique Ribeiro Alves de Resende - UFLA, Carlos Artur Lopes Leite - UFLA, Nadja Gomes Alves - UFLA.

INTRODUÇÃO

Com a expansão da equideocultura e do aprimoramento das técnicas reprodutivas, trabalhos de pesquisa nesta área são cada vez mais necessários para acompanhar a evolução dos criatórios e centros de reprodução de equinos.

Técnicas como a inseminação artificial com sêmen a fresco, resfriado, descongelado e/ou sexado; superovulação; transferência de embriões; congelamento de sêmen e de embriões favorecem a seleção dos animais, bem como aumentam seu valor agregado. Ainda há, no entanto, técnicas pouco difundidas no Brasil, como por exemplo, a sexagem de fetos equinos.

A determinação do sexo fetal é uma nova ferramenta que pode ser incorporada durante o exame ultra-sonográfico de rotina para diagnóstico e/ou confirmação de gestação. Esta ferramenta pode contribuir para planejar os cruzamentos com antecedência, selecionar o rebanho em menor tempo, agregar valor ao produto e à própria égua gestante, além de contribuir para a pesquisa científica (Holder, 2003; Ali, 2004).

As técnicas de sexagem fetal por ultra-sonografia variam de acordo com o estágio de gestação. Quando a gestação está no período entre 55 e 90 dias, a sexagem baseia-se na visualização do tubérculo genital e utiliza-se o transdutor linear, por via retal. Após este período, a determinação do sexo fetal é possível pela visualização da própria genitália externa do feto, podendo o exame ser retal e/ou abdominal (Curran & Ginther, 1989; Curran e Ginther, 1993; Renaudin et al, 1999; Wolf & Gabaldi, 2002; Holder, 2003; Bucca, 2005). O tubérculo genital é a estrutura embrionária que originará o pênis no macho e o clitóris na fêmea (Noden et al, 1998). Este situa-se entre os membros pélvicos, na porção

ventral da linha média do corpo, em ambos os sexos, até o 55º dia de gestação (Mary et al, 2002; Holder, 2003; Ali, 2004; Bucca, 2005). Após este período, o tubérculo genital inicia uma migração cranial, em direção ao cordão umbilical, no feto masculino e, caudal, em direção à base da cauda, no feto do sexo feminino. O tubérculo genital durante o exame ultra-sonográfico aparece como um sinal de igualdade, hiperecogênico, bilobulado, medindo aproximadamente de 2 a 3 milímetros de comprimento (Curran & Ginther, 1989; Curran et al, 1989; Wideman et al, 1989). A técnica de sexagem fetal pela visualização do tubérculo genital é a mais utilizada pela praticidade, precocidade do exame e utilização de transdutor linear de 5MHz, mais comum entre os veterinários que trabalham com grandes animais.

O período ótimo para a sexagem fetal nas éguas é entre 59 e 68 dias de gestação. A partir do 69º dia de gestação a acurácia diminui drasticamente, devido ao feto se posicionar mais profundamente no útero causando dificuldades na obtenção de uma adequada visualização da região pélvica (Curran e Ginther 1989; Curran e Ginther, 1991; Mari et al, 2002; Wolf & Gabaldi, 2002; Ali, 2004; Bucca, 2005). Os pontos que determinam a eficiência da sexagem fetal são: utilização de *scanners* de alta qualidade, pouca luz externa, tela próxima e na altura dos olhos do operador, seleção de animais que toleram o procedimento, experiência do veterinário, adequada visualização do tubérculo genital e alto grau de certeza do diagnóstico (Curran & Ginther, 1989; Marie et al, 2002).

Durante os estudos ocorrem mais erros de determinação do sexo fetal das fêmeas do que dos machos. Isto pode ser explicado pela maior dificuldade de localização do tubérculo genital nas fêmeas, devido a ocorrência de estruturas hiperecogênicas na região da cauda (Curran e Ginther, 1989; Curran et al, 1989; Coubrough e Castell, 1998; Merkt et al, 1999; Marie et al, 2002; Ali, 2004).

A acurácia da sexagem fetal entre os pesquisadores varia bastante. Curran (1992) observou 97% de exames corretos; Mari e colaboradores (2002)

avaliaram a eficiência do exame de sexagem fetal em condições de campo, obtendo 74% de exames corretos; Merkt e colaboradores (1999) determinaram o sexo em 50,7% dos exames com 85% de acurácia e observaram que a visualização de imagens gravadas dos exames quase dobrou a eficiência da sexagem.

A técnica de sexagem fetal na espécie equina tem sido pouco explorada tanto na rotina de exames de campo, quanto nas áreas de pesquisa animal. Isto ocorre, possivelmente, pelo maior interesse comercial da espécie bovina; baixa proporção de exame com determinação correta do sexo fetal em equinos; menor tolerância por parte das éguas ao exame retal; deficiência de treinamento e capacitação dos veterinários; falta de equipamento necessário e desconhecimento da técnica pelos próprios criadores.

O objetivo deste experimento é avaliar a eficiência da determinação do sexo fetal em éguas por meio da visualização do tubérculo genital e através da realização de um único exame ultra-sonográfico retal com imagens gravadas em DVD.

MATERIAL E MÉTODO

Local

O experimento foi realizado em diversos haras da região sul de Minas Gerais e no município de Baurú (SP), no período de janeiro a abril de 2006.

Animais

Foram utilizadas 35 éguas (Mangalarga Marchador, n=21; Quarto de Milha n=14:) entre os dias 57 e 81 de gestação. O período de gestação foi definido a partir da ovulação. Para aquelas éguas (n=13) que não tiveram o dia da ovulação monitorado, o último dia de cobertura foi considerado como dia zero.

Exame Ultra-Sonográfico

Foi realizado apenas um exame ultra-sonográfico retal com *scanner* no modo-B, equipado com transdutor linear de 5 MHz (ALOKA SSD-500, Berger, Brasil) para diagnosticar o sexo fetal das éguas. As éguas foram contidas em tronco e o ultra-som colocado em uma mesa próxima ao mesmo. Tanto a altura e proximidade do ultra-som como a luminosidade variaram de acordo com cada ambiente, não havendo controle sobre essas variáveis como preconizado por Curran e Ginther (1989). Todos os exames foram realizados por um único operador.

Foi diagnosticado feto fêmea quando o tubérculo genital foi visto próximo à cauda e macho, quando o tubérculo genital foi visualizado próximo à inserção do cordão umbilical, no abdome. Objetivou-se observar a correta orientação do feto para determinar com precisão a posição do tubérculo genital e, conseqüentemente, o sexo fetal. Isto foi conseguido pela completa visualização do feto ou de pontos de referência como: cabeça, coração, estômago, útero e cordão umbilical. Após o nascimento dos potros os respectivos sexos foram observados para determinar a acurácia do exame para diagnóstico do sexo fetal.

Como proposto por Merkt et al (1999) e Mari et al (2002), todos os exames foram gravados em DVD por meio de um gravador de DVD modelo DR7621B (L&G).

Os exames de sexagem foram realizados de forma a obter o máximo de imagens gravadas do feto para conseguir avaliar o efeito de tolerância da égua ao exame. Isto é, mesmo que o sexo tenha sido detectado, o exame só foi finalizado quando a égua mostrou-se inquieta, com movimentos peristálticos vigorosos na tentativa de expulsar o transdutor do reto. O tempo gasto para cada exame foi anotado logo após a retirada das fezes da ampola retal.

Todos os DVDs gravados foram entregues a outro veterinário para que este fizesse o diagnóstico do sexo fetal a fim de possibilitar a comparação dos dados e avaliar o efeito do observador. A partir de modificação do método proposto por Curran e Ginther (1991), foi adotado um escore para avaliar a percentagem de certeza do diagnóstico:

- 99% - quando o tubérculo genital foi visto, pelo menos uma vez, numa área fetal (próxima ao cordão umbilical ou próximo à cauda) e o diagnóstico pôde ser confirmado pela ausência do tubérculo genital na outra área fetal:
- 95% - quando o tubérculo genital foi visto numa área fetal, mas não foi feita a confirmação através da visualização da outra área fetal com ausência do tubérculo genital;
- 65% - quando o tubérculo genital foi observado, porém num posicionamento fetal desfavorável, podendo ser confundido com outras estruturas e
- 50% - quando o tubérculo genital não foi visualizado, portanto, sem determinação do sexo fetal.

Análise estatística

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado (DIC). Os dados foram analisados pelo teste Qui-quadrado (χ^2) com nível de significância de 5% ou Teste de Fisher, com nível de significância de 5% pelo procedimento PROC FREQ do pacote estatístico do SAS (Der e Everitt, 2002).



Figura 1: Plano transversal da região abdominal do feto macho com 65 dias de gestação. Observar a imagem hiperecogênica do tubérculo genital (↑) próximo ao cordão umbilical.



Figura 2: Plano frontal do feto macho com 64 dias de gestação. Observar a imagem hiperecogênica e bilobulada do tubérculo genital (↑).

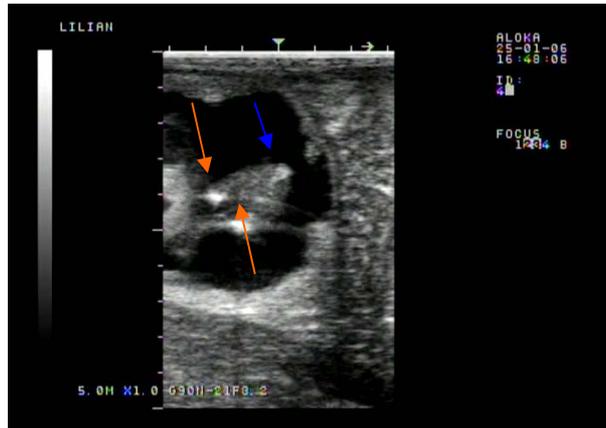


Figura 3: Plano transversal da região pélvica do feto macho com 68 dias de gestação. Observar a ausência do tubérculo genital entre cauda (↑) e membros pélvicos (imagem da tíbia em plano transversal) (↑)



Figura 4: Plano transversal da região pélvica do feto fêmea com 68 dias de gestação. Observar a imagem hiperecogênica do tubérculo genital (↑) entre a imagem hiperecogênica de cauda e membros pélvicos.

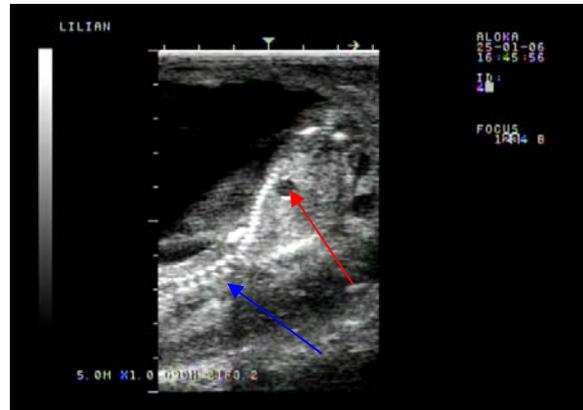


Figura 5: Plano frontal da região posterior do feto com 68 dias de gestação. Este posicionamento do feto não permite a determinação do sexo. Observar a imagem hiperecogênica da coluna cervical (↑) e a imagem não-ecogênica do úraco (↑).



Figura 6: Plano transversal da cabeça (↑) do feto com 72 dias de gestação. Observar a grande quantidade de estruturas ecogênicas. Este posicionamento não permite a identificação do sexo.

RESULTADOS

Conforme tabela 1, dos 35 fetos examinados, foi possível diagnosticar o sexo fetal em 82,9% (n=29), sendo que 17,1% (n=6) dos fetos não puderam ter seu sexo determinado. O sexo dos fetos foi diagnosticado corretamente em 89,6% (n=26) dos casos e incorretamente em 10,3% (n=3). Considerando-se o total de exames para o cálculo da acurácia, observou-se um índice de 74,2% de correção dos diagnósticos e de 8,5% de incorretos.

Tabela 1 - Resultados da determinação do sexo fetal em éguas expressos numericamente e em percentagem

	Número / Total	Percentagem
Diagnósticos com determinação do sexo	29/35	82,9
Diagnóstico sem determinação do sexo	6/35	17,1
Diagnósticos corretos	26/29	89,66
Diagnósticos incorretos	3/29	10,34
Total de diagnósticos	35	100

Não houve diferença significativa ($P>0,05$) entre a acurácia da sexagem em relação ao período de gestação de 57 a 81 dias (Tabela 2). Apesar deste resultado deve-se evitar sexar fetos com menos de 59 dias como já proposto (Curran e Ginther, 1989).

Tabela 2 - Efeito do período de gestação sobre a acurácia da sexagem fetal.

Intervalo de gestação	Sem diagnóstico	Fetos sexados corretamente	Fetos sexados incorretamente	Acurácia
				Nº/total (%)
57 - 64	1	8	2	8/10 (80)
65 - 67	2	8	0	8/8 (100)
68 - 81	3	10	1	10/11(90,9)
Total	6	26	3	26/29 (89,66)

(P=0,3778)

Houve diferença significativa ($P < 0,05$) entre a acurácia da sexagem do DVD se comparada ao exame de campo (Tabela 3). A determinação do sexo fetal foi mais eficiente a partir de imagens gravadas.

Tabela 3 - Resultados da sexagem fetal de campo e após visualização dos DVDs

Diagnóstico	Diagnósticos com determinação do sexo		Diagnóstico sem determinação do sexo	Total de exames
	Correto	Incorreto		
	Número/total (percentagem)			
Campo	23/28 (82,1%) ^b	5/28 (17,9%) ^a	7	35
Gravação em DVD	26/29 (89,6%) ^a	3/29 (10,4%) ^b	6	

Valores seguidos de letras distintas na linha diferem entre si ($P=0,0107$) pelo teste de Fisher.

A tolerância de cada égua ao exame variou entre 00:01:00 e 00:14:00 minutos. Em média, as éguas toleraram 5 minutos de exame. Foi considerado tempo zero de tolerância para as éguas que não permitiram o exame. Efeitos de

tolerância da égua em relação ao exame não influenciaram ($P>0,05$) a acurácia da sexagem (Tabela 4). Contudo, duas éguas não permitiram mais de um minuto de exame e ficaram sem diagnóstico do sexo fetal.

Tabela 4 - Resultados da sexagem fetal em relação à tolerância das éguas ao exame.

Duração do exame	Sexagem correta	Sexagem incorreta	Sem diagnóstico	Acurácia
				número/total (%)
≥ 5 minutos	11	1	2	11/12 (91,6)
< 5 minutos	15	2	4	15/17 (88,2)

($P= 0,7651$)

Houve efeito do observador (Tabela 5) na proporção de exames sem diagnóstico ($P<0,05$), ou seja, o operador diagnosticou maior número de exames. No entanto, não houve diferença significativa ($P>0,05$) entre os observadores quanto à acurácia da sexagem.

Tabela 5 - Efeito do observador sobre os resultados de determinação do sexo fetal.

Exames	Operador	Médico Veterinário 2
Fetos sexados	29	20
Diagnóstico Correto	26	15
Diagnóstico incorreto	3	5
Acurácia*	26/29 (89,66%)	15/20 (75%)
Exames sem diagnóstico**	6/35 (17,14%) ^b	15/35 (43%) ^a

* Valores seguidos de letras distintas na coluna diferem entre si ($P=0,0324$) pelo teste de qui-quadrado

O sexo do feto interferiu na acurácia da sexagem, sendo mais difícil visualizar o tubérculo genital e determinar corretamente o sexo fetal das fêmeas ($P < 0,05$) do que dos machos (Tabela 6).

Tabela 6 - Efeito do sexo sobre a acurácia dos exames de sexagem.

Exames	Sexo		Total
	Macho	Fêmea	
Diagnóstico correto	17	9	26
Diagnóstico incorreto	0	3	3
Acurácia *	17/17 (100,0%) ^a	9/12 (75,0%) ^b	26/29 (89,6%)
Sem diagnóstico**	2/19 (10,5%) ^b	4/16 (25,0%) ^a	6/35 (17,1%)

Valores seguidos de letras diferentes nas colunas diferem entre si* ($P = 0,0295$) ** ($P = 0,05$) pelo teste de Fisher.

Houve 85,7% de acurácia na sexagem fetal em éguas da raça quarto-de-milha e 93,3% em éguas da raça Mangalarga-marchador. Não sendo observado efeito de raças ($P > 0,05$) Quarto-de-milha ou Mangalarga-Marchador sobre o diagnóstico do sexo fetal (Tabela 7).

Tabela 7 - Efeito da raça sobre a acurácia dos exames de sexagem.

Raça	Fetos sexados corretamente	Fetos sexados incorretamente	Fetos sem diagnóstico	Acurácia
				Número/total (%)
Quarto-de-milha	12	2	3	12/14 (85,7%)
Mangalarga-marchador	14	1	3	14/15 (93,3%)

($P = 0,500$)

Não houve efeito da percentagem de certeza do diagnóstico ($P>0,05$) sobre a acurácia da sexagem fetal. Como dois dos três diagnósticos incorretos foram avaliados com percentagem de certeza máxima, esta classificação não foi eficiente.

DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

A alta percentagem (17%) de exames sem diagnóstico neste trabalho ocorreu devido à intolerância das éguas ($n=6$) ao exame, aliada ao mau posicionamento fetal, dificultando a manipulação e o acesso do transdutor ao feto e regiões de interesse (caudal e abdominal) além do fato de ter sido realizado apenas um exame em cada animal.

Contrariamente, outros pesquisadores também determinaram o sexo dos fetos mesmo sem a visualização do tubérculo genital, ou seja, pela ausência e não pela presença do tubérculo genital, sendo a proporção de exames sem diagnóstico do sexo fetal em torno de 12 e 13% (Curran e Ginther, 1989; Curran e Ginther, 1991; Curran et al, 1992; Mari et al, 2002).

Mesmo com a visualização de imagens gravadas, a acurácia deste trabalho (89,6%) foi semelhante à encontrada por outros pesquisadores. Curran e Ginther (1991) alcançaram 97% de acurácia, Merkt et al (1999) 85%, e Mari et al (2002) 74% de acurácia.

Uma das dificuldades da sexagem fetal em éguas é a baixa tolerância desta espécie ao exame e a limitação de movimentação do transdutor dentro do reto, se comparado aos bovinos. A égua irritada provoca movimentos peristálticos vigorosos na tentativa de expulsar o transdutor do reto. Neste momento, o exame deve ser finalizado para evitar a laceração da mucosa intestinal. A consideração desta possibilidade -- aliada ao mau posicionamento

fetal, principal fator determinante da sexagem (Ginther, 1995) -- impede uma acurácia de sexagem próxima a 100%, como encontrado em bovinos (Muller e Wittkowski, 1986; Curran et al, 1989; Curran e Ginther, 1991). Apesar de a tolerância da égua ao exame não ter influenciado a acurácia da sexagem, neste experimento, julgamos necessária a abordagem experimental dessa variável.

Como observado por Merkt et al (1999), diagnósticos a partir de imagens gravadas em DVD resultaram em melhor acurácia de sexagem do que os exames de campo. Isto porque durante o exame de campo, não há controle das variáveis: luz externa, aparelho de ultra-som próximo e na altura dos olhos do operador como preconizado por Curran e Ginther (1989), além da movimentação da própria égua. Fatores que, somados, desviam a atenção do operador e dificultam a visualização das imagens e determinação do sexo fetal.

Por outro lado, a determinação do sexo fetal por meio das imagens gravadas permite ao operador realizar o diagnóstico com mais calma, em ambiente com pouca luz externa, com a tela próxima e na altura dos olhos, sem transtornos excessivos para as éguas. Além disso, permite a passagem pausada das imagens no momento de visualização do tubérculo genital, possibilitando ao operador reavaliar o exame quando ocorrerem possíveis equívocos.

Como proposto por Mari et al (2002), outro fator que pode contribuir para melhorar a acurácia da sexagem é a possibilidade da realização de mais de um exame naquelas éguas cuja posição do feto não é favorável à visualização do tubérculo genital no primeiro exame. Uma alternativa é permitir que a égua se movimente um pouco, sendo deslocada para um terreno com desnível para possibilitar a mudança de posicionamento do feto e tornar acessível a imagem do tubérculo genital. Como observado por Curran e Ginther (1989) e Merkt et al (1991), não foi possível mudar a posição do feto pelo balotamento do útero no momento do exame.

Neste trabalho, 10,3% (n=3/29) dos diagnósticos fetais foram incorretos. Destes, um ocorreu porque não foi possível uma boa visualização do tubérculo genital devido ao posicionamento do feto, sendo o diagnóstico determinado com baixa percentagem de certeza. O outro erro foi em decorrência de o feto fêmea estar numa posição desfavorável para a visualização da sua região caudal e com o membro pélvico flexionado, o que causou a formação de uma imagem parecida com o tubérculo genital, levando a um diagnóstico equivocado de macho, semelhante ao relatado por Merkt et al (1991). E por fim, foi diagnosticado um feto macho, mas nasceu uma fêmea. Este último equívoco pode ter ocorrido porque a gestação estava aproximadamente no 57º dia, ou seja, é possível que o tubérculo genital não houvesse completado sua migração para próximo da cauda, encontrando-se numa posição intermediária. Isto indica que, durante o desenvolvimento de alguns fetos, pode ocorrer migração mais tardia do tubérculo genital. Por isto, deve-se evitar sexar fetos com menos de 59 dias (Curran e Ginther, 1989). Estes dois últimos exames foram classificados com certeza máxima (99%), porém foram diagnosticados erroneamente. Pode-se inferir que a classificação de percentagem de certeza dos exames adotada por este trabalho não foi eficiente, contrariamente às observações de Curran e Ginther (1991).

O ideal é realizar o exame em fetos com idade de gestação acima de 59 dias, para evitar erros devido ao posicionamento intermediário do tubérculo genital como relatado anteriormente, apesar de, neste estudo, não ter havido diferença na acurácia da sexagem fetal no período entre 57 e 81 dias de gestação.

Observações feitas neste trabalho, e por outros autores, indicam maior dificuldade para determinar o sexo das fêmeas (Curran et al, 1989; Muller e Wittowski, 1986; Merkt et al, 1999; Mari et al, 2002; Ali, 2004). Isto ocorre porque existem vários aspectos desfavoráveis ao exame das fêmeas, dependendo

da posição desta dentro do útero. Um destes aspectos é a própria posição do tubérculo genital, próximo à cauda. Esta é uma região mais distante, de difícil acesso quando o feto encontra-se em posição anterior, onde estão presentes ossos da coluna vertebral, pelve e da própria cauda que podem confundir e mesmo ocultar a imagem do tubérculo genital. Outra dificuldade é a possibilidade dos membros pélvicos estarem flexionados durante o exame, podendo-se confundir com a imagem do tubérculo genital do macho, como descrito acima. E por último, o tubérculo genital da fêmea não é facilmente visualizado em todos os planos, sendo o plano transversal oblíquo o melhor plano.

Em contrapartida, existe menor dificuldade no diagnóstico de machos devido à localização abdominal do tubérculo genital. Nesta região, há menor número de estruturas ecogênicas que podem ser confundidas com a imagem do tubérculo genital. A região abdominal situa-se próxima e mais acessível ao transdutor, permitindo a visualização do tubérculo genital em diferentes planos (sagital, frontal e transversal). Finalmente, esta região contribui para a localização do tubérculo genital por estar próxima a imagem não ecogênica do útero, que serve como ponto de referência para o diagnóstico. Uma das dificuldades na determinação do sexo dos machos ocorre quando o feto encontra-se com os membros pélvicos unidos, o que pode ocultar a imagem do tubérculo genital.

Como observado neste experimento e descrito por outros autores (Curran e Ginther, 1989; Curran et al, 1989; Curran e Ginther, 1991; Renaudin et al, 1997; Merkt, 1999; Mari et al, 2002;), existe grande influência da habilidade e experiência prática do operador sobre a eficiência do exame de sexagem. Neste experimento, os exames duraram em média três minutos e 35 segundos, tempo superior àquele encontrado por Curran e Ginther (1991), de 1 minuto e 17 segundos, em média,.

Não houve efeito de raça sobre a acurácia da sexagem, possivelmente porque foram utilizadas éguas das raças Quarto-de-Milha e Mangalarga-marchador, muito semelhantes quanto à docilidade.

Portanto, apesar de ser possível a sexagem fetal em éguas, esta espécie possui algumas particularidades inerentes ao indivíduo, ao ambiente e ao manejo que podem trazer dificuldades ao exame. Dentre estas, destacam-se: baixa tolerância das éguas ao exame; limitação de movimentos do transdutor dentro do reto; posicionamento fetal; falta de local estruturado para realizar o exame ultrassonográfico e falta de tempo disponível para maior frequência de exames. Se estas dificuldades forem superadas, aliadas à maior experiência e habilidade prática do operador, a acurácia da sexagem fetal em éguas pode alcançar proporções que justifiquem sua prática na rotina de exames no campo.

REFERÊNCIAS

- ALI, A. Effect of gestational age and fetal position on the possibility and accuracy of ultrasonographic fetal gender determination in dairy cattle. **Reproduction Domestic Animals**, Berlin, v. 39, p. 190-194, junho, 2004.
- BUCCA, S. Equine fetal gender determination from mid-to advanced-gestation by ultrasound. **Theriogenology**, Woburn, v. 64, p.568-571, agosto, 2005.
- COUGHBROUGH, C. A.; CASTELL, M. C. Fetal sex determination by ultrasonically locating the genital tubercle in ewes. **Theriogenology**, Woburn, v. 50, n. 2, p. 263-267, julho, 1998.
- CURRAN, S. Fetal sex determination in cattle and horses by ultrasonography. **Theriogenology**, Woburn, v. 37, p. 17-21, janeiro 1992.
- CURRAN, S.; GINTHER, O. J. Ultrasonic determination of fetal gender in horses and cattle under farm conditions. **Theriogenology**, Woburn, v. 36 ,n.5 p. 809-814, novembro, 1991.
- CURRAN, S.; GINTHER, O. J. Ultrasonic diagnosis of equine fetal sex by location of the genital tubercle. **Journal Equine Veterinary Science**, Colorado, v. 9, n. 2, p. 77-83, janeiro/fevereiro, 1989.
- CURRAN, S.; GINTHER, O. J. Ultrasonic fetal gender diagnoses during months 5 to 11 in mares. **Theriogenology**, Woburn, v. 40, n. 6, p. 1127-1135, dezembro, 1993.
- CURRAN, S.; KASTELIC, J. P.; GINTHER, O. J. Determining sex of the bovine fetus by ultrasonic assessment of the relative location of the genital tubercle. **Animal Reproduction Science**, Amsterdam, v. 19, p. 217-227, Janeiro, 1989.
- DER, G.; EVERITT, B. S. **A handbook of statistical analyses using SAS**. 2. ed. London: Chapman & may, 2002. 360 p.

GINTHER, O. J. Ultrasonic diagnosis of fetal sex. In: GINTHER, O J. **Ultrasonic imaging and animal reproduction**: horses. Book 2. - Madison:, Equiservices Publishing, 1995. p. 236-246.

HOLDER, R. D. Fetal sex determination. **Journal Equine Veterinary Science**, Colorado, v. 23, n. 9, p. 419, setembro 2003.

MARI, G.; CASTAGNETTI, C.; BELLUZI, S. Equine fetal sex determination using a single ultrasonic examination under farm conditions. **Theriogenology**, Woburn, v. 58, p. 1237-1243, outubro, 2002.

MERKT, H.; MOURA, J. C. de A.; JÖCHLE, W. Gender determination in equine foetuses between 50 and 90 days of gestation. **Journal of Equine Veterinary Science**, Colorado, v. 19, n. 2, p. 90-94, fevereiro, 1999.

MÜLLER, E.; WITTOWSKI, G. Visualization of male and female characteristics of bovine fetuses by real-time ultrasonics. **Theriogenology**, Woburn, v. 25, n. 4, p. 571-574, fevereiro, 1986.

NODEN, D. M.; LAHUNTA, A. de. Derivados del mesoderma intermedio; órganos reproductores. In: NODEN, DM; DE LAHUNTA, A. **Embriología de los Animales domésticos**. Espanha: Acríbia, 1998. p. 361-367.

RENAUDIN, C. D.; GILLIS, C. L.; TARANTAI, A. F. Transabdominal combined with transrectal ultrasonographic determination of equine fetal gender during midgestation. **Equine Veterinary Journal**, Reino Unido, v.31, n.6, p.483-487, novembro, 1999.

WOLF, A.; GABALDI, S. H. Acompanhamento ultra-sonográfico da gestação em grandes animais. **Ciências Agrárias e Saúde**, Andradina, v. 2, n. 2, p. 77-83, julho/dezembro, 2002.

WIDEMAN, D.; DORN, C.G.; KRAEMER, D.C. Sex detection of the bovine fetus using linear array real-time ultrasonography. **Theriogenology**, Woburn, v.31, p.272, Janeiro, 1989.

CAPÍTULO 3

DIAGNÓSTICO DE GESTAÇÃO, QUANTIFICAÇÃO E SEXAGEM FETAL EM OVELHAS

Dias, LMK; Souza, JC; Assis, MR

Artigo a ser submetido à revista Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science.

Key words: ovelha, fetos, sexo, tubérculo genital, cordeiros

RESUMO

KIRSCH DIAS, Lilian Mara. **Diagnóstico de gestação, quantificação e sexagem fetal em ovelhas**. LAVRAS: UFLA, 2007. p. 41-68 Dissertação (Mestrado em Zootecnia) Universidade Federal de Lavras.*

O objetivo deste experimento foi avaliar a acurácia do diagnóstico de gestação, quantificação e sexagem fetal em ovelhas. Em 105 ovelhas foram realizado diagnóstico de prenhez juntamente com a quantificação fetal quando a gestação estava próxima dos 35 dias (± 1). Para o diagnóstico da sexagem fetal foram utilizadas 55 ovelhas com período de gestação entre 49 e 59 dias. As imagens de todos os exames foram gravadas em DVD para permitir posterior análise. Foi adotado um escore para avaliar a percentagem de certeza do diagnóstico (65%, 95% e 99%). Após o nascimento dos cordeiros, os respectivos sexos foram observados para determinar a precisão do exame de sexagem fetal. Os dados foram analisados pelo teste Qui-quadrado (χ^2) ou Teste de Fisher, com nível de significância de 5%. Observou-se 100% de acerto no diagnóstico de gestação pela ultra-sonografia. Quanto ao diagnóstico de quantificação fetal, houve 12% de erro e 88% de acerto. Foi possível diagnosticar o sexo fetal em 87% dos fetos e destes, 90% estavam corretos e 10% incorretos. O diagnóstico em tempo real não foi significativamente diferente dos diagnósticos feitos após a observação de imagens gravadas em DVD. Não houve diferença significativa entre os exames em relação ao critério de percentagem de certeza do diagnóstico. Portanto, a acurácia do diagnóstico de gestação pode alcançar 100%, diferente da quantificação e sexagem fetal, que dependem de outras variáveis como tipo de gestação e experiência do operador.

* Comitê Orientador: José Camisão de Souza - UFLA (Orientador), Henrique Ribeiro Alves de Resende - UFLA; Carlos Artur Lopes Leite - UFLA, Nadja Gomes Alves - UFLA.

ABSTRACT

KIRSCH DIAS, Lilian Mara. **Gestation diagnostic, quantification and fetal sexing in ewes.** LAVRAS: UFLA, 2007. p. 41-68 Dissertation (Master Program in Animal Science) – Federal University of Lavras, Lavras, MG.*

The objective of this experiment was to evaluate the accuracy of gestation, fetal sexing and quantification diagnoses in ewes. Only one intra-rectal exam was performed on each ewe to simulate routine on farm exams. Pregnancy was diagnosed in the whole herd (n=105) jointly with fetal quantification when fetal age was close to 35 ± 1 day. For the fetal sexing diagnose 55 Santa Inês breed ewes between 49 and 59 days of pregnancy were used. All exams were recorded on DVD for posterior analyses. A score system was applied to evaluate the diagnostic certainty percentage (65%, 95% and 99%). After birth lamb sex was recorded to determine fetal sexing precision. Data were analyzed by chisquare (χ^2) or Fisher's test, with significance of 0.05. One hundred percent of pregnancy ultrasound diagnoses were correct. On the other hand, for the fetal quantification diagnose, there was an error of 12% and the remaining 88% were correct conclusions. It was possible to diagnose the fetal sex in 87% (n=60) of the 69 examined fetuses. Of the fetuses with a diagnosis, 90% (n=54) were diagnosed correctly. The real time or live on farm exam was not different from the recorded DVD image exam. There was no difference between the methods in relation to the diagnostic certainty percentage. Therefore, pregnancy diagnosis accuracy may reach 100%, differing from fetal sexing and quantification which are dependent upon other variables such as fetal gender and examiner experience.

INTRODUÇÃO

Após a década de 80 a ultra-sonografia tornou-se uma ferramenta de grande utilidade para a reprodução animal. Pelo exame ultra-sonográfico o médico veterinário pode acompanhar o ciclo estral, diagnosticar e avaliar transtornos reprodutivos, diagnosticar a prenhez, determinar o sexo fetal e no caso de espécies multíparas, como os ovinos, quantificar os fetos (Wolf & Gabaldi, 2002).

O diagnóstico precoce da gestação e a quantificação fetal através do exame ultra-sonográfico contribuem para racionalizar as formas de manejo, acarretando benefícios financeiros para a produção de ovinos. Este método permite que ovelhas não-gestantes ou com problemas reprodutivos sejam eliminadas do rebanho, reduzindo gastos com alimentação destes animais. Além disso, a diferenciação de gestações únicas e múltiplas permite ao criador fornecer um manejo nutricional adequado no final da gestação otimizando peso ao nascimento, ganho de peso e sobrevivência dos cordeiros (White et al, 1984; Gearhart et al, 1988; Santos et al, 2004 e 2007b).

Dentre as vantagens da sexagem fetal, destacam-se a maior valorização do animal com feto sexado e sua influência na produção animal e um melhor planejamento para a aquisição e comercialização dos animais do próprio rebanho, concentrando fêmeas em rebanhos leiteiros e machos nos de corte (Haibel, 1990). Além disto, a determinação do sexo fetal torna mais dinâmicos

os projetos de pesquisa com sexagem embrionária e de espermatozóides (Ali, 2004).

A acurácia da sexagem fetal pode variar de 78% a 100% (Coughbrough & Castell 1998; Bürstel et al 2001, 2002; Andrade et al 2004; Santos et al 2005b; Santos et al, 2006) e pode ser afetada por gestações múltiplas (Bürstel 2002; Oliveira et al, 2005; Santos et al, 2005 a, b), especialmente quando utilizada apenas a visualização do tubérculo genital para determinar o sexo dos fetos (Santos et al, 2006 a). A técnica de sexagem oferece maior acurácia para fetos machos (Coughbrough & Castell 1998), sendo que a cauda parece ser a maior fonte de equívocos no diagnóstico de fetos fêmeas (Burstel, 2002; Santos et al, 2005).

Nos bovinos, a técnica de determinação precoce do sexo fetal através da ultra-sonografia já é uma prática de rotina entre os médicos veterinários (Muller & Wittkowski, 1986; Curran et al, 1989). Já nos pequenos ruminantes, é bastante restrita, sendo que existem poucos estudos referentes à determinação do período de migração do tubérculo genital. Mesmo considerando que a sexagem fetal seja possível no 37º dia de gestação, sugere-se que o exame ultra-sonográfico seja realizado somente a partir do 50º dia após a cobertura (Santos, 2006 a). Isto porque existe a possibilidade da migração tardia do TG, em consequência de possíveis variações entre indivíduos da mesma e de diferentes raças, entre fetos da mesma gestação, assim como entre fetos originados de monta natural e de transferência de embriões descongelados (Santos, 2006 b; 2007).

A difusão da técnica de sexagem na cabra e na ovelha, sobretudo em condições de campo, depende de maior precisão no diagnóstico, uma vez que gestações múltiplas, disparidade na idade dos conceptos e, principalmente, a realização de um único exame, podem contribuir para a emissão de diagnóstico equivocado (Bürstel, 2002, Santos et al 2005 a).

O objetivo deste experimento foi avaliar a eficiência do diagnóstico de gestação, quantificação e sexagem fetal em ovelhas por meio do exame ultrasonográfico intra-retal, realizado em condições de campo.

MATERIAL E MÉTODOS

Animais

Participaram do experimento 105 ovelhas, sendo 92 animais da raça Santa Inês e 13 da raça Bergamácia.

Local

O experimento foi realizado na Universidade Federal de Lavras, em Lavras – MG, no setor de ovinocultura, no período de agosto a outubro de 2006. No momento dos exames ultra-sonográficos, as ovelhas foram contidas em uma gaiola e tiveram seu abdômen suspenso por uma barrigueira para diminuir a distância entre útero e transdutor (Figura 1). Houve o cuidado de manter o ambiente com pouca luz externa e o aparelho de ultra-som próximo e no nível dos olhos do operador como preconizado por Curran e Ginther (1989).



Figura 1: Ovelha Santa Inês presa a uma gaiola. Observar a utilização da barrigueira (↑) para suspensão do abdômen do animal.

Exame ultra-sonográfico

Foi realizado apenas um exame ultra-sonográfico retal em cada ovelha, simulando uma rotina de exames de campo. Utilizou-se ultra-som (ALOKA SSD-500, Berger, Brasil), com *scanner* no modo-B, equipado com transdutor linear de 5 MHz adaptado a um suporte de borracha para facilitar a manipulação no reto do animal. Para a lubrificação do transdutor foi utilizado gel de carboximetilcelulose. Quando necessário, as fezes foram retiradas da ampola retal com os dedos. No caso de excesso de ar no reto, o abdômen foi pressionado ou injetava-se 20 ml de gel, utilizando uma seringa.

Sexagem Fetal

Para o diagnóstico da sexagem fetal foram utilizadas 55 ovelhas da raça Santa Inês com período de gestação entre 49 e 59 dias. Esta idade de gestação foi calculada considerando o dia da cobertura como dia zero. Durante o exame, objetivou-se observar a correta orientação do feto para determinar com precisão a posição do tubérculo genital. Isto foi conseguido por meio da completa visualização do feto ou de pontos de referência como: cabeça, coração, estômago, útero, cordão umbilical e outros. O feto foi diagnosticado como fêmea quando o tubérculo genital foi visto próximo à cauda e como macho quando o tubérculo genital foi visualizado próximo à inserção do cordão umbilical no abdômen. As imagens de todos os exames foram gravadas em DVD através de gravador de DVD modelo DR7621B (L&G) para permitir posterior análise. Todos os exames foram realizados pelo mesmo operador.

A partir de modificação do método proposto por Curran e Ginther (1991), foi adotado um escore para avaliar a percentagem de certeza do diagnóstico:

- 99% - quando o tubérculo genital foi visto numa área fetal (próxima ao cordão umbilical ou próximo à cauda) e o diagnóstico pode ser confirmado pela ausência do tubérculo genital na outra área fetal;
- 95% - quando o tubérculo genital foi visto numa área fetal, mas não foi feita a confirmação através da visualização de outra área fetal com ausência do tubérculo genital;
- 65% - quando o tubérculo genital foi observado, mas com um posicionamento fetal inadequado (não permitindo boa definição do tubérculo, podendo ser confundido com estruturas ósseas), que pode confundir com outras estruturas;

- 50% - quando o tubérculo genital não foi visualizado, caracterizando os exames pela não determinação do sexo fetal.

Após o nascimento dos cordeiros, os respectivos sexos foram observados para determinar a precisão do exame para diagnóstico do sexo fetal.

Quantificação fetal

Em todo o rebanho (n=105), foi realizado diagnóstico de gestação juntamente com a quantificação fetal quando a gestação estava próxima dos 35 (± 1) dias. Foi utilizado o mesmo equipamento descrito no exame de sexagem fetal, exceto o gravador de DVD.

A ovelha foi diagnosticada como gestante após visualização da presença do feto e identificação dos batimentos cardíacos. Em seguida, o restante do útero foi examinado para avaliação da presença de outros fetos e conseqüente determinação ou quantificação do número de fetos.

Quando foi diagnosticada uma gestação simples com feto fêmea -- mas com posterior nascimento de duas borregas -- foram considerados corretos os diagnósticos de gestação e sexagem, mas quantificação fetal errada.

Quando foi diagnosticada uma gestação única de feto macho (ou fêmea-- mas com posterior nascimento de dois cordeiros, sendo um macho e uma fêmea, foi considerado correto apenas o exame de diagnóstico de gestação.

No caso de fetos não quantificados, ou seja, aqueles cujos nascimentos não foram esperados, não foi realizada tentativa de sexagem. Esses casos não foram considerados nas análises de acurácia da sexagem.

Análise Estatística

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado (DIC). Os dados foram analisados pelo teste Qui-quadrado (χ^2) ou Teste de Fisher, com nível de significância 5% pelo procedimento PROC FREQ do pacote estatístico do SAS (Der e Everitt, 2002).

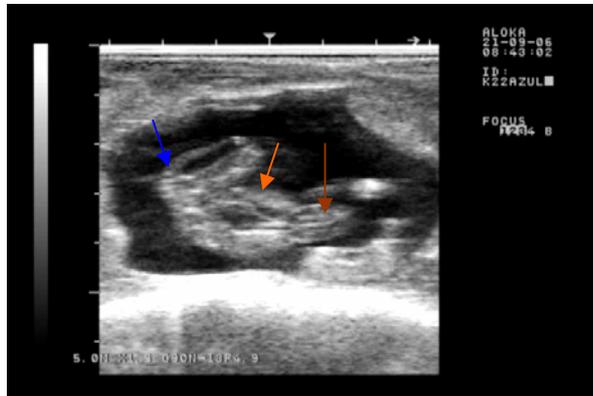


Figura 2: Imagem da região pélvica do feto fêmea com 53 dias de gestação. Observar a imagem não-ecogênica do úraco (↑) e a imagem ecogênica do cordão umbilical (↑) a direita do úraco. Observar que a cauda (↑) está impedindo a visualização do tubérculo genital.

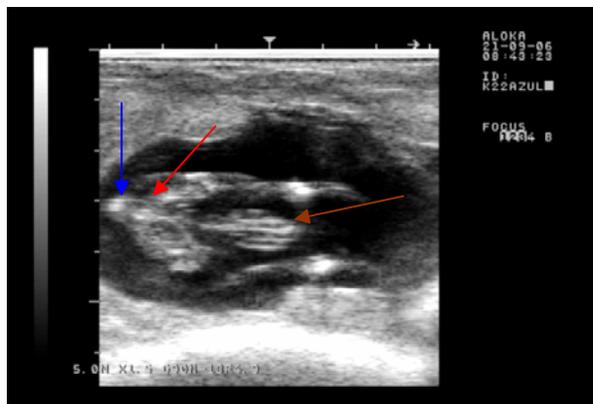


Figura 3: Mesmo feto da figura anterior, mas com a cauda (↑) deslocada, permitindo a visualização do tubérculo genital logo abaixo (↑). Observar a imagem do cordão umbilical (↑)

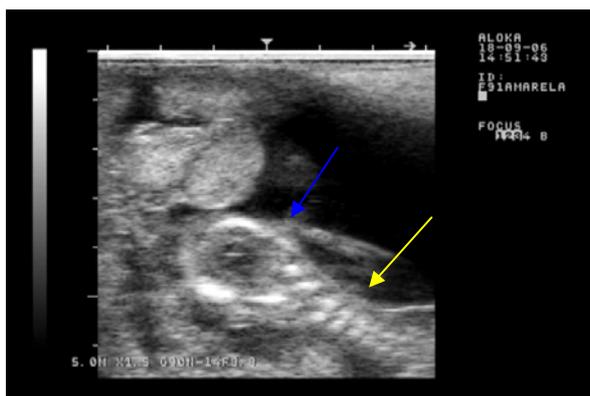


Figura 4: Plano frontal: imagem da cabeça (↑) e coluna cervical (↑) do feto com 58 dias de gestação. Este posicionamento não permite a identificação do tubérculo genital.

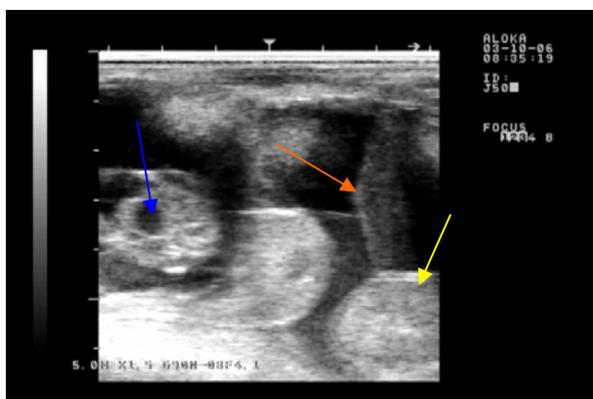


Figura 5: Observar a imagem do útero com a presença de dois fetos em plano transversal com 53 dias de gestação. No feto à esquerda, é possível visualizar a região não-ecogênica do úraco (↑). No segundo feto, é possível visualizar região abdominal (↑) e cordão umbilical. (↑)



Figura 6: Plano sagital do feto macho com 56 dias de gestação. Observar a imagem hiperecogênica do tubérculo genital (↑) e do cordão umbilical. (↑) logo à frente.



Figura 7: Imagem do útero gestante (35 dias) com grande quantidade de líquido (imagem não-ecogênica).

RESULTADOS

Não houve diferença ($P>0,05$) entre raças quanto à taxa de gestação. A ocorrência de absorção fetal não foi avaliada, no entanto, a média observada foi de 9,9 % (9/91) e de 18,1% (2/11) e 8,7 % (7/80) nas raças Bergamácia e Santa Inês respectivamente.

Observou-se 100% de acerto no diagnóstico de gestação pela ultrasonografia. Isto porque nesta fase ocorre grande quantidade de líquido intrauterino, o que facilita a determinação da gestação.

Tabela 1 - Dados do rebanho: raça, taxa de gestação e taxa de absorção fetal expressos numericamente e em percentagem.

Resultado dos Diagnósticos	Número/total (percentagem)		
	Bergamácia	Santa Inês	Total Geral
Totais por raça	13/105 (12,4%)	92/105 (87,6%)	105
Ovelhas gestantes	11/13 (84,6%)	80/92 (87,0%)	91/105 (86,6%)
Ovelhas não gestantes	0 (0%)	14/92 (15,2%)	14/105 (13,4%)
Absorção Fetal	2/11 (18,1%)	7/80 (8,7%)	9/91 (9,9%)
Ovelhas que pariram	9/11 (81,8%)	73/80 (91,2%)	82/91 (90,1%)

Fonte: Dados de Pesquisa

Quanto ao diagnóstico de quantificação fetal, houve 12% de erro (n=10), ou seja, 8 gestações duplas e uma tripla foram erroneamente diagnosticadas como únicas. E uma gestação única foi erroneamente diagnosticada como dupla. Isto resultou em acurácia de 88% na quantificação fetal (Tabela 2).

Como dito acima, uma gestação única foi diagnosticada como dupla no exame de ultra-som. Mas apenas um cordeiro nasceu. Isto porque, com o desenvolvimento da gestação, é possível que tenha ocorrido a absorção do outro feto. Por isto, no exame de ultra-som foram diagnosticadas 52 gestações únicas, mas após o nascimento dos cordeiros, foram observadas 53, ou seja, acerto de 98,1% na quantificação das gestações únicas (Tabela 2). Das 28 gestações duplas, apenas 20 foram diagnosticadas corretamente, ou seja, 8 gestações foram erroneamente diagnosticadas como únicas, com isto, dos 16 cordeiros provenientes de gestação dupla, apenas 8 foram visualizados e portanto, quantificados durante o exame de ultra-som.. Como houve apenas 1 gestação tripla, erroneamente diagnosticada como única, não foi possível a sua análise.

Ficou demonstrado que, a acurácia da quantificação fetal foi maior ($P<0,05$) nas ovelhas com gestação única (98,1%) comparada as ovelhas com gestação dupla (71,5%). Uma vez que as ovelhas Bergamácia apenas tiveram gestações única, não foi possível comparar o efeito da raça sobre a acurácia na quantificação fetal (Tabela 2).

Tabela 2 - Resultados de acurácia da quantificação fetal em relação ao tipo de prenhez.

Tipo de gestação	Número de gestações diagnosticadas pelo ultra-som	Gestações reais	Determinações corretas	Determinações incorretas*
Única	52	53	52/53 (98,1%)	1/53 (1,9%) ^a
Dupla	20	28	20/28 (71,5%)	8/28 (28,5%) ^b
Tripla*	0	1	0/1 (0)	1/1 (100%)
Total	72	82	72/82 (88%)	10/82 (12%)

letras diferentes na coluna indicam diferença significativa devido ao tipo de gestação ($P < 0,05$) pelo teste de qui-quadrado

* Não foi possível a análise estatística devido ao número limitado da parcela.

Foi possível diagnosticar 69 fetos das 55 ovelhas examinadas. Destes 69 fetos, foi possível diagnosticar o sexo em 87% ($n = 60$), sendo que em 13% ($n=9$) dos fetos o diagnóstico do sexo não foi possível (Tabela 3). Dos fetos com sexo diagnosticado, 90% ($n=54$) estavam corretos e 10% ($n=6$) incorretos.

O diagnóstico de campo não foi significativamente diferente dos diagnósticos feitos após a observação de imagens gravadas em DVD. Apenas um diagnóstico de sexagem fetal feito em tempo real diferiu do exame feito a partir de imagens gravadas (Tabela 3).

Tabela 3 - Resultados de determinação do sexo fetal expressos numericamente e em percentagem.

	Número (Percentagem)	
	DVD	Campo
Diagnósticos com determinação do sexo	60 (87%)	60 (87%)
Diagnóstico sem determinação do sexo	9(13%)	9(13%)
Diagnósticos corretos	54 (90%)	53 (88,3%)
Diagnósticos incorretos	6 (10%)	7 (11,7%)
Total de diagnósticos	69	69

Fonte: Dados de Pesquisa

Não houve diferença significativa ($P=0,77$) na acurácia da sexagem dentro do intervalo de gestação entre 49 e 59 dias (Tabela 4). Apesar de ser um período de apenas 10 dias, garante a segurança necessária para a realização do exame de sexagem.

Tabela 4 - Efeito do período de gestação sobre a acurácia da sexagem fetal.

Intervalo de gestação	Sem diagnóstico	Fetos sexados corretamente	Fetos sexados incorretamente	Acurácia Número/total (%)
49 – 52	1	23	2	23/25 (92%)
53 - 55	6	19	2	19/21 (90,4%)
56 - 59	2	12	2	12/14 (85,7%)
Total	9	54	6	54/60 (90%)

Fonte: Dados de Pesquisa

Não houve diferença ($P>0,05$) quanto à acurácia de diagnóstico de fetos fêmeas se comparado aos fetos machos. Mas houve maior proporção de fêmeas (17%) sem determinação do sexo fetal se comparado aos machos (7,1%) (Tabela 5).

Tabela 5 - Efeito do sexo do feto sobre a acurácia da sexagem

Sexo	Cordeiros nascidos e diagnosticados	Sem diagnóstico	Sexo correto	Sexo incorreto
Machos	28	2/28 (7,1%) ^a	23/28(82,1%)	3/28 (10,7%)
Fêmea	41	7/41(17%) ^b	31/41(75,6%)	3/41 (7,3%)
Total	69	9	54	6

Valores seguidos de letras distintas na linha diferem entre si ($P<0,05$) pelo teste de Fisher.

Fonte: Dados de Pesquisa

A acurácia da sexagem fetal não foi influenciada pelo tipo de gestação ($P>0,05$). Considerando apenas os fetos quantificados (Tabela 6). Como 2 gestações duplas foram erroneamente diagnosticadas como únicas, foi sexado apenas um feto, mas nasceram um casal de cordeiros de cada gestação. A sexagem foi considerada errada nos dois casos.

Tabela 6 - Efeito de tipo de gestação sobre a acurácia da sexagem fetal.

Tipo de prenhez	Fetos nascidos e quantificados	Fetos sexados	Sexagem correta	Sexagem incorreta
Única	35	31	28/31 (90,3%)	3/31 (9,7%)
Dupla	33	28	26/28 (92,8%)	2/28 (7,2%)
Tripla	1	1	0/1 (0%)	1/1 (100%)

Fonte: Dados de Pesquisa

Não houve diferença significativa ($P>0,05$) entre os exames em relação ao critério de percentagem de certeza do diagnóstico.

Em média os exames duraram três minutos variando de quatro segundos a 16 minutos. Não houve diferença significativa ($P>0,05$) entre a acurácia dos exames que demoraram mais e menos de três minutos para serem realizados (Tabela 7).

Tabela 7 - Efeito do tempo de exame sobre a acurácia da sexagem fetal.

Tempo de exame	Número de fetos	Fetos sexados corretamente	Fetos sexados incorretamente
< 3 minutos	38	34/38 (89,5%)	4/38 (10,52%)
> 3 minutos	22	20/22 (90,9%)	2/22 (9,09%)

Fonte: Dados de Pesquisa

DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

Os resultados de diagnóstico ultra-sonográfico de gestação revelaram 100% de acerto, ou seja, nenhuma ovelha gestante foi diagnosticada como não gestante. Isto ocorreu porque o diagnóstico de prenhez em ovelhas com aproximadamente 35 dias de gestação é facilitado pela grande presença de líquido dentro do útero, o que forma uma imagem não-ecogênica bem característica, além da visualização do próprio feto e seu batimento cardíaco (Santos, 2004). Portanto, esta é uma fase segura para diagnosticar a gestação. No entanto, segundo Gearhart et al (1988), para diagnosticar prenhez múltipla com segurança, o melhor período é entre o 40º e o 100º dia de gestação e através da via abdominal.

Nos exames de quantificação fetal, oito gestações duplas e uma tripla foram erroneamente diagnosticadas como únicas, ou seja, 11% de erro. Houve uma gestação diagnosticada como dupla, em que ocorreu o nascimento de apenas um cordeiro. No entanto, este equívoco pode ter ocorrido devido à absorção de um dos fetos com o decorrer da gestação como foi relatado por White et al (1984) Gearhart et al (1988) e Santos et al (2006 a e 2006 b).

Considerando-se essa última ocorrência, o percentual de erro na acurácia da quantificação fetal sobe para 12%. Este percentual de erro aparentemente elevado (White et al, 1984) pode ter ocorrido, em parte, pela experiência limitada do operador (Haibel, 1990) somada à dificuldade de obtenção da imagem de todos os fetos durante o exame.

A única ovelha que demonstrou menor tolerância ao exame de sexagem fetal foi justamente a que estava gestando três fetos. Ela permitiu apenas 1 minuto de exame, o que foi insuficiente para conseguir uma boa imagem do tubérculo genital, resultando em erro na sexagem. Com essa situação específica, podemos concluir que o outro motivo que contribuiu para prejudicar o exame de quantificação fetal pode ter sido a falta de tolerância do animal ao exame, ocasionando uma sucessão de erros, tanto na quantificação como na sexagem fetal.

As demais gestações (n=8) foram prejudicadas pela posição anatômica do útero, mais ventral na cavidade abdominal, dificultando o exame. Nestes casos, foi necessário suspender o abdômen com a barrigueira, o que nem sempre foi eficiente. Recomenda-se, então, realizar os exames conforme reportado por Santos (comunicação pessoal), ou seja, colocando o animal no colo do operador para conseguir suspensão total do útero durante o exame. Este procedimento, aliado à maior experiência do operador, pode elevar o índice de acurácia na quantificação fetal de 88% para 99% como reportado por White *et al* (1984). Como as ovelhas da raça Bergamácia só gestaram um feto, não foi possível comparar a eficiência no diagnóstico de quantificação fetal entre as duas raças.

Foi possível realizar o exame de sexagem fetal em 87% (n=60/69) dos fetos quantificados. Nos 13% (n=9/69) restantes, o diagnóstico do sexo fetal foi indeterminado. Burstel (2002) e Coubrough & Castell (1998) não conseguiram diagnosticar o sexo de apenas 7% dos fetos, lembrando que o primeiro autor realizou mais de um exame em cada animal e os últimos, quando não conseguiram visualizar o feto, realizaram o exame com a ovelha em decúbito dorsal.

Neste estudo, dos nove fetos sem determinação do sexo fetal, dois foram provenientes de gestação única e o restante de gestação dupla. Os dois fetos provenientes de gestação única ficaram sem determinação do sexo fetal devido,

no primeiro caso, à obesidade de uma das ovelhas, o que impediu a visualização do feto e do próprio útero; no segundo, devido ao posicionamento do feto dentro do útero, sendo possível captar apenas a imagem da cabeça. Os sete fetos restantes, provenientes de gestação dupla, ficaram sem diagnóstico do sexo devido ao posicionamento muito ventral dentro do útero, o que dificultou a visualização da região pélvica e conseqüentemente do tubérculo genital. Muitas vezes foi possível diagnosticar o sexo fetal apenas do irmão gêmeo. Lembrando que destes sete fetos, nasceram seis fêmeas e um macho. Isto demonstra maior dificuldade de diagnosticar fetos fêmea nas gestações duplas.

Nos casos em que há dificuldade de sexar o feto devido apenas ao seu posicionamento dentro do útero, uma das alternativas é deixar o animal solto, se possível em terreno com desnível, para que o feto possa mudar de posição, permitindo a visualização de sua região pélvica num exame subsequente. Já nos casos de ovelha obesa e gestações múltiplas, as alternativas seriam: conjugar com o exame abdominal, como proposto por Bürstel (2002), o que requer tricotomia; utilizar a técnica proposta por Santos (comunicação pessoal), ou seja, colocar o animal no colo do operador para que o abdômen seja suspenso; ou realizar o exame com o animal em decúbito dorsal, como relatado por Coubrough & Castell (1998).

Dos 60 exames de determinação do sexo fetal, 54 estavam corretos (90%) e seis incorretos (10%). A mesma acurácia foi encontrada por Santos, (2005a). Como duas gestações duplas foram erroneamente diagnosticadas como únicas, ou seja, foi dado o diagnóstico de feto fêmea, mas nasceu um cordeiro de cada sexo, dois fetos ficaram sem exame de sexagem e foram incluídos no diagnóstico incorreto. Se a acurácia da sexagem for calculada sem considerar estes dois fetos, o número de fetos examinados será 67 (ao invés de 69, como utilizado nos resultados). Deste total, 58 tiveram determinação do sexo fetal, sendo 54 exames corretos e quatro exames incorretos, ou seja, acurácia de 93%.

Coubrough e Castell (1998) alcançaram a acurácia de 88%, trabalhando apenas com ovelhas com gestação única. Para ovelhas Santa Inês, Santos et al (2007 b) obtiveram 100% de acurácia em gestações únicas e 92,9% em gestações duplas.

Neste experimento ocorreu o nascimento de um cordeiro macho que havia sido diagnosticado como feto fêmea no exame ultra-sonográfico de campo. Após observar as imagens gravadas, notou-se que o tubérculo genital encontrava-se mais próximo da cauda, contribuindo para que o feto fosse diagnosticado como fêmea. Pode ter acontecido uma gestação dupla, um casal de cordeiros, sendo que durante os exames de quantificação e sexagem apenas um dos fetos foi visualizado e teve seu sexo determinado. É possível que no decorrer da gestação este feto sexado tenha sido absorvido, restando apenas o feto não sexado. Isto enfatiza a influência do exame de quantificação fetal na acurácia da sexagem.

Neste experimento, foi observada maior dificuldade na visualização do tubérculo genital quando este se encontrava próximo à cauda, uma vez que 17% dos fetos fêmeas ficaram sem determinação do sexo fetal, possivelmente devido à sua posição, a qual não permitiu a visualização da região pélvica. Outros pesquisadores também relataram esta dificuldade e maior erro para diagnosticar fetos fêmeas, atribuindo este fato também à presença da cauda que pode mascarar a imagem do tubérculo genital (Coubrough & Castell, 1998; Merkt, 1999; Marie et al, 2002; Bürstel et al, 2002; Santos et al 2005a).

Como observado em outros trabalhos, o diagnóstico de sexagem fetal torna-se mais difícil em gestações múltiplas dada a dificuldade de se formar a imagem posterior de todos os fetos. (Bürstel 2002; Oliveira et al, 2005; Santos et al, 2005 a, b e 2006 a e b). Segundo Bürstel (2002), deve-se utilizar a via abdominal no caso de gestações múltiplas. Por outro lado, Santos (2006b) relata que a via retal é bastante eficiente para diagnosticar o sexo de fetos, mesmo aqueles oriundos de gestação múltipla. Segundo este autor, a utilização de um

transdutor de dupla frequência pode ter contribuído para a superioridade de seus índices de acurácia comparados aos de outros pesquisadores. Como a maioria dos médicos veterinários trabalha com transdutor de frequência única (normalmente 5.0 MHz), reforça-se a necessidade de conjugar os exames pelas vias retal e abdominal para a visualização de todo o útero, principalmente em casos de gestação múltipla. Neste experimento, não houve diferença na acurácia de sexagem entre as gestações únicas e duplas uma vez que os diagnósticos de sexagem fetal compararam apenas os fetos quantificados.

Este experimento, além de ter adotado o controle da luz externa e de situar o aparelho de ultra-som próximo e na altura dos olhos do operador, foi realizado com ovelhas em sua grande maioria tolerantes ao exame. Sendo assim, a comparação dos dados da percentagem de acurácia dos exames não resultou em diferença significativa. Isto demonstra que não é preciso avaliar o grau de certeza do diagnóstico para realizar a sexagem fetal em ovelhas. Segundo Curran e Ginther (1991), a classificação do nível de certeza é importante para diferenciar os exames que demonstraram 99% de certeza de diagnóstico dos outros. Em ovelhas isto não é relevante porque: são geralmente mais passivas do que éguas e permitem exames bastante prolongados; o manejo e as instalações na maioria das vezes permitem o controle da luz externa; o ultra-som situado próximo e no nível dos olhos do operador; por último, as ovelhas são mais fáceis de serem bem contidas.

Como preconizado por Curran & Ginther (1989), Ginther, (1995) e Marie e et al (2002), estes parâmetros aliados à paciência, experiência e habilidade do operador, contribuem para realizar o exame até que se obtenha absoluta certeza do diagnóstico. O grau de certeza mais baixo observado neste estudo ocorreu nos casos de mau posicionamento dos fetos e pelo fato de ter sido realizado apenas um exame. Para melhorar a acurácia do diagnóstico, o exame nestas ovelhas deveria ser repetido em outro momento, ou seja, permitir que elas

se movimentem um pouco para que o feto mude de posição dentro do útero e facilite a sua visualização no próximo exame.

Com exceção de um exame, todos os resultados dos diagnósticos de campo foram idênticos aos de DVD, contrariando os achados de Merkt (1999) em éguas. Isto ocorreu pelo mesmo motivo descrito acima com a percentagem de certeza dos exames. Portanto, não é necessário gravar os exames, pois os diagnósticos podem ser feitos em campo com a mesma acurácia dos exames gravados.

Além da experiência do operador, o que irá determinar a duração do exame é a quantidade de fetos e sua posição dentro do útero. Isto demonstra que o operador pode obter um diagnóstico acurado em menos de um minuto, bastando visualizar o tubérculo genital numa área fetal e sua ausência em outra área. Mas deve-se ter o cuidado de quantificar corretamente os fetos, para diminuir as chances de diagnósticos errados. Em média, neste experimento, os exames demoraram três minutos, mas isto poderá variar de acordo com a experiência do operador, tipo de gestação, manejo da fazenda e posicionamento do feto como já mencionados acima. Coubrough e Castell (1998) demoraram nove minutos em média para realizar os exames e atribuíram este resultado à falta de experiência do operador.

Como verificado por Gearhart et al (1988), a técnica retal pode ser utilizada com segurança, sem risco de ruptura de reto ou abortamento. Neste trabalho, também não ocorreram problemas relacionados com a técnica. Exceto em duas ovelhas que estavam com sintomas de diarreia e nas quais o exame retal provocou laceração e sangramento da mucosa da ampola retal. Assim, aconselha-se não examinar animais com estes sintomas, para evitar complicações.

Em ovinos, são vários os pontos que determinam a eficiência da sexagem. Apesar de a ovelha ser um animal com bom temperamento, o fato de

poder gestar mais de um feto torna o exame mais complicado. Enumerando os pontos que determinam a eficiência da sexagem obtém-se: espécie; raça; escore corporal; idade; número de partos; idade fetal; número de fetos e posição destes dentro do útero; tolerância do animal ao exame; luz ambiente no momento do exame; tipo de ultra-som e localização deste em relação ao operador; tipo e frequência do transdutor; experiência e habilidade prática do operador.

Portanto, é possível utilizar o período de 35 dias para realizar o diagnóstico de gestação conjugado com a quantificação fetal em ovinos. Embora os resultados de quantificação fetal precisem de um operador com experiência e habilidade prática para reduzir ou evitar erros. A sexagem fetal é uma ferramenta que pode ser incorporado à rotina de exames com taxa de acurácia próxima de 100% em gestações simples, sem a necessidade de gravar as imagens. Sendo assim, em ovinos, a quantificação fetal torna-se o principal fator determinante para a acurácia da sexagem em gestações duplas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALI, A. Effect of gestational age and fetal position on the possibility and accuracy of ultrasonographic fetal gender determination in dairy cattle. **Reproduction Domestic Animals**, Berlin, v. 39, p. 190-194, junho, 2004.
- ANDRADE, J. C. O.; GUIDO, S. I.; SOUSA, B. P. A. Sexagem fetal em ovinos. **Acta Scientiae Veterinariae**, Porto Alegre, v. 32, p. 185, abril, 2004.
- BÜRSTEL, D.; MEINECKE-TILLMAN, S.; MEINECKE, B. Ultrasonographic doagnosis of fetal sex in small ruminants bearing multiple fetuses. **The Veterinary Record**, London, v. 23, p. 635-636, novembro 2002.
- COUGHBROUGH, C. A.; CASTELL, M. C. Fetal sex determination by ultrasonically locating the genital tubercle in ewes. **Theriogenology**, Woburn, v. 50, n. 2, p. 263-267, julho, 1998.
- CURRAN, S.; GINTHER, O. J. Ultrasonic determination of fetal gender in horses and cattle under farm conditions. **Theriogenology**, Woburn, v. 36, n. 5, p. 809-814, novembro, 1991.
- CURRAN, S.; GINTHER, O. J. Ultrasonic diagnosis of equine fetal sex by location of the genital tubercle. **Journal Equine Veterinary Science**, Colorado, v. 9, n. 2, p. 77-83, janeiro/fevereiro, 1989.
- CURRAN, S.; KASTELIC, J. P.; GINTHER, O. J. Determinig sex of the bovine fetus by ultrasonic assessment of the relative location of the genital tubercle. **Animal Reproduction Science**, Amsterdan, v. 19, p. 217-227, janeiro, 1989.
- DER, G.; EVERITT, B. S. **A handbook of statistical analyses using SAS**. 2. ed. London: Chapman & Hall, 2002. 360 p.
- GEARHART, M. A.; WINGFIELD, W. E.; KNIGHT, A. P.; SMITH, J. A.; DARGATZ, D. A.; BOON, J. A.; STOKES, C. A. Real-time ultrasonography for determinig pregnancy status and viable fetal numbers in ewes. **Theriogenology**, Woburn, v. 30, n. 2, p. 323-349, agosto, 1988.

GINTHER, O. J. Ultrasonic diagnosis of fetal sex. In: GINTHER, OJ **Ultrasonic imaging and animal reproduction: horses**. Book 2. - Madison, Equiservices, 1995, p. 236-246.

HAIBEL, G. K. Use of ultrasonography in reproductive management of sheep and goats herd. **Veterinary Clinics of North America Food Animal Practice**, Philadelphia, v. 3, n.3, p. 597-613, março, 1990.

MARI, G.; CASTAGNETTI, C.; BELUZZI, S. Equine fetal sex determination using a single ultrasonic examination under farm conditions. **Theriogenology**, Woburn, v. 58, p. 1237-1243, outubro, 2002.

MERKT, H.; MOURA, J. C. de A.; JÖCHLE, W. Gender determination in equine foetuses between 50 and 90 days of gestation. **Journal of Equine Veterinary Science**, Colorado, v. 19, n. 2, p. 90-94, fevereiro, 1999.

MÜLLER, E.; WITTOWSKI, G. Visualization of male and female characteristics of bovine fetuses by real-time ultrasonics. **Theriogenology**, Woburn, v. 25, n. 4, p. 571-574, abril, 1986.

OLIVEIRA, M. A. L.; SANTOS, M. H. B.; MORAES, E. P. B. X.; MOURA, R. T. D.; CHIAMENTI, A.; RABELO, M. C.; BEZERRA, F. Q. G.; LIMA, P. F. Early identification of fetal sex and determination of the genital tubercle migration's day in dairy goats using ultrasound. **Acta Scientiae Veterinariae**, Porto Alegre, v. 32, p. 459, maio, 2005.

SANTOS, M. H. B.; GONZALEZ, C. I. M.; BEZERRA, F. Q. G.; NEVES, J. P.; REICHENBACH, H. D.; LIMA, P. F.; OLIVEIRA, M. A. L. Sexing of Dorper Sheep fetuses derived from natural mating and embryo transfer by ultrasonography. **Reproduction Fertility and Development**, Austrália, v. 19, p. 366-369, janeiro, 2007a.

SANTOS, M. H. B.; MORAES, E. P. B. X.; GUIDO, S. I.; BEZERRA, F. Q. G. B.; MELO, A. N.; LIMA, P. F.; OLIVEIRA, M. A. L. Fetal sexing in Santa Inês ewe by ultrasonography. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 36, n. 2, p. 573-578, março-abril 2006a.

SANTOS, M. H. B.; MORAES, E. P. B. X.; GUIDO, S. I.; GONDIM, F. Q. B.; LIMA, P. F.; FREITAS, V. J. F.; OLIVEIRA, M. A. L. Identificação do sexo de fetos em úteros de cabras e ovelhas utilizando a ultra-sonografia. **Ciência Veterinária nos Trópico**, Recife, v. 8, n. 1/2/3, p. 65-69, janeiro/dezembro 2005a.

SANTOS, M. H. B.; MORAES, E. P. B. X.; RABELO, M. C.; MELO, A. N.; LIMA, P. F.; OLIVEIRA, M. A. L. Fetal sexing by ultrasonography in ewe of Santa Inês breed. **Acta Scientiae Veterinariae**, Porto Alegre, v. 32, p. 247, outubro, 2005b.

SANTOS, M. H. B.; RABELO, M. C.; GUIDO, S. I.; TORREÃO, J. N. C.; LOPES JÚNIOR, E. S.; FREITAS, V. J. F.; LIMA, P. F. de; OLIVEIRA, M. A. L. Determination of the genital tubercle migration period in Morada Nova sheep fetuses by ultrasonography. **Reproduction Domestic Animal**, Berlin, v. 41, 2007b. IN PRESS

SANTOS, M. H. B.; OLIVEIRA, M.A L.; MORAES, E.P.B.X.; CHALHOUB, M.; BICUDO, S.D. Diagnóstico de gestação por ultra-sonografia em tempo real. In: SANTOS, M.H.B.; OLIVEIRA, MAL; LIMA, PF **Diagnóstico de gestação na cabra e na ovelha**. São Paulo: Varela, 2004. p. 97-116.

WHITE, I. R.; RUSSEL, A. J. F.; FOWLER, D. G. Real-time ultrasonic scanning in the diagnosis of pregnancy and the determination of fetal numbers in sheep. **The Veterinary Record**, London, v. 115, n. 18, p. 140-143, agosto 1984.

WOLF, A.; GABALDI, S. H. Acompanhamento ultra-sonográfico da gestação em grandes animais. **Ciências Agrárias e Saúde**, Andradina, v. 2, n. 2, p. 77-83, julho/dezembro, 2002.

Capítulo 4

Considerações finais

Neste trabalho ficou demonstrado que é possível realizar a sexagem fetal por meio de detecção do tubérculo genital pela técnica ultra-sonográfica retal, tanto em éguas como em ovelhas.

Em eqüinos existe maior dificuldade de determinação do sexo fetal se comparado aos ovinos, porque a égua tem menor tolerância ao exame. A acurácia da sexagem fetal em eqüinos será máxima quando o posicionamento fetal for favorável, permitindo a visualização do tubérculo genital numa área fetal e sua ausência em outra. Para isto, o exame a partir de imagens gravadas permite melhor eficiência do diagnóstico. Neste trabalho houve grande número de fetos que ficaram sem determinação do sexo devido ao seu mau posicionamento. Portanto, é possível que o número de diagnósticos do sexo aumente com a maior frequência de exames, o que, não foi avaliado neste experimento.

A sexagem fetal em eqüinos deve ser feita a partir de 59º dia de gestação para evitar posição intermediária do tubérculo genital.

Tanto na espécie ovina como na eqüina, houve maior dificuldade para determinar o sexo fetal nas fêmeas. E não houve influência do tempo de duração do exame na acurácia da sexagem.

O período de 35 dias permite 100% de acerto no diagnóstico de gestação por meio do exame ultra-sonográfico retal em ovelhas.

A acurácia da sexagem fetal em ovelhas com gestação simples pode aproximar-se de 100%. Contudo para a melhor avaliação do método de determinação do sexo fetal em ovelhas com gestação múltipla, maior detalhamento do procedimento deveria ser considerado em estudos futuros. Sendo que o principal fator que determina a acurácia da sexagem fetal em ovelhas é o exame de quantificação.

O período de 49 a 59 dias é seguro para realizar o exame de sexagem em ovelhas, o que, impõe limitação do ponto de vista de manejo.

Existe grande influência da experiência e habilidade prática do médico veterinário na acurácia dos exames de sexagem fetal em eqüinos, quantificação e sexagem fetal em ovinos.