

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO

**UTILIZAÇÃO DA ULTRA-SONOGRAFIA EM OVINOS E CAPRINOS
PARA SEXAR FETOS E ESTIMAR A IDADE E O
PESO FETAL AO NASCIMENTO**

Elielete Maria Pires de Azevedo

**TESE DE DOUTORADO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA VETERINÁRIA**

**Recife-PE
2007**

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO

Elielete Maria Pires de Azevedo

**UTILIZAÇÃO DA ULTRA-SONOGRAFIA EM OVINOS E CAPRINOS
PARA SEXAR FETOS E ESTIMAR A IDADE E O
PESO FETAL AO NASCIMENTO**

TESE DE DOUTORADO

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Veterinária da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do grau de **DOUTOR** em Ciência Veterinária.

UFRPE
Recife-PE, Brasil
2007

Ficha Catalográfica
Setor de Processos Técnicos da Biblioteca Central – UFRPE

A994u Azevedo, Elielete Maria Pires de
 Utilização da ultra-sonografia em ovinos e caprinos
 para sexar fetos e estimar idade e o peso fetal ao nasci -
 mento / Elielete Maria Pires de Azevedo. -- 2007.
 99 f. : il.

 Orientador : Marcos Antonio Lemos de Oliveira
 Tese (Doutorado em Ciência Veterinária) - Univer -
 sidade Federal Rural de Pernambuco. Departamento de
 Medicina Veterinária.
 Inclui bibliografia

CDD 636.308 982

1. Ovino
 2. Caprino
 3. Sexagem
 4. Ultra-sonografia
 5. Feto
 6. Peso
- I. Oliveira, Marcos Antonio Lemos de
II. Título

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA VETERINÁRIA**

**UTILIZAÇÃO DA ULTRA-SONOGRAFIA EM OVINOS E CAPRINOS
PARA SEXAR FETOS, ESTIMAR A IDADE E O
PESO FETAL AO NASCIMENTO**

Tese de Doutorado elaborada por

ELIELETE MARIA PIRES DE AZEVEDO

Aprovada pela

COMISSÃO EXAMINADORA:

Marcos Antonio Lemos de Oliveira
- Professor Orientador -

Jairo Pereira Neves
- Professor da UNB - Examinador

Sony Dimas Bicudo
- Professor da UNESP/Botucatu - Examinador

Sebastião Inocêncio Guido
FACEPE-Examinador

Daniela Maria Bastos de Souza
Autônoma- Examinadora

Maico Henrique Barbosa dos Santos
FACEPE- Examinador

Recife - 2007

DEDICATÓRIA

À Luísa, Débora e Letícia (minhas filhas), todo o meu amor hoje e sempre, obrigada pelo apoio incondicional.

AGRADECIMENTOS

A DEUS, que transcende o universo, Jesus irmão incondicional de todas as horas e Maria a luz que não ofusca, só esclarece e protege.

À minha mãe Maria Pires (*in memorian*), pelos conselhos só agora ouvidos.

Ao meu pai Manoel Pires, por minha existência.

Aos meus irmãos Antonio, Francisco, Fátima, Luíza e Olinto (*in memorian*), pela convivência e aprendizado.

Ao Félix, marido e incentivador dos meus propósitos profissionais.

Ao professor, orientador, amigo, a quem admiro pelo profissional que é, Marcos Antonio Lemos de Oliveira, pelo acolhimento, presteza e compreensão em todo percurso desse trabalho.

Ao colega Maico Henrique Barbosa do Santos, pelo desprendimento profissional no desenvolvimento do experimento.

Aos professores, Roseana Tereza Diniz de Moura e Evilda Rodrigues de Lima pela consideração.

Aos colegas Cristiano, Aduino, Marcelo, Filipe e Iracelma pelo companheirismo, fraternalismo e préstimos durante o doutorado.

Aos funcionários Joana D'arc e Dona Sônia pela convivência e préstimos.

À Emepa-PB (Pendência-PB), Dra. Carmen Iara, Dr. Gustavo, Dra. Dalva, Dra. Graça, Dra. Adriana, em Tacima-PB, Jeferson e Semirames, pela dedicação e auxílio na fase experimental.

À secretária do DMV Edna Cheries, pela presteza e auxílio.

Às cabras e ovelhas, animais de produção, fontes de subsistência do pequeno produtor rural, muito obrigada.

SUMÁRIO

	Página
DEDICATÓRIA.....	iv
AGRADECIMENTOS.....	v
SUMÁRIO.....	vi
RESUMO.....	viii
ABSTRACT.....	ix
LISTA DE FIGURAS.....	x
LISTA DE TABELAS.....	xii
1 INTRODUÇÃO.....	1
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	2
2.1 Ultra –som.....	2
2.2 Vias de Exame Ultra-sonográfico.....	5
2.2.1 Transretal.....	5
2.2.2 Transabdominal.....	6
2.2.3 Transvaginal.....	7
2.3. Diagnóstico de Gestação e Características Gestacionais.....	7
2.4 Identificação do sexo fetal.....	11
2.5 Medidas Anatômicas Utilizadas Pela Ultra-sonografia em Pequenos Ruminantes.....	16
2.5.1 A vesícula embrionária fetal.....	16
2.5.2 Comprimento céfalo-caudal do concepto (CCC).....	17

2.5.3	Idade Gestacional.....	18
2.5.4	Estimativa da Idade e do Peso do Concepto através da Ultra-sonografia.....	20
2.6	Planos do Exame Ultra-sonográficos para Sexagem Fetal.....	24
3	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	26
4	CAPÍTULO I.....	41
5	CAPÍTULO II.....	54
6	CAPÍTULO III.....	68

Utilização da ultra-sonografia em ovinos e caprinos para sexar fetos e estimar a idade e o peso fetal ao nascimento⁽¹⁾

Aluna: Elielete Maria Pires de Azevedo

Orientador: Marcos Antonio Lemos de Oliveira^(*)

Resumo

Este trabalho, constituído de três capítulos, teve por objetivos estabelecer parâmetros fetométricos que permitam estimar a idade de gestação (IG) e o peso fetal ao nascimento com um ou dois exames ultra-sonográficos, determinar o momento ideal de sexar fetos caprinos e ovinos comparando o período médio de migração do tubérculo genital entre sexo, raça e espécies, avaliar a acurácia da sexagem fetal entre sexos, bem como definir os melhores planos de abordagem ultrasonográfica para sexagem de fetos caprinos e ovinos. No experimento do primeiro capítulo foram monitorados 164 fetos das raças Dorper, Morada Nova e Damara aos 30 e 45 dias de gestação, sendo mensurados o comprimento céfalo-coccígeo (CCC), área do concepto (AC), perímetro do concepto (PC) e volume do concepto (VC) e área da vesícula (AV), perímetro da vesícula (PV) e volume da vesícula (VV). Todas as crias foram pesadas imediatamente após o nascimento. As equações não evidenciaram existência de relação ($P > 0,05$) entre os parâmetros fetométricos e o peso fetal ao nascimento, todavia, mostraram alta correlação ($P < 0,05$) com a idade gestacional e dentre os parâmetros, sendo o comprimento céfalo-coccígeo o que apresentou maior eficiência. Baseado nos resultados concluiu-se que aquele ultra-som associado com equações de regressão lineares específicas, pode ser utilizado para determinar a idade gestacional. No experimento do segundo capítulo foram monitorados com ultra-som 317 fetos em intervalos de 24 horas, do 30º ao 60º dias de gestação em ovelhas e do 40º ao 60º dias em cabras, com ultra-som. O tempo médio de migração do TG na espécie ovina (41.3 ± 3.1 dias) foi menor ($P < 0.05$) que na espécie caprina (47.2 ± 2.3 dias) e nessa espécie, a migração do TG dos fetos da raça de Saanen foi mais tardia ($P < 0.05$) do que nas demais raças. Diante dos resultados conclui-se que a sexagem fetal nos ovinos é mais precoce do que nos caprinos e que o sexo do feto não influencia no tempo médio de migração do TG. No experimento do terceiro capítulo foram avaliadas imagens ultra-sonográficas de 280 fetos das espécies caprina e ovina submetidos à sexagem fetal entre o 40º e 60º dias em cabras e 30º e 60º dias em ovelhas. Conclui-se que dos planos visualizados, o longitudinal ventral foi considerado o mais eficiente para sexar fetos em ambas as espécies (52.86%), uma vez que são captadas imagens do período inicial de migração de tubérculo genital, além da visualização de outras estruturas, como cordão umbilical, tetas, glândula mamária e prepúcio e bolsa de escrotal.

Palavras-chave: ultra-sonografia, fetometria, sexagem, planos ultra-sonográficos

⁽¹⁾Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Veterinária da Universidade Federal Rural de Pernambuco em 22.02.2007

^(*)Autor para correspondência (malo@dmv.ufrpe.br; maloufrpe@uol.com.br)

Use of the ultrasound scan in ovine and caprine for sexing fetuses and appreciate the age of gestation and the fetal weight to the birth⁽²⁾

Author: Elielete Maria Pires de Azevedo

Advisor: Marcos Antonio Lemos de Oliveira^(*)

Abstract

This work was divided in three chapters, had the objective to establish fetal measurement parameters that allow appreciate the age of gestation (IG) and birth fetal weight with one or two ultra-sonografic examinations with, to determine the ideal moment to sex goat and ovine embryos comparing the average migration period of the genital tubercle between sex, race and species, to evaluate the accuracy of the fetal sexing between sexes, as well as defining the best plans for sexing of goat and ovine embryos. In the first chapter experiment 156 Dorper, Morada Nova and Damara embryos had been monitored, from 30 to 45 days of gestation, being measured the céfalo-coccígeo length (CCC), area (AC), perimeter (PC) and volume (VC) of concept and area (AV), perimeter (PV) and volume (VV) of the embryonic vesicle. All you create them had been weighed after the birth immediately. The equations had not evidenced existence of relation ($P > 0,05$) between the photometric parameters and the fetal weight to the birth, however, they had shown to high correlation ($P < 0,05$) with the pregnancy age and amongst the parameters, the CCC were what it presented greater efficiency. In the experiment of as the chapter two 280 embryos in 24-hour intervals had been monitored, of the 30 to the 60 day of gestation in the sheep and of the 40 to the 60 day in goats, with ultrasound. The average time of migration of the TG in the ovine species ($41,3 \pm 3,1$ days) was lesser ($P < 0,05$) that in the goat species ($47,2 \pm 2,3$ days) and in this species, the migration of the TG of the embryos of the race of Saanen was more delayed ($P < 0,05$) of that in the too much races. Ahead of the results concludes that the fetal sexing in the ovine is precocious of the one than in the goat ones and that the sex of the embryo does not influence in the average time of migration of the TG. In the experiment of the third chapter 280 embryos from 219 females were monitored, being examined goats between Days 40 and 60 and sheeps on Days 30 to 60 of pregnancy, with an ultrasound equipped with linear transducer (6.0 and 8.0 MHz), by transrectal via. Of the visualized plans, longitudinal the ventral was considered most efficient to sex foetus in both the species, a time that are acquired images of the initial period of genital tubercle migration, beyond the visualization of other structures, as umbilical lace, nipples, prepuce, mammary gland and escrotal bag.

Keywords: ultrasonography, fetometria, sexing, ultra-sonografic planes

⁽²⁾Doctor 's Tese presented at Programa de Pós-Graduação em Ciência Veterinária of the Universidade Federal Rural de Pernambuco of the Federal Rural University of Pernambuco on 02.22.2007

^(*)Corresponding Author (malo@dmv.ufrpe.br; maloufrpe@uol.com.br)

LISTA DE FIGURAS

		Página
Capítulo 2		54
Figure 1	Day of fetal sexing in different breeds of goats. Different letters between the columns mean differences ($P < 0.05$).....	58
Figure 2	Day of fetal sexing of both the sexes in different goat breeds. Different letter between the columns mean differences ($P < 0.05$).....	59
Figure 3	Day of fetal sexing in different ovine breeds. No difference ($P > 0.05$) was observed between breeds. No difference ($P > 0.05$) was observed between sexes of breeds.....	60
Figure 4	Sexing Day of the fetuses in both sexes in different breeds of ovine. No difference ($P > 0.05$) was observed between sexes of breeds.....	60
Capítulo 3		68
Figure 1	Longitudinal plane at the extreme ventral region of the fetus. Ovine male fetus on Day 46, exhibiting a hyperechoic image of the genital tubercle (\uparrow) located caudally to the umbilicus (\downarrow), showing the hind limbs (\rightarrow).....	75
Figure 2	Sagittal plane of a caprine female fetus on Day 44 of pregnancy, showing hyperechoic image of the genital tubercle (\downarrow) located near the tail (\rightarrow), visualize the umbilical cord (\leftarrow).....	75
Figure 3	Longitudinal plane at the extreme ventral region of a caprine male fetus on Day 55, visualizing the prepuce (\leftarrow) and the hind limbs (\rightarrow).....	77
Figure 4	Longitudinal plane at the extreme ventral region of a caprine female fetus on Day 60 visualizing the nipples (\downarrow) between the hind limbs (\uparrow), with the umbilical cord (\rightarrow) cranial.....	77
Figure 5	Longitudinal plane at the extreme ventral region of the caprine male fetus on Day 60; exhibits the scrotum (\leftarrow) between the hind limbs (\downarrow).....	78
Figure 6	Transverse plane at the perineal region, observe the image hyperechoic of the nipples (\rightarrow) between the hind limbs, showing the vulva (\downarrow) and the tail (\leftarrow).....	78
Figure 7	Transverse plane of a caprine female fetus on Day 60, visualize an image hyperechoic of the vulva (\downarrow) near to tail (\leftarrow).....	78
Figure 8	Longitudinal plane of caprine male fetus on Day 53, showing an image hyperechoic of the prepuce (\downarrow) caudally to the umbilical cord (\rightarrow), the hind limbs are visualized (\leftarrow).....	78

Figure 9	Transverse plane at the level of umbilical cord of a caprine male fetus on Day 60, with the scrotum (→) between the hind limbs (↓); visualize the insert of the umbilical cord (←) on the abdomen.....	80
Figure 10	Sagittal plane of an ovine female fetus on Day 60, observed an image hyperechoic of the vulva (←) near to the tail (↓).....	80

LISTA DE TABELAS

	Páginas
Capítulo 1	41
Table 1 Results of the correlations (R^2) between gestational age (IG) and fetal and vesicle measurements according to breed at 30 and 45 days of pregnancy.....	46
Table 2 Multiple Regression Equation of Gestational Age Estimated According to Fetus Variables at 30 and 45 days of pregnancy.....	46
Table 3 Multiple Regression Equation of Gestational Age Estimated According to Fetus Variables at 30 and 45 days of pregnancy.....	47
Table 4 Correlation results (R^2) between the structure dimensions of the fetus and weight of the kids when being born, in the studied races at 30 and 45 days of pregnancy.....	47
Table 5 Correlation Results (R^2) between the weight of the kids when being born and vesicle measurements according to each breed at 30 and 45 days of pregnancy.....	48
 Capítulo 2	 54
Table 1 Accuracy of fetal sexing diagnosis through daily ultrasound scanning in ovine females with pregnancy between Days 30 to 60.....	61
Table 2 Accuracy of fetal sex diagnosis through daily examinations with ultrasound in females of the goat species with gestation between 40 and 60 days.....	61

1 INTRODUÇÃO

A caprino-ovinocultura no Nordeste do Brasil há muito perdeu o rótulo de simples atividade de subsistência e passou a ser encarada como uma alternativa de investimento no agro-negócio. A necessidade de atender as exigências de mercado tem incentivado a importação de sêmen, embriões e animais com qualidade genética superior para acelerar o melhoramento dos rebanhos (BANDEIRA et al., 2004).

Essa nova realidade tem exigido controle mais efetivo para minimizar perda de produtividade decorrente de alterações na reprodução e da manutenção de animais com baixa eficiência reprodutiva. O diagnóstico precoce de gestação não somente qualifica, mas agrega valor ao comércio de animais porque racionaliza tanto as ações de manejo, contribuindo para adequar um plano de nutrição diferenciado para fêmeas vazias e gestantes e até mesmo para fêmeas com gestação simples e múltipla, quanto às de comercialização de animais. (BANDEIRA et al., 2004; REICHENBACH et al., 2004; SANTOS et al., 2004).

A utilização da ultra-sonografia em países desenvolvidos é uma prática rotineira no controle reprodutivo dos rebanhos por ser um método não invasivo e de elevada precisão diagnóstica. No Brasil ainda é de uso restrito, especialmente na Região Nordeste que, segundo o IBGE (2004), detém a maior concentração de caprinos e ovinos.

Com este trabalho objetivou determinar o momento ideal de sexar fetos caprinos e ovinos, definir os melhores planos para sexar esses fetos, estabelecer parâmetros que permitam estimar a idade de gestação (IG) e o peso fetal ao nascimento.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Ultra -som

O ultra-som em tempo real (modo-B) foi criado na década de 70 com a finalidade de diagnosticar gestação e anormalidades fetais na medicina humana (HAFEZ e HAFEZ, 2000). Somente na década seguinte é que Fowler e Wilkins (1980), na Austrália, desenvolveram a técnica para ovinos.

O desenvolvimento de equipamentos de ultra-som do tipo Scan-B com maior resolução de imagem e o aperfeiçoamento dos transdutores nos últimos anos determinaram maior acurácia e rapidez no diagnóstico de gestação, na determinação do número de fetos nos pequenos ruminantes e na visualização do sexo (COUGHBROUGH e CASTELL, 1998; NAN et al., 2001; BÜRSTEL, 2002; BÜRSTEL et al., 2002). Além do abordado, possibilitaram detectar afecções dos órgãos reprodutivos masculinos (AHMAD et al., 1993) e femininos (JANETT et al., 2001), bem como diagnosticar anormalidades do úbere (ANDREASEN et al., 1993; FRANZ et al., 2001).

O ultra-som emite uma frequência superior a 20 KHz que não é captado pelo ouvido humano. Quando o transdutor do ultra-som é pressionado sobre a pele ou a mucosa, sons emitidos refletem-se nos órgãos ou estruturas internas do paciente e retornam como ecos sonoros que são recebidos pelo mesmo transdutor e transferidos para o equipamento que está conectado. Neste aparelho de ultra-sonografia, os sons, que não são prejudiciais ao organismo, são eletronicamente modificados e transformados em imagens de tempo real que podem ser imediatamente visualizadas na tela de um monitor (GARCIA, 1997).

O conjunto responsável pela produção e captação das ondas ultra-sonográficas é constituído por um circuito eletrônico oscilador, um amplificador de potência e um transdutor (CHRISTOPHER e MERRIT, 1998).

O aspecto fundamental da obtenção de imagens, com ultra-som, consiste na exibição em tempo real em escala de cinza de modo B, em que se usam as variações na intensidade ou brilho para indicar os sinais refletidos de amplitude diferente. Dessa forma, para gerar uma imagem bidimensional (2D), são enviados pulsos múltiplos de ultra-som abaixo de uma série de linhas de varredura sucessivas, construindo uma representação 2D de ecos que surgem do objeto sob varredura (CHRISTOPHER e MERRIT, 1998).

De acordo com a capacidade do tecido em absorver ou refletir as ondas sonoras, na avaliação das imagens ultra-sonográficas são utilizados os termos anecóico, hiperecóico e hipoecóico (BUCKRELL, 1988; CHRISTOPHER e MERRIT, 1998). As imagens anecóicas são escuras e oriundas dos líquidos que não refletem as ondas sonoras, as hiperecóicas são brancas e provêm de tecidos com grande capacidade refletora e as hipoecóicas podem ser de maior ou menor intensidade, variando nas tonalidades da cor cinza (BUCKRELL et al., 1986). As imagens são traduzidas em duas dimensões, permitindo identificar placentomas, movimentos fetais, fluídos e batimentos cardíacos do feto (ISHWAR, 1995).

A sonografia com Doppler é uma forma de ultra-som que, praticamente, possibilita examinar todos os órgãos e, ao mesmo tempo, avaliar o fluxo sanguíneo que é representado por um gráfico ou por cores, identificando bloqueios de artérias, bem como dilatações venosas e arteriais. A ginecologia e a obstetrícia são especialidades que necessitam utilizar o Doppler colorido para exame da circulação placentária visando o diagnóstico precoce de distúrbios do desenvolvimento fetal relacionados com insuficiência circulatória placentária ou com algumas doenças e malformações fetais (CAMPBELL et al., 1987; GUDMUNDSSON E MARSAL,

1988; DICKEY, 1997), além de permitir, de forma precisa, detectar o cordão umbilical. A técnica é também interessante para avaliar o fluxo sanguíneo do útero e dos ovários nas diferentes fases do ciclo estral, tanto em humanos (ARDAENS et al., 2002) quanto em bovinos (BOLLWEIN et al., 2000) e em eqüinos (BOLLWEIN et al., 2002b; BOLLWEIN et al., 2002c; BOLLWEIN et al., 2003), podendo fornecer informações diagnósticas adicionais nos casos de infertilidade (DICKEY, 1997; BOLLWEIN et al., 2000) e de aborto eminente (BOLLWEIN et al., 2002a).

As freqüências dos transdutores utilizadas na Medicina Veterinária encontram-se entre 3,0 e 8,0 MHz (BUCKRELL, 1988; BICUDO, 2003). As ondas de baixa freqüência são mais penetrantes, conduzindo a ações mais profundas e resultando em imagens que traduzem estruturas de tecidos moles a uma maior distância da superfície da pele. Os transdutores de freqüências mais altas criam imagens de tecidos em menor profundidade, mas com resolução superior.

Os transdutores de 7,5 MHz são importantes para detalhar imagens da cabeça fetal através do exame transretal, os de 3,5 MHz são melhores quando o objetivo é observar estruturas localizadas profundamente ao flanco (BUCKRELL, 1988) e o de 5,0 MHz para visualização de estruturas de médio alcance. Eles são classificados em linear, convexo e setorial mecânico. No transdutor linear, os sons emitidos pelos cristais piezelétricos são organizados lado a lado, de maneira alinhada e estacionária, originando uma imagem retangular (BRETZLAFF et al., 1993; BICUDO, 2003). No transdutor convexo, a disposição estacionária dos cristais ocorre num ângulo que pode variar de 90° a 150°, gerando uma imagem em forma de queijo (BRETZLAFF et al., 1993), parecida com aquela do transdutor setorial. No entanto, seu ponto de contato ocorre em toda superfície a ser examinada. O setorial determina a oscilação do cristal em um ângulo de 90°, resultando numa imagem em forma de cone ou leque, com o vértice iniciando no ponto de contato da superfície a ser examinada (BICUDO, 2003).

2.2 Vias de Exame Ultra-sonográfico

2.2.1 Transretal

O exame ultra-sonográfico por essa via tem sido uma ferramenta importante na avaliação da dinâmica do crescimento folicular em pequenos ruminantes (EVANS et al., 2000; MENCHACA e RUBIANES, 2002; DUGGAVATHI et al., 2003; RUBIANES e MENCHACA, 2003; TENÓRIO FILHO, 2003) e nos protocolos de sincronização do estro nos pequenos ruminantes (BARRETT et al., 2002). Além do abordado é também importante na transferência de embriões porque permite um melhor aproveitamento do rebanho de receptoras mediante a detecção precoce, monitoramento e viabilidade do conceito, assim como do rebanho das doadoras mediante a avaliação do útero e dos ovários (KASTELIC et al., 1988; MENCHACA et al., 2002) e da resposta superovulatória (RIESENBERG et al., 2001).

Apesar da manipulação do transdutor por via transretal ser limitada devido às dimensões reduzidas do reto nos pequenos ruminantes possibilitar o risco de lesões (NEVES, 1991; REICHLE & HAIBEL, 1991; HESSELINK e TAVERNE, 1994), apresenta a vantagem de utilizar um transdutor linear que é bem tolerado pelos pequenos ruminantes (DOIZÉ et al., 1997), e também bastante usado nos grandes animais (SANTOS et al., 2003) por sua versatilidade, principalmente aqueles que dispõem de dupla frequência (6.0 e 8.0 MHz).

O diagnóstico de gestação poderá ser realizado com precocidade anterior aos 20 dias caso seja utilizado uma frequência de 7,5 MHz por via transretal, todavia, a mesma precocidade não é comumente observada através da varredura transabdominal (BUCKRELL et al., 1986)

2.2.2 Transabdominal

O método transabdominal é o mais utilizado em pequenos ruminantes (CHALHOUB e RIBEIRO FILHO, 2002), entretanto, o período ideal para iniciar este exame é a partir do 30º dia

da cobertura por observação da imagem do fluido uterino (TAINTURIER et al., 1983; REICHLÉ e HAIBEL, 1991), que se torna mais evidente após 40º dia de gestação, momento em que o útero se encontra no lado direito da cavidade abdominal (ISHWAR, 1995). No exame de gestação avançada, tanto em cabras quanto em ovelhas, os fetos encontram-se geralmente na região abdominal, ventro-lateral direita, devido à presença do rúmen no lado esquerdo (SCHEERBOOM e TAVERNE, 1985; HESSELINK e TAVERNE, 1994). Além disto, o método transabdominal permite uma boa fetometria, possibilitando avaliar o desenvolvimento embrionário e estimar, com boa margem de segurança, a idade do feto e, por conseguinte, uma boa previsão das possíveis datas de parição quando às de concepção são desconhecidas (KÄHN et al., 1992; GREENWOOD et al., 2002).

Para a realização do exame transabdominal, o transdutor é colocado em contato com a região inguinal, cranialmente ao úbere (BICUDO, 2003). O período ideal para confirmar a gestação situa-se entre 40º e o 50º dia porque, além da visualização da presença de fluido uterino, vesícula embrionária, placentomas, embrião e batimento cardíaco, os movimentos fetais passam a ser observados e as gestações múltiplas podem ser diferenciadas das simples (CHALHOUB e RIBEIRO FILHO, 2002).

A partir dos três meses de gestação, a visualização completa do feto por via transabdominal somente é possível com transdutores de baixa frequência (3,0 ou 3,5 MHz). Com frequências elevadas serão observadas apenas partes do feto (sombra refletida das costelas, batimento cardíaco, estômago, etc) que completarão a tela e deverão ser devidamente interpretadas pelo operador (BUCKRELL, 1988; ISHWAR, 1995; CHALHOUB e RIBEIRO FILHO, 2002).

2.2.3 Transvaginal

A ultra-sonografia transvaginal é uma via de exame ainda pouco difundida, apesar de não provocar aborto e infecção do sistema genital e de não propiciar desconforto ao animal quando da manipulação vaginal (AYRES et al., 2000; SANTOS, 2003; TENÓRIO FILHO, 2003).

É uma via de exame limitada quando existe a necessidade de realizar um diagnóstico tardio de gestação em virtude do feto se encontrar localizado na cavidade abdominal (SANTOS, 2003). É possível diagnosticar prenhez antes dos 21 dias de gestação, mas um diagnóstico de gestação definitivo por essa via somente deve ser feito a partir do 35º dia de prenhez. Por apresentar resultados semelhantes aos obtidos pela via transretal (AYRES et al., 2000; SANTOS, 2003), pode ser classificado como um método efetivo para ser utilizado na reprodução de caprinos (AYRES et al., 2000).

Considerando que a qualidade de resolução das imagens ultra-sonográficas de cabras e ovelhas prenhes não difere entre os transdutores linear e convexo endocavitário, é possível sugerir também sua utilização para os pequenos ruminantes, especialmente nos laboratórios especializados na produção *in vitro* de embriões destas espécies (OLIVEIRA et al., 2004).

2.3 Diagnóstico de Gestação e Características Gestacionais

A ultra-sonografia em tempo real, apesar de não estar totalmente livre da ocorrência de erros no diagnóstico (KÄHN, 1994; KAULFUSS et al., 1996; SALLES et al., 1997; CHALHOUB e RIBEIRO FILHO, 2002), é o método mais eficiente por reunir praticidade e acurácia na determinação precoce da gestação, na quantificação fetal, sexagem e, até mesmo, na identificação de alguma patologia de caráter reprodutivo (FOWLER e WILKINS, 1982/1984; BUCKRELL, 1988; ISHWAR, 1995).

O momento da primeira visualização das diferentes características do concepto é variável e a frequência do transdutor, bem como a via de acesso são os fatores mais importantes que determinam esta variação (BUCKRELL, 1988; KÄHN, 1994).

O diagnóstico precoce de gestação pela ultra-sonografia é importante para aprimorar o manejo reprodutivo e racionalizar a produtividade de rebanhos (HAIBEL, 1990). Fêmeas com prenhez múltipla podem ser submetidas a um programa nutricional adequado visando o máximo aproveitamento do potencial de produção de leite e, ao mesmo tempo, suprir as exigências dos fetos em desenvolvimento (DAVEY, 1986), sobretudo no final de gestação, fase na qual a nutrição tem maior influência no peso da cria ao nascer (WHITE et al., 1984).

Os primeiros relatos sobre observações de fetos pela ultra-sonografia de Modo B foram realizadas por TAINTURIER et al. (1983) em ovinos e por TAINTURIER et al. (1983) e YAMAGA e TOO (1984) em caprinos. A partir de então, a ultra-sonografia tem sido amplamente utilizada nos pequenos ruminantes (TAVERNE et al., 1985; MARTINEZ et al., 1998; CHALHOUB, 2000; SOUZA, 2000; MESSIAS, 2002) para diagnóstico precoce de prenhez com uma acurácia perto dos 100% (BUCKRELL, 1988; HAIBEL, 1990; MIALOT et al., 1991; BRETZLAFF et al., 1993; GARCIA et al., 1993). Em países onde se tem uma criação intensiva de ovinos, a prática de exames ultra-sonográficos, para detecção de prenhez e determinação do número de fetos, é realizada rotineiramente (FOWLER e WILKINS, 1980; DAVEY, 1986; SPRECHER et al., 1989).

A presença de líquido intra-uterino, visualização da vesícula embrionária, detecção do embrião, visualização dos batimentos cardíacos, identificação da membrana amniótica, visualização dos placentomas, diferenciação da cabeça e tronco, identificação do botão germinativo dos membros, movimento embrionário/fetal, delimitação do cordão umbilical e

visualização do globo ocular (ISHWAR, 1995; CHALHOUB e RIBEIRO FILHO, 2002) são as principais imagens do ultra-som de tempo real que caracterizam a fase inicial da gestação.

A presença de líquido intra-uterino é o primeiro indício de gestação, mas pode ser confundido com líquido proveniente da fase estrogênica (KÄHN, 1994; AZEVEDO et al., 2001) ou com líquido oriundo de casos de hidrometra (LÊGA e TONIOLO, 1999). Utilizando transdutor linear de 7,5 MHz por via transretal em ovelhas (SCHRICK e INSKEEP, 1993) e cabras (SALLES et al., 1997) é possível detectar a presença de líquido intra-uterino a partir do 15º dia da cobertura. Ultra-sonograficamente, o fluido extra-embriônico apresenta-se anecogênico, semelhante à urina (BUCKRELL, 1988; KÄHN, 1994; KAULFUSS et al., 1996; DOIZÉ et al., 1997), com forma de imagens alongadas ou circulares, cranial à bexiga (GEARHART et al., 1988; DOIZÉ et al., 1997).

A visualização do embrião é possível entre o 20º e 23º dia de prenhez (SCHRICK e INSKEEP, 1993; DOMINGUES e TREIN, 1995; MARTINEZ et al., 1998; SALLES et al., 1997; CHALHOUB, 2000; AZEVEDO et al., 2001), todavia, a mensuração precisa de todos os embriões somente é possível a partir do 25º dia.

Com relação à membrana amniótica ela é formada entre o 13º e o 16º dia após a concepção (PERRY, 1981; ROBERTS, 1986), porém, somente é identificada através de exame ultra-sonográfico transretal entre o 24º e o 32º dia da prenhez (KÄHN, 1994; AZEVEDO et al., 2001).

Os primeiros batimentos cardíacos do embrião caprino podem ser observados após o 25º dia de prenhez (BUCKRELL, 1988), sendo que se intensificam entre o 25º e o 29º dia de gestação (SALLES et al., 1997; MARTINEZ et al., 1998). Em ovelhas foram detectados a partir do 18º ou 19º dia de prenhez com a utilização de transdutor com frequência de 7,5 MHz por via transretal (SCHRICK e INSKEEP, 1993). Pela mesma via e com um transdutor linear de 5 MHz,

os primeiros batimentos cardíacos podem ser observados no 21º dia de gestação em ovelhas (CALAMARI et al., 2002), achados semelhantes aos anteriormente registrados com fêmeas da espécie caprina (SALLES et al., 1997; MARTINEZ et al., 1998).

No final da década de 30, utilizando-se peças anatômicas da espécie ovina, foi observado que os placentomas podiam ser identificados, como pequenos nódulos, no 21º dia da gestação e em torno do 90º dia atingiam tamanho e diâmetro máximos (CLOETE, 1939). Em relação a primeira visualização ultra-sonográfica os placentomas, foram detectados desde os 16 dias (SANTIAGO MORENO et al., 1995) utilizando a via transretal na frequência de 7,5 MHz até 32 - 45 dias (LEVY et al., 1990) pela via transabdominal na frequência de 3,5 MHz.

No que diz respeito à diferenciação do embrião ovino em cabeça e tronco é possível de ser visualizada aos 26 dias de gestação quando é utilizado, por via transretal, transdutor linear de 5,0 MHz (KAULFUSS et al., 1996).

A controvérsia entre os relatos de alguns autores é também evidenciada quando é abordado o dia da identificação do botão germinativo dos membros. Sua identificação é possível de ser efetuada aos 36 dias de gestação (AZEVEDO et al., 2001), contudo, existem relatos desta identificação ser possível aos 30 (KAULFUSS et al., 1996) e 41 dias de prenhez (PICAZO et al., 1991).

No que concerne ao movimento fetal, o dia de sua identificação é também bastante controvertido, há visualizações desde 33º dia (CHALHOUB, 2000) pela via transretal nas frequências de 5,0 e 7,5 MHz até 45-50º dia (BUCKRELI et al., 1986) pela mesma via.

A identificação do globo ocular é possível a partir do 41º dia (PICAZO et al., 1991) ou no 42º dia de prenhez (AZEVEDO et al., 2001), existindo relato de identificação aos 30 dias de gestação (KAULFUSS et al., 1996) utilizando transdutor com frequência de 5,0 MHz.

A determinação precisa do número de conceptos está relacionada com a idade gestacional, com a qualidade do equipamento utilizado e com a experiência do operador (HAIBEL, 1990). Os gêmeos são diagnosticados com maior precisão em relação aos trigêmeos (ISHWAR, 1995) e a diferenciação entre gestação simples e múltipla é facilitada, em algumas oportunidades, pela observação de diferentes partes dos fetos e/ou pela movimentação individual durante a varredura (GEARHART et al., 1988). Por outro lado, os resultados falso-positivos, em muitas ocasiões, são decorrentes das perdas embrionárias ou abortamentos não observados após a realização do exame (TAVERNE et al., 1985).

A prenhez múltipla é possível de ser diagnosticada no 31º dia (GEARHART et al., 1988), apesar de a determinação ser mais segura entre o 40º e o 100º dia de gestação (WHITE et al., 1984; TAVERNE et al., 1985; GEARHART et al., 1988). A diferenciação entre prenhez dupla, tripla ou quádrupla é difícil em virtude de que, normalmente, o número de fetos é subestimado (BUCKRELL, 1988). e após o 90º e o 100º dia, os fetos aumentam de tamanho e podem ser diferenciados em ambos os lados do abdômen da fêmea gestante.

O tempo requerido para a realização do diagnóstico de gestação simples é de 10 segundos, na prenhez gemelar aumenta em até 30 segundos e nos casos de fêmeas vazias é necessário o tempo mínimo que varia de 20 a 30 segundos de investigação para o mesmo diagnóstico (DAVEY, 1986).

2.4 Identificação do sexo fetal

A identificação precoce do sexo fetal por meio da ultra-sonografia vem sendo utilizada com sucesso há alguns anos em bovinos e eqüinos, baseando-se na observação do tubérculo genital - TG (CURRAN e GINTHER, 1991; CURRAN, 1992).

Nos pequenos ruminantes, a determinação precoce do sexo fetal pode contribuir, antes de tudo, para o avanço de diversas áreas da pesquisa fundamental, visando, por exemplo, o diagnóstico prematuro do sexo de fetos após a inseminação artificial com sêmen sexado (CRAN et al., 1997; JOHNSON, 2000; GARNER, 2001), após a transferência de embriões com sexo pré-determinado (GUTIERREZ-ADAN et al., 1997) ou de embriões produzidos *in vitro* pela técnica da injeção intracitoplasmática de espermatozóide (CATT et al., 1996). Dentre as aplicações práticas desta biotécnica, pode-se destacar sua importância para a produção animal, particularmente em rebanhos leiteiros, por permitir um melhor planejamento tanto para adquirir quanto para comercializar animais do próprio rebanho (HAIBEL, 1990), podendo, na dependência do resultado, elevar ou diminuir o valor do animal examinado e facilitar a coordenação de ações que visem racionalizar produção e lucratividade. Este melhor planejamento implica numa maior concentração de fêmeas nos rebanhos leiteiros e de machos nos de carne. Apesar do exposto, a difusão desta tecnologia para a sexagem fetal, sobretudo para a aplicação em condições de campo, ainda depende de uma maior precisão no diagnóstico porque as gestações múltiplas induzem o operador a cometer equívocos com mais facilidade do que as gestações simples (BÜRSTEL, 2002).

A identificação do sexo fetal através da ultra-sonografia baseia-se na localização e diferenciação da genitália externa (MÜLLER e WITTKOWSKY, 1986; CURRAN et al., 1989). A estrutura anatômica do feto que possibilita este diagnóstico pelo ultra-som é denominada de tubérculo genital (CURRAN et al., 1989; COUGHBROUGH e CASTELL, 1998). Em bovinos, o TG pode ser identificado como uma estrutura constituída de dois lóbulos alongados, com aparência semelhante a duas barras paralelas ovais que refletem as ondas ultra-sônicas que lhes são dirigidas de forma intensiva (CURRAN et al., 1989).

Aos 25 dias de gestação, embriões ovinos apresentam uma discreta elevação entre os brotos dos membros posteriores indicando a formação do TG. Entre o 28º e o 30º dia, o TG está mais proeminente e no 34º dia já é possível identificar o sexo do embrião. Com o desenvolvimento do corpo do embrião e a migração do TG em direção ao umbigo nos machos e à cauda nas fêmeas, têm-se, respectivamente, a diferenciação deste órgão em pênis e clitóris (SCHNORR, 1989). Portanto, a partir deste período, a distância compreendida entre o ânus e o TG, será maior no macho do que na fêmea.

A identificação do sexo fetal através da ultra-sonografia já é possível por volta do 40º dia de gestação utilizando o TG como parâmetro. Todavia, é recomendável entre o 50º e o 58º dia, podendo ser também efetuada até o 64º dia, mas com uma precisão diagnóstica bastante inferior (BÜRSTEL, 2002). Além da influência do período de gestação, outros fatores como raça, idade e condição corporal do animal podem determinar variações na acurácia do diagnóstico.

Investigações para a identificação pré-natal do sexo com auxílio da ultra-sonografia em bovinos, teve inicialmente como principal ponto de referência, a identificação da bolsa escrotal e do prepúcio no macho, ou da glândula mamária das fêmeas em gestações mais avançadas, entre o 70º e o 120º dia após a cobrição ou inseminação artificial (MÜLLER e WITTKOWSKY, 1986; GINTHER, 1998). Posteriormente foi demonstrada a possibilidade de um diagnóstico mais precoce em bovinos pela determinação da localização do tubérculo genital, a partir do 50º dia de gestação com transdutores de 5,0 MHz pela via transretal (CURRAN et al., 1989; STROUD, 1996). A técnica da sexagem fetal em ovinos foi descrita pela primeira vez na década de 90. Neste estudo inicial, o diagnóstico foi realizado por via transretal utilizando transdutor linear de 5,0 MHz em ovelhas com gestações simples entre o 60º e o 69º dia da prenhez (COUGHBROUGH e CASTELL, 1998). Todos os animais foram inicialmente examinados em posição de estação, sendo, em alguns casos, necessário examinar a fêmea em decúbito dorsal

devido à inadequada apresentação do feto, quando a ovelha estava em estação (COUGHBROUGH e CASTELL, 1998). Estudos posteriores mostraram ser também possível utilizar a via transabdominal para diagnosticar o sexo fetal tanto nas gestações simples (NAN et al., 2001) quanto nas múltiplas (BÜRSTEL et al., 2001; BÜRSTEL, 2002), utilizando transdutor e frequência idênticos aos anteriormente referidos, com os animais posicionados em estação.

O diagnóstico transabdominal pode ser executado entre o 50º e o 70º dia de gestação (BÜRSTEL et al., 2001) ou entre o 65º e o 100º dia (NAN et al., 2001) em condições de campo. No caso de gestações múltiplas, é recomendada a realização de exames em dois períodos consecutivos, sendo o primeiro realizado entre o 50º e o 56º dia e o segundo entre o 66º e o 70º dia (BÜRSTEL et al., 2001).

A visualização do TG por meio do ultra-som é descrita como sendo simples pelo fato de se tratar de uma estrutura anatômica hiperecótica (COUGHBROUGH e CASTELL, 1998). Os fetos são considerados machos quando o TG encontra-se imediatamente caudal ao umbigo e são diagnosticados como fêmeas, quando se localiza abaixo da cauda (COUGHBROUGH e CASTELL, 1998; NAN et al., 2001). Para o diagnóstico de machos pode-se também tomar como base, a presença do prepúcio imediatamente caudal ao umbigo e/ou a presença da bolsa escrotal, geralmente de aparência triangular, entre os membros posteriores (BÜRSTEL et al., 2001).

Movimentos fetais, posicionamento desfavorável, membros cruzados ou posicionamento do cordão umbilical entre os membros, além de dificuldades no exame de animais obesos, são os principais fatores que podem dificultar a visualização do TG em bovinos (BARROS e VISINTIN, 2001). Além do mencionado, nos fetos de ovinos e caprinos do sexo feminino, o posicionamento da cauda do feto pode dificultar ou mesmo impedir a visualização do TG (BÜRSTEL et al., 2001).

A porcentagem de acerto no diagnóstico do sexo fetal (acurácia) por via transretal é de 89% na ovelha com gestação simples, sendo que em 7% dos animais examinados, não é possível identificar o sexo (COUGHBROUGH e CASTELL, 1998). Entretanto, estudo realizado por Burstel (2000) envolvendo ovinos e caprinos, mostra que a sexagem ultra-sonográfica por via transretal não é possível de ser efetuada quando os animais apresentam gestação múltipla (BÜRSTEL, 2002). Neste mesmo trabalho, a acurácia na quantificação fetal foi próxima de 100% nas gestações com menos de quatro fetos (BÜRSTEL, 2002).

Em pequenos ruminantes, a quantificação do número de fetos pela ultra-sonografia nos casos de gestação múltipla com mais de três fetos é extremamente incerta (GEARHART et al., 1988; HAIBEL, 1990; BÜRSTEL, 2002), sendo recomendando proceder à determinação do sexo fetal apenas em gestações simples ou nas múltiplas com menos de quatro fetos (BÜRSTEL, 2002). Nas gestações múltiplas, o mapeamento dos fetos é mais demorado e complicado porque precisam ser visualizados vários planos para que o posicionamento do TG, em todos os fetos, possa ser determinado com precisão (BÜRSTEL, 2002).

A técnica da ultra-sonografia transabdominal resulta em 78% (NAN et al., 2001) e 86% (BÜRSTEL et al., 2001) de diagnósticos corretos em ovinos. Em caprinos, a acurácia é de 92% (BÜRSTEL et al., 2001; BÜRSTEL, 2002). Em 8% das ovelhas gestantes examinadas pela ultra-sonografia transabdominal, o diagnóstico do sexo fetal não foi possível (BÜRSTEL, 2002). A acurácia nas gestações múltiplas após exame único em condições de campo é de apenas 64%, sendo, portanto, recomendado dois exames consecutivos nos períodos anteriormente propostos para a obtenção de melhores taxas de acerto (BÜRSTEL et al., 2001).

O grau de dificuldade para diagnosticar o sexo do feto é controverso. Se por um lado tem sido descrito que é mais fácil diagnosticar machos do que fêmeas (COUGHBROUGH e CASTELL, 1998; BÜRSTEL et al., 2001), por outro existe relato de que o sexo fetal não

influencia na acurácia do diagnóstico, sendo de 88,5% nos casos de fetos masculinos e de 88,9% no de fetos femininos (NAN et al., 2001). Além do sexo do feto, a acurácia do diagnóstico varia conforme o equipamento de ultra-sonografia, a experiência, a habilidade e a motivação do operador (BARROS e VINSITIN, 2001). Outros fatores envolvidos são o comportamento do animal durante o exame, as condições anatômicas do útero conforme a idade e a raça dos animais, além da necessidade de informações precisas sobre as datas de cobertura ou de inseminação artificial (BÜRSTEL, 2002). No diagnóstico transabdominal, o número de fetos também influencia os resultados, sendo de 88% de acerto nas gestações simples e de 83% nas múltiplas (BÜRSTEL, 2002). Contudo, em condições de campo, o resultado de 64% de diagnósticos corretos, tanto para ovinos quanto para caprinos, é inferior ao de 86% obtido experimentalmente (BÜRSTEL, 2002). Em função do exposto recomenda-se, quando o trabalho é desenvolvido a campo, a realização de dois exames consecutivos, sendo o primeiro entre o 50º e o 58º dia e o segundo entre o 65º e o 70º dia de gestação para permitir que a porcentagem de diagnósticos corretos alcance o patamar de, pelo menos, 78% (BÜRSTEL, 2002).

2.5 Medidas Anatômicas Utilizadas Pela Ultra-sonografia em Pequenos Ruminantes

2.5.1. A Vesícula Embrionária /Fetal

Das diversas estruturas passíveis de serem determinadas, a mensuração da vesícula embrionária/fetal deve ser efetuada em seu maior eixo transversal, normalmente na altura em que se encontra o embrião (CHALHOUB, 2000). O diâmetro da vesícula no 30º, 45º e 60º dias após a concepção são, respectivamente, de 54, 94 e 95 mm (Alves et al., 1991). O maior eixo transversal da vesícula que é de 10 mm no 20º dia, aumenta para 15 mm no 25º dia e para 20 mm no 30º dia

(KÄHN, 1994). O desenvolvimento médio diário da vesícula embrionária/fetal entre o 18º e 45º dia de gestação pode variar em torno de 1,40 mm (CHALHOUB, 2000)

A vesícula embrionária pode ser observada em ovelhas entre os dias 17 e 19 depois da cobertura, mas é difícil distinguir se é fluido intra-uterino ou alongamento do trofoblasto. É recomendável que a ultra-sonografia transretal seja realizada entre o 32º e o 34º dia de gestação por oferecer acurácia da ordem de 95% (GARCIA et al., 1993), todavia, a evolução da qualidade dos equipamentos de ultra-som tem permitido a visualização da vesícula embrionária por volta do 20º dia de gestação (FERNANDES, 1996; AZEVEDO et al., 2001). Em ovelhas, a partir do 21º dia de prenhez observa-se área anecóica bem delimitada, medindo cerca de 32 mm de diâmetro e com estrutura hiperecólica indicando a formação inicial do embrião que mede 7 mm. Aos 28 dias, a vesícula embrionária mede 29 x 36 mm em média e o embrião apresenta dimensões variando de 12 a 15 mm. No 35º dia de gestação, a vesícula embrionária mede 100 x 63 mm de diâmetro com presença de formação esquelética, determinando imagens com fortes ecos (DOMINGUES e TREIN, 1995). Em cabras, é imprescindível a realização do diagnóstico diferencial de uma vesícula embrionária precoce e da hidrometra (LÉGA e TONIOLLO, 1999).

Curran et al. (1986), utilizando transdutor de 5MHz em vacas Holandesas, identificaram uma suposta vesícula embrionária a partir do dia 10 após a inseminação artificial, enquanto Boyd et al. (1988), usando transdutor de 7,5 MHz, detectaram a vesícula aos nove dias após a inseminação artificial.

2.5.2. Comprimento Céfalo-caudal do Concepto (CCC)

A determinação do CCC é realizada em muitas espécies para estimar a idade gestacional (BRETZLAFF et al., 1993). Esta medida corporal possui potencial para estimar também o peso embrionário e fetal (MESSIAS, 2002). O comprimento do conceito representa a distância

anatômica entre a extremidade superior do crânio e a primeira vértebra coccígea no sentido crânio-caudal, podendo ser obtido pela vista lateral, ventral ou dorsal (BINGHAN ET AL., 1990; MESSIAS, 2002; SOUSA ET AL., 1997; SOUZA, 2000). Entretanto, a mensuração do CCC é dependente do campo de visualização no monitor, da capacidade de penetração do ultra-som, do dia da gestação e, sobretudo, do próprio tamanho do concepto, (KÄHN, 1989; SCHRICK e NSKEEP, 1993; SOUZA, 2000).

Entre o 18° e 45° dia de gestação, o crescimento médio diário do CCC é de 1,33mm. Com a evolução da gestação, a estimativa da idade gestacional com fidedignidade, a partir do tamanho do embrião/feto, diminui devido ao aumento da variação de seu tamanho (SCHRICK E NSKEEP, 1993). Em ovelhas, o crescimento é de 4,1 cm/semana no 75° dia, 3,3 cm/semana no 100° dia e 1,9 cm/semana no 133° dia de gestação (BARBERA et al., 1995a). Os dados das mensurações obtidas através do ultra-som são semelhantes aos reais, assim, possibilitam estabelecer alta correlação entre as medidas ultra-sonográficas e aquelas tomadas no próprio concepto.

2.5.3. Idade gestacional

A estimativa da idade do feto era realizada antes do advento da ultra-sonografia no campo da Medicina Veterinária, quando estudos realizados em ovelhas já afirmavam que o comprimento da cabeça-ânus era um importante parâmetro para estimar a idade do feto entre o 50° e o 100° dia de gestação (RICHARDSON et al., 1976).

O desenvolvimento fetal de modo uniforme proporciona alta correlação entre as dimensões lineares e a idade gestacional (HAIBEL e FUNG, 1991). Em humanos, o desenvolvimento da cabeça fetal ocorre de forma contínua e com uma taxa específica por toda a gestação. As medidas do esqueleto e em especial do diâmetro biparietal possibilitam determinar a

idade do feto (KURTZ, et al., 1980). Em pequenos ruminantes, esta medida também é segura, por permitir avaliar a fertilidade dos animais e a data provável do nascimento em casos onde não há registro de cobertura (HAIBEL, 1988; REICHLE & HAIBEL, 1991).

A estimativa da idade gestacional em caprinos a partir do 40º dia pode ser obtida com segurança através de mensurações do diâmetro biparietal, entretanto, é limitada ao 90º dia de gestação devido à dificuldade progressiva na obtenção de imagens simétricas desta região (HAIBEL, 1988; HAIBEL ET AL., 1989; REICHLE & HAIBEL, 1991)

A ultrasonografia em tempo real permite acompanhar o crescimento fetal, através de mensurações das dimensões lineares de partes do corpo, correlacionando tais dimensões com a idade gestacional (HAIBEL et al., 1989). As aplicações são especificamente clínicas, de manejo nutricional e econômico, além do emprego em pesquisas científicas (HAIBEL e PERKINS, 1989). Esta prática é usada principalmente em rebanhos comerciais, onde fêmeas são submetidas a manejo extensivo sem tratamento de sincronização do estro (SERGEEV et al., 1990).

A idade fetal pode ser determinada pela ultra-sonografia entre 40 e 100 dias de gestação através da mensuração da largura do crânio fetal ou diâmetro biparietal (DBP) (HAIBEL, 1988 E REICHLE E HAIBEL, 1991). Além desse diâmetro, outras mensurações são realizadas em fetos humanos com finalidade de predizer a idade gestacional, como exemplo pode-se citar o comprimento cabeça-nádega ou crânio-caudal (CCC) e o comprimento do fêmur (CF) (SAUERBREI et al., 1992).

A escolha da estrutura do corpo a ser mensurada depende da posição e orientação do feto em relação ao transdutor e também de sua idade gestacional (WHITE et al., 1989).

A idade gestacional de várias espécies pode ser determinada através da mensuração da vesícula embrionária, comprimento céfalo – caudal, diâmetro biparietal, comprimento do fêmur e

diâmetro do abdome (PIERSON e GINTHER, 1984;CURRAN et al. 1986; REICHLER e HAIBEL, 1991).

2.5.4. Estimativa da Idade e do Peso do Concepto através da Ultra-sonografia

A ultra-sonografia em tempo real permite acompanhar o crescimento fetal através de mensurações das dimensões lineares de partes do corpo, correlacionando tais dimensões com a idade gestacional, com o tamanho e até com o peso do feto ao nascimento. As aplicações podem ser tanto de ordem clínica quanto de manejo nutricional e de caráter econômico, bem como relativa a sua aplicação em pesquisa científica. Este procedimento deve ser adotado em rebanhos comerciais, nos quais as fêmeas são submetidas a manejo extensivo e sem tratamento de sincronização do estro devido à ultra-sonografia permitir o monitoramento do crescimento fetal em condições de campo (MESSIAS et al., 2004).

Em relação ao peso fetal, desde a década de 50, alguns estudos têm procurado demonstrar que era possível através dessa medida estimar a idade gestacional (ALEXANDER, 1964; EATON, 1952). Outros demonstraram que através de medidas anatômicas do corpo e do peso fetal era possível determinar a idade com precisão de, aproximadamente, dois a quatro dias (EATON, 1952).

A utilização do peso e do comprimento do concepto, como medida segura para estimar a idade, apresenta relatos contraditórios (SIVACHELVAN et al., 1996), provavelmente devido a fatores de ordem genética e ambiental. Deste modo, não se recomenda utilizar este tipo de parâmetro como critério seguro para determinação cronológica da idade dentro de limites estreitos e, até mesmo, dentro de uma raça, em particular.

O peso fetal, quando utilizado conjuntamente com outros parâmetros pode contribuir, de forma significativa, para avaliação do crescimento embrionário e fetal, entretanto, como qualquer

outro parâmetro, não pode e nem deve ser considerado, de forma isolada, como um dado fiel na determinação do desenvolvimento funcional, (MESSIAS 2002; SANTOS et al., 2004).

Muitas são as variações raciais para fazer o crescimento racial-específico tornar-se relevante (HAIBEL e PERKINS, 1989; REICHLE e HAIBEL, 1991). O peso fetal acumula nutrientes em uma quantidade que aumenta com a evolução da gestação. A oscilação do peso fetal em ovinos no início do desenvolvimento é pequena e geralmente e, na primeira metade da gestação, o ganho real é menor do que o esperado, deste modo, esta é a fase mais crítica para a sobrevivência do concepto, já que dois terços da mortalidade pré-natal acontecem antes do 25º dia da gestação (HAFEZ e DYER, 1972).

Em ovelhas submetidas a um regime alimentar deficiente com perda de 7% do seu peso corporal nos primeiros 90 dias de gestação não é verificada diminuição do peso fetal. Este fato mostra que o estado nutricional na ovelha nos primeiros meses de prenhez, geralmente não afeta o desenvolvimento fetal (WALLACE, 1948). Entretanto, quando a alimentação é deficiente no último terço da gestação, os cordeiros apresentam menor peso ao nascer, quando comparados com aqueles provenientes de fêmeas adequadamente alimentadas (ROBINSON, 1977). Nessas condições, a taxa de nascimento prematuro é maior do que naquela em que as crias são provenientes de fêmeas adequadamente alimentadas durante a gestação (HAFEZ e DYER, 1972).

As diferenças de peso ao nascimento geralmente ocorrem no último trimestre da gestação, em consequência do sexo e da quantidade fetal, bem como da raça (HAIBEL, 1990). Em caprinos, o peso fetal no 140º dia da gestação representa, respectivamente, 80,8 e 78% do peso total de fetos oriundos de partos simples e duplos, confirmando dessa maneira, o vigoroso desenvolvimento fetal nesse estágio gestacional (COSTA, 1996).

Quando se compara o peso fetal ao nascimento de raças distintas constata-se que os relatos são contraditórios. Ao se comparar raças fenotipicamente semelhantes e em condições de

manejo equivalentes, espera-se que estas diferenças em relação ao peso não sejam significativas. Cordeiros mestiços sempre diferiram em tamanho dos cordeiros puros e esta diferença é induzida pelo reprodutor, bem como determinada pelo tamanho da ovelha, deste modo, ovelhas maiores produziram cordeiros mais pesados (CLOETE, 1939). Do mesmo modo, é relatado que fetos resultantes de gestações múltiplas são em média, 25% menores do que aqueles nascidos de gestações simples (SILVA e ARAÚJO, 2001).

A base dos estudos sobre o monitoramento fetal consta da introdução da ultra-sonografia na obstetrícia humana. São registros da biometria anatômica fetal que procuram relacionar o tamanho e o peso fetal uterino com o peso real ao nascimento. Com advento da ultra-sonografia foi possível o domínio do conhecimento intra-uterino do estado fetal, por permitir acompanhar o desenvolvimento do embrião/feto e avaliar as divergências patológicas nos casos de insuficiência placentária, colaborando com estudos bioquímicos, enzimáticos, hormonais e outros não menos importantes (BONILLA-MUSOLES et al., 1983).

Modelos para monitorar o crescimento fetal na Medicina Humana, muitas vezes são apresentados utilizando-se curvas de regressão. Taxas de crescimento têm sido relatadas em alguns estudos da biometria fetal e nestes, o interesse principal é pela taxa de crescimento de medidas da cabeça, como a circunferência e o diâmetro biparietal. Estas medidas geralmente são estudadas tendo como prioridade avaliar idade fetal ou observar crescimento de cabeça anormal com ou sem retardamento do crescimento intra-uterino (GUIHARD-COSTA et al., 1991).

A avaliação do peso fetal através da ultra-sonografia é importante para o prognóstico de seu desenvolvimento intra-uterino, principalmente em casos de gestação prolongada em virtude de possibilitar uma possível intervenção no período perinatal (O'REILLY-GREEN e DIVON, 1999). A obtenção do peso em humanos através das fórmulas ultra-sonográficas é realizada com maior precisão quando são incluídas as medidas da cabeça, do abdômen, do fêmur (MESSIAS et

al., 2004). Quando estas variáveis estão disponíveis ao mesmo tempo, a estimativa do peso apresenta intervalo de confiança da ordem de 95%, diminuindo, proporcionalmente, à medida que as variáveis vão sendo reduzidas (BENSON & DOUBILET, 1999). Todavia, é possível obter com segurança estimativas para o peso fetal quando é utilizada apenas uma única medida, o que na Medicina Veterinária é de grande importância pelas próprias dificuldades inerentes a este tipo de exame (MESSIAS, 2002).

O diagnóstico precoce de alterações no desenvolvimento fetal na vida intra-uterina de modo não invasiva, faz da ultra-sonografia um recurso estratégico para intervenção no tratamento do retardo do peso fetal. Em humanos, diversas fórmulas são mencionadas para estimar o peso fetal, sendo considerado o estado nutricional da mãe, número de fetos e o período da gestação (MESSIAS et al., 2004). Todavia, a maioria destas fórmulas têm como características medidas ultra-sonográficas realizadas próximas ao parto. No caso de gestação múltipla, fórmulas específicas são sugeridas para uma estimativa mais segura do peso fetal (BENSON & DOUBILET, 1999).

De acordo com a literatura existente, a estimativa da idade gestacional utilizando o recurso da ultra-sonografia já é uma realidade na prática veterinária, entretanto, o mesmo não pode ser dito em relação à estimativa do peso para os pequenos ruminantes. Na Medicina Humana é um procedimento rotineiro acompanhar, pelo ultra-som, o desenvolvimento embrionário através da estimação da idade, do tamanho e do peso. Acredita-se que essa prática poderá tornar-se um importante aliado para o Médico Veterinário acompanhar a gestação em ovinos e caprinos auxiliando nas tomadas de decisões, principalmente nos casos de gestações múltiplas e retardo do crescimento embrionário/fetal. O comprimento corporal dos fetos ovinos e caprinos, aproximadamente no 60º dia de gestação é superior a 10 cm, deste modo, sua

mensuração com o transdutor de 5,0 MHz é impossibilitada (KÄHN, 1994; MESSIAS, 2002; SOUZA, 2000).

Existem grandes variações no tamanho dos conceptos durante a mesma fase de desenvolvimento que podem ser devidas à expressão de genes específicos (GAVIRIA e HERNANDES, 1994).

Embora haja autores que considerem a estimativa da idade fetal mera especulação (TRIGO, 2002), a ultra-sonografia permite correlacionar a idade gestacional aos aspectos morfológicos e eficiência reprodutiva, que podem sofrer alterações mediante tratamentos dietéticos especiais (KUSINA et al., 2001), farmacológicos (PANTER et al., 2000) ou de manejo (PREEZ et al., 2001).

Planos do exame ultra-sonográfico para sexagem fetal

A utilização de planos ultra-sonográficos na identificação do sexo fetal na Medicina Veterinária tem sido preconizada com êxito (CURRAN et al, 1989; MOURA, 1993; BARROS e VISINTIN, 2001).

A visualização do local relativo ao tubérculo genital depende do plano de apresentação do feto. Frequentemente existe dificuldade na identificação do tubérculo genital em seção sagital do feto. O plano transversal demonstra ser muito útil para uso na rotina porque a morfologia bilobar se distingue. Torna-se conveniente, para propósitos de orientação, localizar a cabeça e os batimentos cardíacos em princípio na seção transversal e então mover caudalmente o transdutor para obter imagens transversais subsequentes. A desvantagem principal na seção transversal é que a medida da distância entre o cordão umbilical e o tubérculo genital inviabiliza a localização do mesmo (CURRAN et al., 1989).

De acordo com Moura (1993), o plano longitudinal proveu as melhores imagens obtidas na experiência e localizava facilmente o tubérculo genital. Os fetos poderiam ser vistos em seu comprimento inteiro neste plano, mostrando o cordão umbilical e regiões perineais habilitando identificação e local do tubérculo genital. O cordão umbilical foi visto no plano transverso, sendo as seções realizadas na região ventral do feto, úteis para localizar o tubérculo genital e sexar fetos.

Barros e Visintin (2001) observaram em vacas que a apresentação do feto em plano longitudinal látero - lateral facilitou o diagnóstico do sexo, porque eles foram observados, em uma única imagem, os membros anteriores, o tórax, o cordão umbilical, os membros posteriores, a cauda e o tubérculo genital, visualizando em muitos casos a rafe ano-genital, bolsa escrotal nos machos e as mamas nas fêmeas. Neste tipo de imagem a noção exata do posicionamento do tubérculo genital é vista nos machos, mas nas fêmeas, o tubérculo apresenta-se junto às vértebras sacrais e coccígeas, dificultando o diagnóstico.

No plano transverso, a visão seccional do cordão umbilical parece ser o modo mais seguro para identificação do sexo. Porém, uma seção transversal do cordão umbilical à base do seu anexo para a região abdominal, onde podem ocasionar visualizações de áreas hiperecóticas próximas às veias umbilicais ou também alguma estrutura interna do corpo do feto na região do anexo umbilical podem ser confundidas com o tubérculo genital (MOURA, 1993).

O plano sagital raramente foi alcançado e parecia produzir resultados inconstantes nas fases precoces de migração do tubérculo genital. Devido ao reduzido tamanho da genitália externa nas fases precoces de desenvolvimento esta poderia ser perdida facilmente pela presença e movimento dos membros posteriores vistos nesta visão. O plano seccional transverso do feto ao nível da região umbilical ou caudal provou ser um plano útil e consistente para sexar. No macho, o tubérculo genital poderia ser visto próximo ao umbigo e também a apresentação longitudinal do

escroto, quando este já estava formado. Uma seção na região caudal também proporcionou um bom plano de visão para identificação do macho quando se visualizava o escroto já desenvolvido podendo ser visto dependente do abdômen entre os membros posteriores (MOURA, 1993).

3 REFERÊNCIAS

AHMAD, N.; NOAKES, D.E.; MIDDLETON, D.J. Use of ultrasound to diagnose testicular degeneration in a goat. **Veterinary Record**, v.132, n.17, p.436-439, 1993.

ALEXANDER, G. Studies on the placenta of the sheep (*Ovis aries* L.), effect of surgical reduction in the number of caruncles. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.7, p.307-322, 1964.

ANDREASEN, C.B.; HUBER, M.J.; MATTOON, J.S. Unilateral fibroepithelial hyperplasia of the mammary gland in a goat. **Journal American Veterinary Medical Association**, v.202, n.8, p.1279-1280, 1993.

ARDAENS, Y. et al., Contribution of ovarian and uterine color Doppler in medically assisted reproduction techniques (ART). **Gynécologie Obstétrique e Fertilité**, v.30, n.9, p.663-672, 2002.

AYRES, S.L. et al., Evaluation of follicular development and early pregnancy in goats using transvaginal ultrasound. In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON GOATS, 7th, 2000, Tours. **Proceedings. Tours: CCSI**, 2000. p.481.

ALVES, L.C.; NEVES, J.P.; LUZ, S.L.N. Aspectos do diagnóstico de gestação por ultrasonografia na ovelha. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL 9. 1991. Belo Horizonte. **Anais...** Belo Horizonte: CBRA, 1991^a. P.398.

AZEVEDO, A. et al., 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**, v.25, n.2, p.147-1148, 2001.

BANDEIRA, D.A., et al. Aspectos da caprino-ovinocultura no Brasil e seus reflexos produtivo e reprodutivo. In: SANTOS, M.H.B., OLIVEIRA, M.A.L., LIMA, P.F. **Diagnóstico de gestação na cabra e na ovelha**. São Paulo: Varela, 2004. Cap. 1. p.1-9.

BARBERA, A.; et al. Ultrasonographic assessment of fetal growth: Comparasion between human and ovine fetus. **American Journal of obstretic and Gynecology**, v.173, n.6,p.1765-1769,dec.1995.

BARRET, D.M.; et al.Ultrasound and endocrine evaluation of the ovarian response to PGF2 α given at different stages of the luteal phase in ewes. **Theriogenology**, v.58, n.7, p.1409-1424, 2002.

BARROS, B.J.P.; VISINTIN, J.A. Ultrasonic control of early pregnancies, embryonic and fetal mortalities and fetal sex in zebu cattle. **Brazilian Journal Veterinary Research Animal Science**, v.38, n.2, p. 74-79, 2001.

BICUDO, S.D. **O diagnóstico ultra-sonográfico de gestação em ovinos**. Capturado em 10 de agosto de 2003. Online. Disponível na Internet: <http://www.fmvz.unesp.br/ovinos/repman3.htm> .

BENSON, C.S.; DOUBILET, P. M. Medidas fetais- crescimento fetal normal e anormal. RUMACK, C.M.; WILSON, S.R.; CHARBONEAU J.W. **Tratado de Ultra-sonografia Diagnóstica**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1999, v.2, cap 1,p.859-874.

BINGHAM, C.M.; WILSON, P.R.; DAVIES, A.S. Real-time ultrasonography for pregnancy diagnosis and estimation of fetal age farmed red deer. **Veterinary Record**, v.3p. 102-106, feb. 1990.

BOYD, S.J.; OMRAN, S.N.; AYLIFFE, T.R. Use of a high frequency transducer with real time B-mode ultrasound scanning to identify early pregnancy in cows. **Veterinary Record**, v.2, p.8-11, july. 1988.

BOLLWEIN, H.; BAUMGARTNER, U.; STOLLA, R. Transrectal Doppler sonography of uterine blood flow in cows during pregnancy. **Theriogenology**, v.57, n.8, p.2053-2061, 2002a.

BOLLWEIN, H.; MAYER, R.; STOLLA, R. Transrectal Doppler sonography of uterine blood flow during early pregnancy in mares. **Theriogenology**, v.60, n.4, p.597-605, 2003.

BOLLWEIN, H. et al., Luteal blood flow during the estrous cycle in mares. **Theriogenology**, v.57, n.8, p.2043-2051, 2002b.

BOLLWEIN, H.; et al., Transrectal Doppler sonography of uterine blood flow. **Theriogenology**, v.53, n.8, p.1541-1552, 2000.

BOLLWEIN, H. et al., Uterine and ovarian blood flow during the estrous cycle in mares. **Theriogenology**, v.57, n.8, p.2129-2138, 2002c.

BONILLA-MUSOLES, F.; PELLICER, A.; PEREZ-GIL, M. et al. Crecimiento de los huesos largos e de los núcleos de ossificacion del feto, **O.G.L.A.** ,v.41,p.4-21,1983.

BRETZLAFF, K.N. et al., Ultrasonographic determination of pregnancy in small ruminants. **Veterinary Medicine**, v.88, p.12-24, 1993.

BUCKRELL, B.C. Application of ultrasonography in reproduction in sheep and goats. **Theriogenology**, v.29, p.71-84, 1988.

BUCKRELL, B.C.; BONNETT, B.N.; JOHNSON, W.H. The use of real-time ultrasound rectally for early pregnancy diagnosis in sheep. **Theriogenology**, v.25, p.665-73, 1986.

BÜRSTEL, D. **Untersuchungen zur intrauterinen Geschlechtsfeststellung bei Feten kleiner Wiederkäuer mittels Ultrasonographie.** Hannover, 2002. 142p. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) - Institut für Reproduktionsmedizin, Tierärztliche Hochschule Hannover.

BÜRSTEL, D.; MEINECKE-TILLMANN, S.; MEINECKE, B. Ultrasonographic determination of fetal sex in small ruminants. In: ANNUAL CONFERENCE OF THE EUROPEAN SOCIETY FOR DOMESTIC ANIMALS REPRODUCTION, 5th Vienna. 2001. Vienna. **Proceedings...** Vienna: **ESDAR Newsletter**, 2001. v.6, p.53-54.

BÜRSTEL, D.; MEINECKE-TILLMANN, S.; MEINECKE, B. Ultrasonographic diagnosis of fetal sex in small ruminants bearing multiple fetuses. **Veterinary Record**, v.151, n.21, p.635-636, 2002.

CALAMARI, C.V. et al., Acurácia da ultra-sonografia transretal para diagnóstico precoce de gestação em ovelhas. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.26, n.3, 258-259, 2002.

CAMPBELL, S.; BEWLEY, S.; COHEN-OVERBEEK, T. Investigation of the uteroplacental circulation by Doppler ultrasound. **Seminars in Perinatology**, v.11, n.4, p.362-368, 1987.

CATT, S.L et al., Birth of a male lamb derived from an in vitro matured oocyte fertilised by intracytoplasmic injection of a single presumptive male sperm. **Veterinary Record**, v.139, p.494-495, 1996.

CHALHOUB, M.; RIBEIRO FILHO, A. L. Diagnóstico de gestação em pequenos ruminantes por ultra-sonografia de tempo real. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, supl. 5, p.27-30, 2002.

CHALHOUB, M. **Aspectos ultra-sonográficos e aspecto hormonal da gestação ovina (*Ovis Aries*) nas raças Bergamácia e ideal.** Botucatu, 2000. 120p. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista.

CLOETE, J.H.L. Prenatal growth in the Merino sheep. **Onderstepoort Journal Veterinary Science Animal Indian**, v.13, p.417-557, 1939.

COSTA, R.G. **Exigências de minerais para cabras em gestação**. Jaboticabal, 1996.88p. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista.

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

CHRISTOPHER, R.B.; MERRIT, M.D. Física do ultra-som. In: RUMACK, C.M.; STEPHANIER, R.W.; CHARBONEAU, W.J. **Tratado de ultra-sonografia diagnóstica**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1998. p.3-29

CRAN, D.G. et al., Production of lambs by low dose intrauterine insemination with flow cytometrically sorted and unsorted semen. **Theriogenology**, v.42, p.267, 1997.

CURRAN , S.; PIERSON,R.A.; GINTHER, O.J. Ultrasonographic appearance of the bovine conceptus from days 10 through 20. **Journal American Veterinary Medicine Association**, New York, v. 189,n.10,p.1289-1294, November 1986.

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

CURRAN, S.; GINTHER O.J. Ultrasonic determination of fetal gender in horses and cattle under farm conditions. **Theriogenology**, v.36, p.809-814, 1991.

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.**, v.19, p.217-227, 1989.

DAVEY, C.G. An evaluation of pregnancy testing in sheep using a real-time ultrasound scanner. **Australian Veterinary Journal**, v. 63, n. 10, p. 347-8, 1986.

DICKEY, R.P. Doppler ultrasound investigation of uterine and ovarian blood flow in infertility and early pregnancy. **Human Reproduction Update**, v.3, n.5, p.467-503,1997.

DOIZÉ, F et al., Determination of gestational age in sheep and goats using transrectal ultrasonographic measurements of placentomes. **Theriogenology**, v.48, p.449-60, 1997.

DOMINGUES,E.; TREIN, E. Diagnóstico de gestação em ovinos através de ultra-sonografia. **A Hora Veterinária**, v.15, n.87, p.58-61, 1995.

DUGGAVATHI, R. et al., Use of high-resolution transrectal ultrasonography to assess changes in numbers of small ovarian antral follicles and their relationships to the emergence of follicular waves in cyclic ewes. **Theriogenology**, v.60, n.3, p.495-510, 2003.

EATON,O.N. Weight and length measurements of fetuses of karakul sheep and of goats. **Growth**, v.16,p.175-187, 1952.

EVANS, A.C. et al. Waves of follicle development during the estrous cycle in sheep. **Theriogenology**, v.53, n.3, p.699-715, 2000.

FERNANDES, T.P. **Características ultra-sonográficas em modo-B (tempo real) da gestação na cabra doméstica (*Capra hircus* Linnaeus, 1978)**. São Paulo, 1996. 96p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo.

FOWLER, D.G.; WILKINS, J.F. Diagnosis of pregnant and number of foetuses in sheep by real-time ultrasonic imaging. I. Effects of number of foetuses, stage of gestation, operator and breed of ewe on accuracy of diagnosis. **Livestock Production Science**, v.11, p.437-50, 1984.

FOWLER, D.G.; WILKINS, J.F. The identification of single and multiple bearing ewes by

ultrasonic imaging. In: AUSTRALIAN SOCIETY ANIMAL PRODUCTION, 13, 1980, Melbourne. **Proceedings...** Melbourne: ASAP, 1980.

FRANZ, S.; HOFMANN-PARISOT, M.; GUMPENBERGER, M. Sonography of the teat of cattle, sheep and goats in comparison with other methods of diagnostic imaging: a review. **Berliner und Munchener Tierarztliche Wochenschrift**, v.114, n.5-6, p.202-209, 2001.

GARCIA, E.A.C. Biofísica aplicada à ultra-sonografia. In: **Biofísica**. São Paulo: Sarvier, 1997, p.158-172.

GARCIA, A. et al., Accuracy of ultrasonography in early pregnancy diagnosis in the ewe. **Theriogenology**, v.39, p.847-61, 1993.

GARNER, D.L. Sex-sorting mammalian sperm: concept to application in animals. **Journal of Andrology**., v.22, p.519-526, 2001.

GAVIRIA, MT.; HERNANDEZ, A. Morphometry of irnplantation in sheep. Trophoblast attachment, modification of the lining, conceptus size and embryo location. **Theriogenology**, v. 41, p. 1139-1149, 1994.

GEARHART, M.A. et al., Real-time ultrasonography for determining pregnancy status and viable fetal numbers in ewes. **Theriogenology**, v.30, p.323-37, 1988.

GINTHER, O.J. Ultrasonic imaging and animal reproduction. In: **Cattle**. Wisconsin: Equiservices Publishing, 1998. p.196-205.

GREENWOOD, P.L.; SLEPETIS, R.M.; MCPHEE, M.J.; BELL, A.W. Prediction of stage of pregnancy in prolific sheep using ultrasound measurement of fetal bones. **Reproduction, Fertility and Development**, v.14, n.1-2, p.7-13, 2002.

GUIHARD-COSTA, A.M; DROULLÊ, P.; LARROCHE, J.C. Growth velocity of the biparietal diameter, abdominal transverse diameter and femur length in the fetal period. **Early**

Human Development, v.27,p.93-102, 1991.

GUDMUNDSSON, S.; MARSAL, K. Umbilical and uteroplacental blood flow velocity waveforms in pregnancies with fetal growth retardation. **European Journal of Obstetrics, Gynecology and Reproductive Biology**, v.27, n.3, p.187-196,1988.

GUTIERREZ-ADAN, A. et al., Ovine-specific Y-chromosome RAPD-SCAR marker for embryo sexing. **Animal Genetics.**, v.28, p.135-138, 1997.

HAFEZ, E.S.E.; HAFEZ, B. Reproductive cycles. In: **Reproduction in farm animals**. 7nd Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2000. p.55-67.

HAFEZ, E.S.E.; DYER, I.A. **Desarolo y nutricion animal**.Zaragoza: Acribia,1972, 472p.

HAIBEL, G.K. Use of ultrasonography in reproductive management of sheep and goat herds. **The Veterinary Clinics of North-America. Food Animal Practice**, v. 6, n. 3, p.597-613, 1990.

HAIBEL, G.K.; FUNG,E.D. Real-time ultrasonic biparietal diameter measurement for the prediction of gestation age in ilamas, **Theriogenology**, v.35,n.4,p.683-687, apr.1991.

HAIBEL, G.K.; PERKINS N.R. , Real-time ultrasonic biparietal diameter of second trimester Suffolk and finn sheep fetuses and prediction of gestation age, **Theriogenology**, v.32,n.5, p.863-69,1989.

HESSELINK, J.W.; TAVERNE, M. A. Ultrasonography of the uterus of the goat. **Vet. Q.**, v. 16, n.1, p.41-45, 1994.

ISHWAR, A.K. Pregancy diagnosis in sheep and goats: a review. **Small Ruminant Research**, v.17, n.4, p.37-44, 1995.

JANETT, F. Et al., Hydrosalpinx in a goat. **Schweizer Archiv fur Tierheilkunde.**, v.143,

n.2, p.105-108, 2001.

JOHNSON, L.A. Sexing mammalian sperm for production of offspring: the state-of-the-art. **Animal Reproduction Science**, v.60 - 61,p.93 - 107, 2000.

KÄHN, W. Atlas und Lehrbuch der Ultraschalldiagnostik. **Schlutersche Verlagsanstalt**, Hannover, 187 – 210, 1991.

KÄHN, W. **Veterinary reproductive ultrasonography**. London: Mosbywlf, 1994. 256p.

KÄHN, W. et al., Sonography during the pregnancy of sheep. I. Fetometry for the determination of the stage of gestation and prediction of the time of parturition. **Deutsche Tierärztliche Wochenschrift**, v. 99, n.11, p.449-452, 1992.

KASTELIC, J.P. et al., Ultrasonic evaluation of the bovine conceptus. **Theriogenology**, v.29, n.1, p.39-54, 1988.

KAULFUSS, K.H.; SÜß, R.; SCHENK, P. Die ultrasonographische Trächtigkeitsdiagnostik (B-Mode) beim Schaf. Teil 4: Ergebnisse einer Feldstudie. **Tierärztliche Praxis.**, v.27, p.74-82, 1999.

KAULFUSS, K.H. et al.. Die ultrasonographische Trächtigkeitsdiagnostik (B Mode) beim Schaf. Teil 1: Verlaufsuntersuchungen im ersten Trächtigkeitsmonat. **Tierärztliche Praxis.** , v.24 p.443-52, 1996.

KURTZ, A.B. et al. Analysis of biparietal diameter as an accurate indicator of gestation age. **Journal Clinical Ultrasound**, v.8,p.319-326, aug.1980.

KUSINA.N.T.; et al. Effect of diferent dietary energy leve! Intakes on efficiency of estrus synchronization and fertiifíy in Mashona goat does. **Small Ruminant Research.**, v.39, n. 3, p. 283-288,2001.

LÉGA, E.; TONIOLO, G. Hidrometra na espécie caprina. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.23, n.3, p.446-447, 1999.

LEVY, I.; EMERY, P.; MIALOT, J.P. Echographie et gestion des troupeaux ovins. **Recueil de Medecine Veterinaire**, v.166, p.751-64, 1990.

MARTINEZ, M.F.; BOSCH, P.; BOSCH, R. A. Determination of early pregnancy and embryonic growth in goats by transrectal ultrasound scanning. **Theriogenology**, v.49, n.8, p.1555-1565, 1998.

MENCHACA, A.; RUBIANES, E. Relation between progesterone concentrations during the early luteal phase and follicular dynamics in goats. **Theriogenology**, v.57, n.5, p.1411-1419, 2002.

MENCHACA, A.; PINCZAK, A.; RUBIANES, E. Follicular recruitment and ovulatory response to FSH treatment initiated on day 0 or day 3 postovulation in goats. **Theriogenology**, v.58, n.9, p.1713-1721, 2002.

MESSIAS, J.B. **Estimativa do peso fetal caprino (*Capra hircus* L., 1758) através de medidas obtidas por ultra-sonografia e paquímetro**. Recife, 2002. 67p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Departamento de Medicina Veterinária, Universidade Federal Rural de Pernambuco.

MESSIAS, J.B; Estimativa da idade e do peso embrionário e fetal através da ultra-sonografia. In: SANTOS M.H.B.; SOUZA, D. M.B MORAES, E.P.B.X **Diagnóstico de gestação na cabra e na ovelha**. São Paulo: Varela, 2004. p. 149-157.

MIALOT. J.P., LEVY, I., EMERY, P. Echographie et gestion des troupeaux caprins. **Rec. Med. Vet.**, v.168, p.399-406, 1991.

MOURA, R.T.D., **Ultrasonographic Studies on Early Bovine Pregnancy Diagnosis and Foetal Sexing**, Master thesis, Department of Veterinary Anatomy, University of Glasgow, 1993.

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

NAN, D.; VAN OORD, H.A.; TAVERNE, M.A.M. Determination of foetal gender in sheep by transabdominal ultrasonographic scanning. In: ANNUAL CONFERENCE OF THE EUROPEAN SOCIETY FOR DOMESTIC ANIMALS REPRODUCTION, 5th. 2001. Vienna. **Proceedings...** Vienna: **ESDAR Newsletter**, 2001. v.6, p.70.

NEVES, J.P. Diagnóstico de gestação por ultra-sonografia. **Ciência Rural**, v.21, n.3, p.457-465, 1991.

OLIVEIRA, M.A.L. et al., Aplicabilidade do Scan B na reprodução de pequenos ruminantes. In: SANTOS, M.H.B; OLIVEIRA, M.A.L; LIMA, P.F. **Diagnóstico de gestação na cabra e na ovelha**. São Paulo: Varela, 2004. p. 85-96.

OLSSON K. et al. A serial study of heart function during pregnancy, lactation and the dry period in dairy goats using echocardiography. **Experimental Physiology**, v.86, n.1, p.93-99, 2001.

O'RELLY-GREEN, C.P.; DIVON, M.Y. Receiver operating characteristic curves of ultrasonographic estimates of fetal weight for prediction of fetal growth restriction in prolonged pregnancies. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, v.181, n.11, p.1133-1138, 1999.

PANTER, K.E.; et al., Comparison of prostaglandin induction by Nicotiana glauca in goats and sheep. **Teratology**, v. 61, n. 3, p. 203-210, 2000.

PERRY, J.S. The mammalian fetal membranes. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.62, p.321-35, 1981.

PREEZ, E.R. et al. Out of season breeding of milk goats – the effect of light treatment, melatonin and breed. **Journal of South African, Veterinary Association**, v. 72, n. 4, p. 228-231, 2001.

PICAZO, R.A.. et al., Evolución de la imagen ecográfica durante la gestación de la oveja. **Medicine Veterinary**, v.8, p.300-317, 1991.

REICHENBACH, H.-D., et al., 2004. Sexagem fetal na cabra e na ovelha por ultrasonografia. In Santos, M.H.B., Oliveira, M.A.L., Lima, P.F. (Eds.) **Diagnóstico de gestação na cabra e na ovelha**. São Paulo, Brasil: Varela. p.117-136.

REICHLE, J.K.; HAIBEL, G.K. Ultrasonic biparietal diameter of second trimester pygmy goat fetuses. **Theriogenology**, v.35, n.4, p. 680-694, 1991.

RICHARDSON, C., HERBERT, C.N.; TERLECKI, S. Estimation of the development age of the ovine fetus and lamb. **Veterinary Record**, v.99,p.22-26, july. 1976.

RIESENBERG S.; MEINECKE-TILLMANN, S.; MEINECKE B. Ultrasonic survey of follicular development following superovulation with a single application of pFSH, eCG or hMG in goats. **Small Ruminant Research**, v.40, n.1, p.83-93, 2001.

ROBINSON, J.J. The influence of maternal nutrition on ovine foetal growth. **Proceedings of the Nutrition Society**, v.36, n.9, p. 9-17, 1977.

ROBERTS, S.J. Gestational period – Embryology, fetal membranes and placenta – teratology. In: ROBERTS, S.J. **Veterinary Obstetrics and Genital Diseases (Theriogenology)**. 3rd. Michigan: Edwards Brothers, 1986. p.38-91.

RUBIANES, E.; MENCHACA, A. The pattern and manipulation of ovarian follicular growth in goats. **Animal Reproduction Science**, v.78, n.3-4, p.271-287, 2003.

SAUERBREI, E.E., NGUYEN,K.T., NOLAN,R.L. **Ultrasonografia em ginecologia e obstetrícia (um guia prático)**. Porto Alegre, Artes Médicas, 1992. p.183-92.

SALLES, H.O. et al., Diagnóstico precoce de prenhez em caprinos através da ultrasonografia. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.21, N.2, p.19-20, 1997.

SANTIAGO MORENO, J. et al., Valoración de estadios precoces de gestación en oveja y cabra mediante ecografía transrectal. **Investigacion Agrária, Produccion y Sanidade Animal**, v.10, p.53-61, 1995.

SANTOS, M.H.B.; OLIVEIRA, M.A.L.; LIMA. P.F. In: **Diagnóstico de gestação na cabra e na ovelha**. 1 ed. São Paulo: Varrela, p.157, 2004.

SANTOS, M.H.B. Diagnóstico gestacional em pequenos ruminantes por ultra-sonografia de tempo real. In: **Relatório de estágio supervisionado**. Lavras: Universidade Federal de Lavras, 2003. p. 68-81.

SANTOS, M.H.B. **Principais métodos de diagnóstico de gestação em pequenos ruminantes domésticos**. Lavras, 2003b. 61p. Monografia (Curso de Medicina Veterinária) – Departamento de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Lavras.

SANTOS, M.H.B. et al., Punção folicular em bovinos guiada por ultra-som utilizando transdutores linear e micro-convexo endocavitário. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.27, n.3, p.465-466, 2003.

SCHEERBOOM, J.E.M.; TAVERNE, M.A.M. A study of the pregnant uterus of the ewe and goat using real-time ultrasound scanning and electromyography, **Veterinary Research Communications**, v.9, p.45-56, 1985.

SCHRICK, F.N.; INSKEEP, E.K. Determination of early pregnancy in ewes utilizing transretal ultrasonography. **Theriogenology**, v.40, p.295-306, 1993.

SCOTT, P.R.; GESSERT, M.E. Ultrasonographic examination of 12 ovine vaginal prolapses. **Veterinary Journal** 155, 323 – 324, 1998.

SCHNORR, B. Entwicklung der Organe: Entwicklung der Geschlechtsorgane. In: **Embryologie der Haustiere: Ein Kurzlehrbuch**. Stuttgart: Verlag Enke, 1989. p.165-180.

SERGEEV, L. et al., Real-time ultrasound imaging for predicting ovine fetal age. **Theriogenology**, v.34, p.593-601, 1990.

SILVA, F.L.R.; ARAÚJO, M.R.A. Características produtivas em caprinos mestiços, no estado do Ceará. In: REUNIÃO ANNUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 38.2001, Piracicaba: **Anais...**Piracicaba: SBZ, 2001.p.1544.

SOUZA, D.M.B. **Avaliação ultra-sonográfica do crescimento fetal em caprinos**. Recife, 2000. 54p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Departamento de Medicina Veterinária, Universidade Federal Rural de Pernambuco.

SOUZA, V.F.; et al. Desenvolvimento embrionário e fetal avaliado por ultrasonografia do 25º ao 60º dia de gestação em Nelore (*Bos taurus indicus*). **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v.21, n.2, p. 15-21, 1997.

SPRECHER, D.J. et al., Use of the partial farm budget technique to predict the economic impact to the flock management decision to use B-mode ultrasonographic pregnancy diagnosis. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v.195, p.199-204, 1989.

STROUD, B.K. Using ultrasonography to determine bovine fetal sex. **Veterinary Medicine**, v.91, p.663-672, 1996.

TAINTURIER, D. et al., Diagnostic de la gestation chez la brebis por échotomographie. **Revue de Medecine Veterinaire.**, v.134, p.523-6, 1983.

TAVERNE, M.A.M. et al., Accuracy of pregnancy diagnosis and prediction of foetal numbers in sheep with linear-real time ultrasound scanning. **The Veterinary Quarterly**, v. 7, p. 256-63, 1985

TENÓRIO FILHO, F. **Dinâmica folicular ovariana da cabra avaliada com ultra-som por vias transretal e transvaginal**. Recife, 2003. 62p. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Ciência Veterinária, Universidade Federal Rural de Pernambuco.

TRIGO, A. Ecografias em ovinos. [S.I.]: **Escola & Comunidade**, 2002. Disponível em <<http://mvw.ipb.p/old/esa/EscolaCom/Circuitos/ECO/Ecografias.html>>. Acesso em: 10 julho de 2003.

WALLACE, L. R. The growth of lambs before and after birth in relation to the level of nutrition . **Journal Agricultural Science**, v.38,p.17-302, july. 1948

WHITE, I.R.; RUSSEL, A.J.F.; FOWLER, D.J. Real-time ultrasonic scanning in the diagnosis of pregnancy and the determination of fetal numbers in sheep. **Veterinary Record**, v.115, p.140-3, 1984.

YAMAGA, Y.; TOO, K. Diagnostic ultrasound imaging in domestic animals: fundamental studies on abdominal organs and fetuses. **The Japanese Journal of Veterinary research**, v. 46, p. 203-12, 1984.

CAPÍTULO 1

**ULTRASOUND FETAL MEASUREMENT PARAMETERS FOR EARLY ESTIMATE
OF GESTATIONAL AGE AND BIRTH WEIGHT IN EWE.**

E.M.P. Azevedo, M.C. Rabelo, C.R. Aguiar Filho, F.Q. G. Bezerra, M.H.B. Santos, P.F. Lima, M.A.L. Oliveira.

Abstract

This study aimed at creating regression equations capable of predicting birth weight and gestational age, based on parameters of fetal measurement. We monitored 164 fetuses grouped according to breeds: 66 (27 males; 39 females) Dorper, 64 (8 males; 56 females) Morada Nova, and 34 (14 males e 20 females) Damara. Fetuses were examined on gestation days 30 and 45. We measured following parameters: crown-rump length (CCC), area of the fetus (AF), perimeter of the fetus (FP) and volume of the fetus (VF); area of the embryo vesicle (AV), perimeter of the embryo vesicle (PV) volume of the embryo vesicle (VV). One professional was responsible for ultrasound evaluation using a double frequency linear transducer (6.0 and 8.0 MHz). Gestational age was correlated ($P < 0.05$) with fetal and vesicle measurements. The fetal determination coefficient was always higher than the embryo vesicle coefficient, especially regarding the crown-rump length, which was more reliable. Based on the evaluated correlations, we generated multiple regression equations for each breed, which allowed us to estimate the date of delivery after each fetal and vesicle measurement carried out on the 30th and 45th day of pregnancy. We also created multiple regression equations for each breed, to estimate gestational age according to variables of the fetuses and of the embryo vesicle. Correlations used to estimate birth weight, were low or negative for days 30 and 45 of pregnancy.

Based on the results herein reported we conclude that ultrasound associated with specific linear regression equations, can be used to determine the gestational age of ewes.

Key-words: Ultrasound, Fetal Measurement, Ewe.

1. Introduction

Reproductive assessment plays an important role in production increase, because most reproductive failures are due to death during pregnancy or due to pregnancy expectation in females with false pregnancy (Smith et al., 1995). Therefore, an efficient method capable of diagnosing early pregnancy and maximizing the reproductive efficiency of the herd is of utmost importance (Santos, 2003).

In the case of small domestic ruminants, a number of methods for pregnancy diagnosis are reported in technical and scientific literature. (Ishwar, 1995; Freitas and Simplício, 2002; Santos, 2003). However, most methods do not allow for early pregnancy diagnosis, nor are they feasible, and some require handling by skilled professionals (Freitas and Simplício, 2002). The methods more used are: observation of estrous failure in post-breeding does, abdominal palpation, biopsy, vaginal smears and vaginal biopsies, laparoscopy, radiography, determination of serum protein and hormone levels, A-scan and B-scan ultrasound (Ishwar, 1995; Freitas and Simplício, 2002).

Since its introduction B-scan ultrasound has been used in large scale to monitor the reproductive status of goats and sheep. B-scan ultrasound examination is popular because it is easy to use, highly efficient in early pregnancy diagnosis, with the possibility of determining gender (Reichenbach et al., 2004; Santos et al., 2004a), and estimating fetal age and weight (Cloete, 1939; Wallace, 1948; Eaton, 1952; Evans & Sack, 1973; Richardson et al., 1976; Robinson, 1977; Robinson et al., 1977; Kadu & Kaikini, 1987; Mufti et al., 2000; Messias et al., 2004; Santos et al., 2004b), factors that are relevant for any type of breeding industry (Messias et al., 2004; Santos et al., 2004).

The position and orientation of the fetus in relation to the transducer, and the gestational age determine which structure of the body will be measured (White et al., 1989). Between 40 and 100 days of gestation ultrasound can be used to determine the fetal age based on crown-rump length and biparietal diameter (Haibel, 1988; Reichle and Haibel, 1991). In addition to these measurements, other ultrasonographic parameters such as, crown-rump length, or cranio-caudal length, and femur length are used to determine the fetal age in human medicine (Sauerbrei et al., 1992).

In view of the inexistence of reports using the crown-rump length (CCC), area of the fetus (AF), perimeter of the fetus (FP) and volume of the fetus (VF); area of the embryo vesicle (AV), perimeter of the embryo vesicle (PV) volume of the embryo vesicle (VV), our aim was to determine certain fetal ultrasound measurement parameters for early determination of fetal age and weight of ovine fetuses of the Dorper, Damara e Morada Nova breeds.

2. Material and Methods

This research was carried out at the “Estação Experimental de Pendência” of the “Empresa Estadual de Pesquisa Agropecuária da Paraíba (EMEPA-PB)” in the municipality of “Soledade” in the region of “Cariris Velho Paraibano” in the State of Paraíba, between April and June, 2005.

For the purpose of this study we monitored 164 fetuses of the following breeds: 66 (27 males; 39 females) Dorper, 64 (08 males; 56 females) Morada Nova, and 34 (14 males e 20 females) Damara. The 98 does were naturally breed and subjected to semi-intensive husbandry practices. In the stables they were fed balanced feed and Indian Fig *Oputia*¹ (*Opuntia ficus indica*), species of cactus and a long-domesticated crop plant important in agricultural economies throughout arid and semiarid parts of the world, on pasture they had access to native vegetation

of the caatinga (type of vegetation, and an ecoregion characterized by this vegetation in the northeastern part of Brazil), water and salt *ad libitum*.

One professional was responsible for ultrasound evaluation using the model 240 (Pie Medical) Ultrasound equipped with a linear transducer (6.0 and 8.0 MHz) adapted on a PVC support to facilitate handling of the animal's rectum, as suggested by Oliveira et al. (2004). Images were printed using a Seikosha PV/1200-Sony printer.

Fetuses were examined at 30 and 45 days of pregnancy. The following parameters were measured: crown-rump length (CCC), area of the fetus (AF), perimeter of the fetus (FP) and volume of the fetus (VF); area of the embryo vesicle (AV), perimeter of the embryo vesicle (PV) volume of the embryo vesicle (VV).

Data was evaluated by single and multiple linear regression and single and multiple linear correlation using the Minitab for windows version 11.1332

3. Results

Gestational age was correlated with ($P < 0.05$) fetal and vesicle measurements. The fetal determination coefficient was always higher than the embryo vesicle coefficient, especially regarding the crown-rump length, which was more reliable (Table 1).

Based on the assessment of correlations (Table 1), we created multiple regression equations for each breed. These equations allowed us to estimate gestational age according to variables of the fetuses (Table 2) and of the embryo vesicle (Table 3). Regarding the correlations used to estimate birth weight, the outcome was low (Table 4) or negative (Table 5) for days 30 and 45 of pregnancy.

Table 1 – Results of the correlations (R^2) between gestational age (IG) and fetal and vesicle measurements according to breed at 30 and 45 days of pregnancy.

Breed	Structures	R^2			
		Crown-rump length	Perimeter	Area	Volume
Dorper	Fetus	0.96	0.94	0.94	0.89
	Vesicle	-----	0.9	0.88	0.82
Morada Nova	Fetus	0.96	0.96	0.96	0.93
	Vesicle	-----	0.95	0.93	0.91
Dâmara	Fetus	0.94	0.95	0.91	0.85
	Vesicle	-----	0.92	0.92	0.85

Table 2 – Multiple Regression Equation of Gestational Age Estimated According to Fetus Variables at 30 and 45 days of pregnancy.

Breed	Variables	No. of Fetus	Regression Equation (\hat{Y})	R^2
Dorper	CCC/FP/AF/VF	66	$IG = 23.2 + 3.28 CCC + 0.715 FP + 2.40 AF + 0.489 VF$	0.94
Damara	CCC/FP/AF/VF	34	$IG = 18.1 + 2.71 CCC + 1.39 FP + 0.957 AF + 0.566 VF$	0.93
Morada Nova	CCC/FP/AF/VF	64	$IG = 24.8 + 3.02 CCC + 0.33 FP + 0.68 AF + 0.067 VF$	0.94

(CCC) crown-rump length; (FP) perimeter of the fetus; (AF) area of the fetus; (VF) volume of the fetus

Table 3 - Multiple Regression Equation of Gestational Age Estimated According to embryo vesicle variables at 30 and 45 days of pregnancy.

Breeds	Variables	No. of fetus	Regression equation (\hat{Y})	R^2
Dorper	PV/AV/VV	56	$IG = 21.1 + 0.655 PV + 1.46 AV + 0.250 VV$	0.82
Damara	PV/AV/VV	34	$IG = 22.5 + 0.542 PV + 1.58 AV + 0.147 VV$	0.87
Morada Nova	PV/AV/VV	64	$IG = 22.7 + 1.01 PV + 0.257 AV + 0.0380 VV$	0.91

(PV) perimeter of the embryo vesicle; (AV) area of the embryo vesicle; (VV) volume of the embryo vesicle .

Table 4 - Correlation results (R^2) between the structure dimensions of the fetus and weight of the kids when being born, in the studied races at 30 and 45 days of pregnancy.

Breeds	Fetus							
	R^2 - 30 days				R^2 - 45 days			
	CCC	FP	AF	VF	CCC	PF	AF	VF
Dorper	0,09	0,15	-0,13	-0,16	-0,40	-0,32	-0,21	-0,09
Morada Nova	0,44	0,38	0,24	0,27	-0,11	-0,15	-0,16	-0,10
Dâmara	-0,08	-0,13	-0,36	-0,35	-0,30	-0,45	-0,49	-0,54

(CCC) crown-rump length; (FP) perimeter of the fetus; (AF) area of the fetus; (VF) volume of the fetus.

Table 5 - Correlation Results (R^2) between the weight of the kids when being born and vesicle measurements according to each breed at 30 and 45 days of pregnancy.

Breeds	Vesicle embryo					
	R^2 - 30 days			R^2 - 45 days		
	PV	AV	VV	PV	AV	VV
Dorper	0,34	0,382	0,416	-0,382	-0,392	-0,329
Morada Nova	0,384	0,338	0,374	0,155	-0,016	-0,01
Dâmara	0,201	0,017	-0,087	0,118	0,039	0,178

(AV) Embryo vesicle area; (PV) Embryo vesicle perimeter; (VV) Embryo vesicle volume.

4. Discussion

A comparison of the results of this study with literature reports is difficult, due to the small amount of research with similar methodology and objectives carried out in small ruminants. Nevertheless, the quality of the images obtained with a linear allow for the identification and measurement of structures of the fetus and of the embryo vesicle.

In the beginning we expected the measurements to be effective for both the concept and the embryo vesicle, so that we could formulate an equation capable of determining gestational age and estimating birth weight. However, this hypothesis was not confirmed in relation to birth weight, probably due to the gestational period when the exams were performed and to the small number of repetitions.

Fetal growth is slower in the first third of pregnancy when compared to the last third (Costa, 1996). The difference in growth rate might hinder or impede the formulation of an equation that meets this objective, especially when measurements are made only on two occasions. Regarding the estimate of birth weight, a study in which more exams were performed (Blair, 1996) reports that the efficiency of fetal parameter measurements is higher in the last third of pregnancy. The data reported herein do not support a statement by Benson and Doublet

(1999), who claim that equation precision increases when more than one measurement of the fetus is included. Data reported herein, which include multiple correlations containing information on the fetus and on the embryo vesicle, have not shown statistic significance.

Our results show that it is possible to estimate gestational age based on fetal and embryo vesicle measurements. Yet, it is still interesting to point out that fetal measurements were more efficient in estimating the date of delivery, especially those of CCC. This is in accordance with reports by de Kähn (1992), Chalhoub et al., (1998), González de Bulnes et al (1998), Souza (2000) and Léga (2004). Despite the high correlation this measurement cannot be used after the first third of pregnancy, when the fetus is too large for CCC measurement. This is also in accordance with Kähn et al., 1989 and Schrick and Inskeep (1993).

As reported in previously mentioned studies (González de Bulnes et al., 1998), this study clearly showed that the association between the assessed parameters increases the degree of confidence of the equation formulated to determine gestational age. On the other hand, our results are contrary to data reported by Souza (2000) and Ramos et al. (2007), who claims that one measurement is enough to determine gestational age.

Based on these results we conclude that ultrasound and specific linear regression equations, are effective to determine gestation age of ewes, but are not reliable to estimate birth weight regardless of the breed.

5. References

BLAIR, E. Why do aboriginal newborns weigh less? Determinants of birthweight for gestation. *Journal Pediatric, Child Health*, v.32, n.6, p.498-503, 1996.

BENSON, C.S.; DOUBILET, P. M. Medidas fetais- crescimento fetal normal e anormal. RUMACK, C.M.; WILSON, S.R.; CHARBONEAU, J.W. *Tratado de Ultra-sonografia Diagnóstica*. 2.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1999.v.2, cap. 1, p.859-874.

CHALHOUB, M. et al. Correlação entre comprimento crânio-caudal e medidas fetais realizadas através da ultra-sonografia na espécie ovina. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 35, 1998. Botucatu. Anais... Botucatu: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 1998. CD-ROOM.

CLOETE, J.H.L. Prenatal growth in the Merino sheep. *Onderstepoort Journal Veterinary Science Animal Indian*, v.13, p.417-557, 1939.

COSTA, R.G. Exigências de minerais para cabras em gestação. Jaboticabal, 1996.88p. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista.

EATON, O. N. Weight and length measurements of fetuses of karakul sheep and of goats. *Growth*, v.16, p.175 -187, 1952.

EVANS, H.E.; SACK, W.O. Prenatal development of domestic and laboratory mammals: growth curves, external features and selected references. *Anatomy Histology and Embriology*, v.2, p.11-45, 1973

FREITAS, V.J.F., SIMPLÍCIO, A.A. Transferência de embriões em caprinos. In: GONÇALVES, P.B.D., FIGUEIREDO, J.R., FREITAS, V.J.F. *Biotécnicas aplicadas à reprodução animal*. São Paulo: Varela, 2002. Cap 9, p.179-194.

GONZÁLES de BULNES et al., Estimation of fetal development in Manchega dairy ewes by transrectal ultrasonographic measurements. *Small Ruminant Research*, v.27.p.243-50, 1998.

HAIBEL, G.K. Real-time ultrasonic fetal head measurement and gestacional age in dairy goat, *Theriogenology*, v.30, n.6,p.1053-57,1988.

ISHWAR, A.K. Pregancy diagnosis in sheep and goats: a review. *Small Ruminant Research*, v.17, n.4, p.37-44, 1995.

KADU, M. S.; KAIKINI, A.S. Prenatal development of caprine foetus. *Indian Journal Animal Science*, 57, n.9, p.962-969, sept.1987.

KÄHN, W. Sonographic fetometry in the bovine. *Theriogenology, Germany*, v.31, p.1105-1121, May 1989.

KÄHN, W. et al., Sonography during the pregnancy of sheep. I. Fetometry for the determination of the stage of gestation and prediction of the time of parturition. *Deutsche Tierärztliche Wochenschrift*, v. 99, n.11, p.449-452, 1992

LÉGA.E. Determinação da idade gestacional por meio das técnicas ultra-sonográficas de fetometria e morfologia fetal em cabras da raça saanen, a partir do 6º dia após o acasalamento. 81p (Doutorado em Cirurgia Veterinária) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2004.

MESSIAS, J.B., et al., 2004. Estimativa da idade e do peso embrionário e feotal através da ultrasonografia. In: Santos, M.H.B., Oliveira, M.A.L., Lima, P .F . (Eds.), *Diagnóstico de gestação na cabra e na ovelha*. São Paulo, Brazil: Varela. pp.149-157.

MUFTI, A. M. et al., Prenatal development of ovine fetus. *Small Ruminant Research*, v. 38, p.87-89, 2000.

OLIVEIRA, M.A.L. et al., Aplicabilidade do Scan B na reprodução de pequenos ruminantes. In: SANTOS, M.H.B; OLIVEIRA, M.A.L; LIMA, P.F. Diagnóstico de gestação na cabra e na ovelha. São Paulo: Varela, 2004. p. 85-96.

RAMOS, A.K.M.R. et al., 2007. Avaliação dos Parâmetros Ecográficos de Desenvolvimento Gestacional de Ovinos da Raça Santa Inês. *Ciência Animal Brasileira*.

REICHLE, J.K.; HAIBEL, G.K. Ultrasonic biparietal diameter of second trimester pygmy goat fetuses. *Theriogenology*, v.35, n.4, p. 680-694, 1991.

REICHENBACH, H.D., et al., 2004. Sexagem fetal na cabra e na ovelha por ultra-sonografia. In Santos, M.H.B., Oliveira, M.A.L., Lima, P. F. (Eds.) Diagnóstico de gestação na cabra e na ovelha. São Paulo, Brasil: Varela. p.117-136.

RICHARDSON, C., HERBERT, C. N.; TERLECKI, S. Estimation of the development age of the ovine fetus and lamb. *Veterinary Record*, v.99 pp.22-26, july. 1976.

ROBINSON, J. J. The influence of maternal nutrition on ovine foetal growth. *Proceedings of the Nutrition Society*, v.36, n.9, p. 9-17,1977.

ROBINSON, J. J. et al., Studies on reproduction in prolific ewes. I growth of the products of conception. *Journal of Agricultural Science*, v. 88, p.539-552, 1977.

SANTOS, M.H.B. Principais métodos de diagnóstico de gestação em pequenos ruminantes domésticos. Lavras, 2003. 61p. Monografia (Curso de Medicina Veterinária) – Departamento de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Lavras.

SANTOS, M.H.B., et al., 2004. Diagnóstico de gestação por ultra-sonografia de tempo real. In Santos, M.H.B., Oliveira, M.A.L., Lima, P. F. (Eds.) Diagnóstico de gestação na cabra e na ovelha. São Paulo, Brasil: Varela. p.97-116.

SANTOS, M.H.B., LIMA, P.F., MESSIAS, J.B., OLIVEIRA, M.A.L., 2004a. Medidas do conceito utilizadas na prática ultra-sonográfica de pequenos ruminantes. In: Santos, M.H.B., Oliveira, M.A.L., Lima, P.F. (Eds.), Diagnóstico de gestação na cabra e na ovelha. São Paulo, Brazil: Varela, p.117-136.

SANTOS, M.H.B., OLIVEIRA, M.A.L., LIMA, P.F., MORAES, E.P.B.X., CHALHOUB, M., BICUDO, S.D., 2004b. Diagnóstico de gestação por ultra-sonografia de tempo real. In: Santos M.H.B., Oliveira, M.A.L., Lima, P.F. (Eds.) Diagnóstico de gestação na cabra e na ovelha. São Paulo, Brazil: Varela, p.117-136.

SAUERBREI, E.E., NGUYEN, K.T., NOLAN, R.L. Ultrasonografia em ginecologia e obstetrícia (um guia prático). Porto Alegre, Artes Médicas, 1992. p.183-92.

SCHRICK, F. N.; INSKEEP, E.K. Determination of early pregnancy in ewes utilizing transretal ultrasonography. *Theriogenology*, v.40, p.295-306, 1993.

SMITH, E. J., et al. , Results of the Ulysses fast latitude scan: Magnetic field observations, *Geophys. Res. Lett.*, 22, 3325, 1995.

SOUZA, D.M.B. Avaliação ultra-sonográfica do crescimento fetal em caprinos. Recife,. 54p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Departamento de Medicina Veterinária, Universidade Federal Rural de Pernambuco, 2000.

WALLACE, L. R. The growth of lambs before and after birth in relation to the level of nutrition. *Journal Agricultural Science*, v.38, p.17-302, july. 1948

WHITE, I.R.; et al. Diagnosis of pregnancy and prediction of fetal age in red deer by real-time ultrasonic scanning. *Veterinary Records*, v.124, p.395-397, 1989.

CAPÍTULO 2

MIGRATION TIME OF THE GENITAL TUBERCLE OF GOAT AND OVINE FETUSES: COMPARISON BETWEEN RACE, SEX AND SPECIES

E.M.P. Azevedo, M.H.B. Santos, C.R. Aguiar Filho, F.Q.G. Bezerra, R.T.D. Moura,
J.P. Neves, P.F. Lima., M.A.L. Oliveira

Trabalho formatado para ser publicado na Revista *Animal Reproduction Science*

Migration time of the genital tubercle in goat and ovine fetuses: comparison between race, sex and species

E.M.P. Azevedo, M.H.B. Santos, C.R. Aguiar Filho, F.Q.G. Bezerra, R.T.D. Moura,
J.P. Neves, P.F. Lima, M.A.L. Oliveira

Abstract

This work aimed to determine the ideal moment to sex goat and sheep fetuses, to compare the average time of genital tubercle migration (GT) between sexes, breeds and species, and to evaluate the accuracy of fetal sexing between sexes. We monitored 317 fetuses of 219 pregnant females at 24-hour interval, from Days 30 to 60 of pregnancy in ewes, and from Days 40 to 60 in goats. Exams were performed with a transrectal ultrasound equipped with a linear transducer of double frequency. Fetuses were identified as male when the GT was next to the umbilical cord and female when the GT was next to the tail. The average time of GT migration in ewes (41.3 ± 3.1 days) was lower ($P < 0.05$) than in goats (47.2 ± 2.3 days). In goats, the average time of GT migration of Saanen fetuses was later ($P < 0.05$) than in fetuses of other breeds, with no difference in average time of GT migration between male (46.9 ± 2.2) and female fetuses (47.4 ± 2.4). In ewes, the average time of GT migration did not differ ($P > 0.05$) among breeds and sexes. In goat and sheep, no difference was noticed in the accuracy of fetal sexing between males and females ($P > 0.05$). The results show that fetal sexing in ewes is earlier than in goats, fetal sexing in Saanen goats must be performed later, and in both species fetal sex does not influence the time of GT migration.

Key- words: small ruminant, genital tubercle, vulva, nipples, prepuce, scrotal bag.

1. Introduction

Ultrasound is a technological resource used in different areas in Veterinary Medicine, with emphasis in the reproduction of small ruminant females (Chalhoub *et al.*, 2004; Santos *et al.* 2004).

Ultrasound pregnancy diagnosis contributes to improve the reproductive handling of herds, allowing for the commercialization of females that did not conceive in the last mating station, and the separation of females with simple and multiple pregnancies into specific feeding programs (White *et al.*, 1984; Davey, 1986). Furthermore, ultrasound enables sexing of fetuses, when scanning is performed in an adequate period of pregnancy (Santos *et al.*, 2005a/2006ab).

The ultrasound pregnancy diagnosis and fetal sexing in small ruminants is not a routine in all continents (Reichenbach *et al.* 2004). This use of ultrasound was first reported in Uruguay by Coubrough and Castell (1998) and later in Germany by Bürstel *et al.* (2001/2002) and Nann *et al.* (2001). In Brazil, studies by Santos *et al.* (2005ab), Santos *et al.* (2006ab) and Santos *et al.* (2007abcdefg) focused on fetal sexing and determined the time of migration of the genital tubercle (GT) and the ideal moment to perform fetal sexing in some goat and sheep breeds.

The northeast region of Brazil holds 54% of the national herd of sheep and 94% of the herd of goats (Martins and Wander, 2005). It is important to encourage the use of ultrasound for fetal sexing in small ruminants and to emphasize that the commercialization of animals with sexed fetuses is economically viable. With this in mind, this work aimed to determine the ideal moment for sexing goat and sheep fetuses, comparing the average period of GT migration between sexes, breeds and species, as well as evaluating the accuracy of fetal sexing between sexes.

2. Material and Methods

We monitored 317 fetuses of sheep (Morada Nova = 26, Santa Inês = 26, Dorper = 22, Damara = 18), between Days 30 and 60 of pregnancy, and goat (Moxotó = 86, Boer = 58, Anglo-nubian = 22, Saanen = 34, American Alpine = 25), from Days 40 to 60 of pregnancy, at 24-hour intervals.

Females, were submitted to controlled routine of natural matting, and matted only once. The day of matting is considered the first day of pregnancy (Day 0).

All ultrasound examinations were performed by the same investigator with animals restrained in a chute in standing position. Briefly, the rectum of each animal was digitally evacuated before the start of each examination and whenever necessary during examination. Ultrasonic coupling gel was applied to the transducer before insertion into the rectum. After fetal location the scanning technique was defined, as used by Bürstel (2002).

Ultrasound scanning was carried out with a device (240 Parus - Medical Pie) equipped with a linear transducer (6.0 and 8.0 MHz) adapted on a PVC support to facilitate the manipulation in the rectum of the animal, as suggested by Oliveira *et al.* (2004). A printer was also part of the ultrasound equipment.

Fetal sex was defined on the basis of the final position of the GT: male when GT was next to the umbilical cord and female when the GT was next to the tail. For confirmation of the sex of the newborn at the calving moment, all females were transferred to individual pens in the last week of pregnancy.

The differences between averages were calculated by the Analysis of Variance and the test of Turkey. The accuracy of fetal sexing was calculated by the Chi-Square test with a 5 % level of significance.

3. Results

Genital Tubercle migration of goat and ewe fetuses occurred in a 15-day, interval: Days 40 to 55 of pregnancy in goats, and Days 36 to 51 in ewes. The average time of migration of the GT in sheep (41.3 ± 3.1 days) was shorter ($P < 0.05$) than in goats (47.2 ± 2.3 days).

In goats, we noticed that the average time of GT migration in Saanen fetuses was later ($P < 0.05$) than in fetuses of other breeds (Figure 1). No difference ($P > 0.05$) was observed in the average time of GT migration among male (46.9 ± 2.2) and female (47.4 ± 2.4) fetuses. However, the comparison of sex among breeds revealed that in male Saanen fetuses, migration of the GT occurred earlier ($P < 0.05$) than in female fetuses (Figure 2).

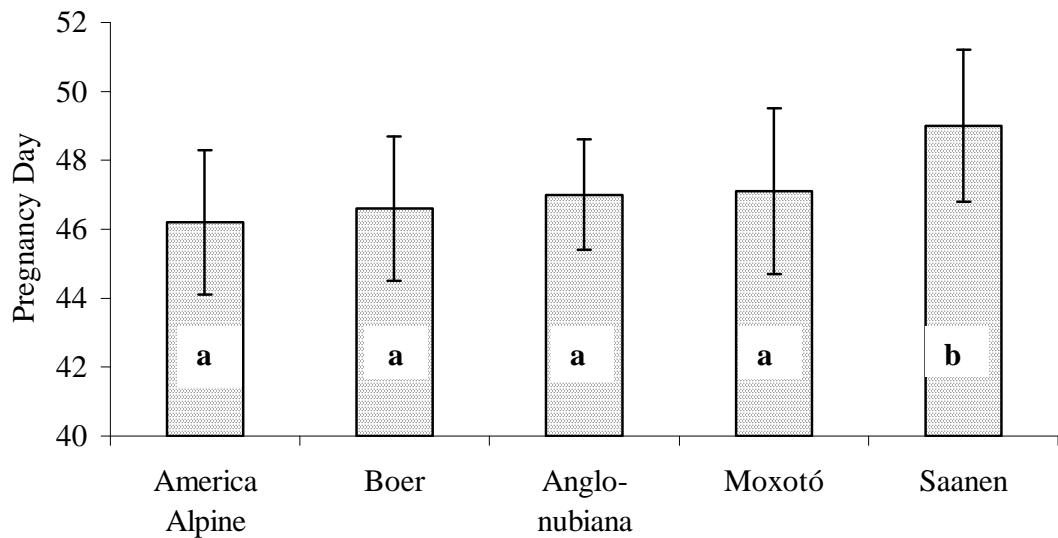


Figure 1 - Day of fetal sexing in different breeds of goats. Different letters between the columns mean differences ($P < 0.05$).

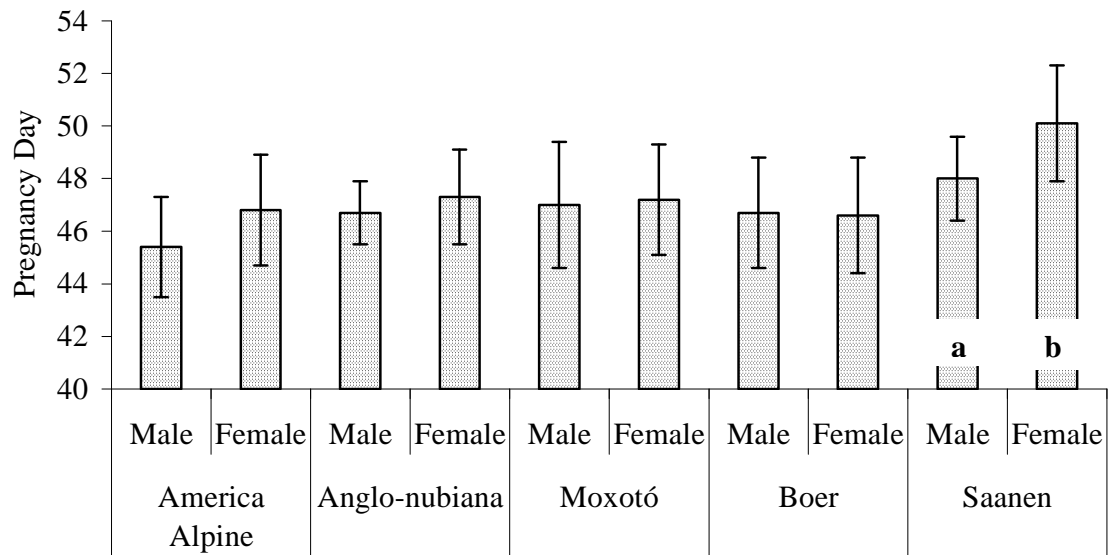


Figure 2 - Day of fetal sexing of both the sexes in different goat breeds. Different letter between the columns mean differences ($P < 0.05$).

In sheep fetuses, the average time of GT migration did not differ ($P > 0.05$) among breeds (Figure 3) and sex (Figure 4). The isolated data of each sex in each breed are illustrated in Figure 4.

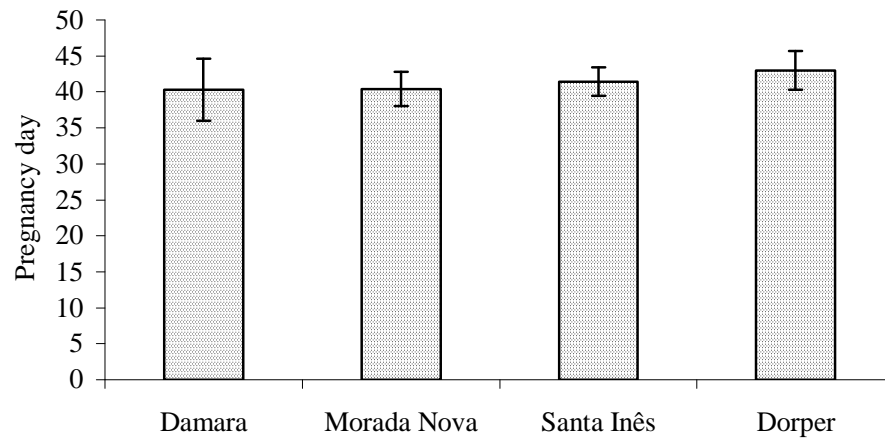


Figure 3 - Day of fetal sexing in different ovine breeds. No difference ($P > 0.05$) was observed between breeds. No difference ($P > 0.05$) was observed between sexes of breeds.

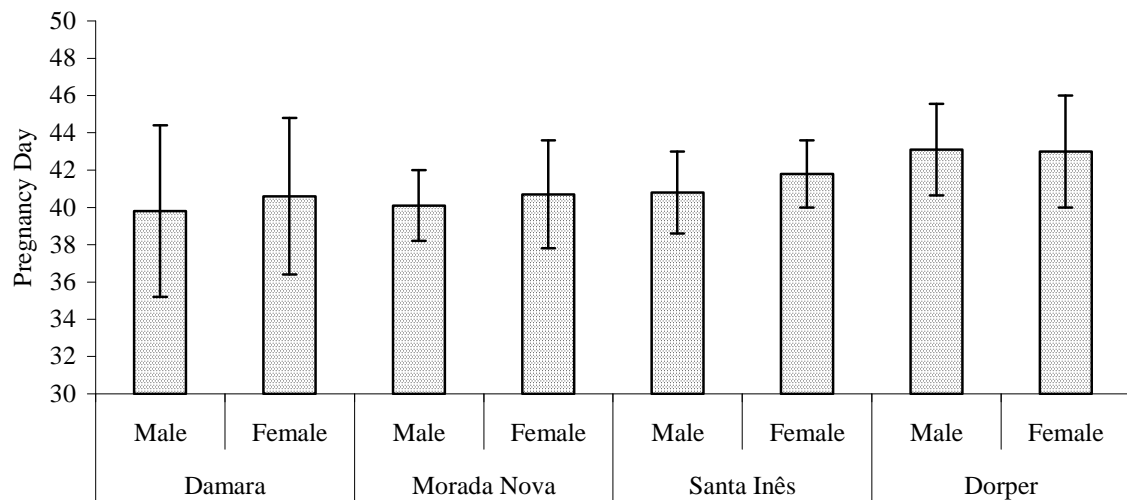


Figure 4 - Sexing Day of the fetuses in both sexes in different breeds of ovine. No difference ($P > 0.05$) was observed between sexes of breeds.

The accuracy of fetal sexing in goat and sheep did not differ ($P > 0.05$) between male and female (Tables 1 and 2).

Table 1 - Accuracy of fetal sexing diagnosis through daily ultrasound scanning in ovine females with pregnancy between Days 30 to 60.

Sex	Sexed Fetuses		Non sexed fetuses				Born Fetuses n	Diagnosis Accuracy n/n' (%)
	Simple Pregnancy n	Multiple Pregnancy n	Fetuses not Quantified		Genital Tubercle not Visualized			
			Single Pregnancy n	Multiple Pregnancy	Simple Pregnancy	Multiple Pregnancy		
Male	20	20	-	2	-	-	42	40/42 (95.2)
Female	27	22	-	2	-	3	54	49/54 (90.7)
Total	47	42	-	4	-	3	96	89/96 (92.7)

($P < 0.05$) for comparison between sexes.

Table 2 - Accuracy of fetal sex diagnosis through daily examinations with ultrasound in females of the goat species with gestation between 40 and 60 days.

Sex	Sexed Fetuses		Non sexed fetuses				Born Fetuses n	Diagnosis Accuracy n/n' (%)
	Single Pregnancy n	Multiple Pregnancy n	Fetuses not Quantified		Genital Tubercle not Visualized			
			Single Pregnancy n	Multiple Pregnancy	Single Pregnancy	Multiple Pregnancy		
Male	53	55	-	2	-	3	113	108/113 (95.6)
Female	55	55	-	5	-	4	119	110/119 (92.4)
Total	108	110	-	7	-	7	232	218/232 (94.0)

4. Discussion

With this work was established that the GT migration in caprine and ovine occurs approximately in a 15 days interval, as well as that the fetuses of ovine can be sexed earlier than caprine, because the GT migration initiates and finishes, at least, with four days of antecedence. Previous works conducted with ovine of Santa Inês breed (Santos et al., 2006a), Dorper (Santos et al., 2007a), Damara (Santos et al., 2007e) and Morada Nova (Santos et al., 2007f) and with caprines of Anglo-Nubian (Santos et al., 2005a), Boer (Santos et al., 2006b), Saanen (Santos et al., 2007c) and American Alpine (Santos et al., 2007f) breeds evidenced data that endorse the considerations here mentioned.

The authors suggestion above mentioned about sexing ovine fetuses from the Day 50 of pregnancy and in caprine from Day 55 must be considered, because it limits or even though it eliminates the inaccurate diagnose, especially in male fetus sexed as female. Although this kind of mistake has not been committed in this work, it is necessary to attempt for the exceptions, in which the fetuses GT migration occurs in a delayed form, being possible to be observed in twin pregnancy with fetuses of the same sex, as reported by Santos et al. (2007f).

The breed effect on fetal sexing precocities, based on the final GT position verified in goats was determined by Saanen fetuses, especially in those diagnosed as female. The same result was reported by Santos et al (2005f), evidencing that the GT of American Alpine fetuses had their migration anticipated to the Saanen breed. In bovines, Curran et al. (1989) observed that the GT of female fetus migrates before the male, because the migration distance covered by the structure is shorter in female, however, in this work was evident that the GT migration occurs earlier in males or it does not influence, as verified in other goats and ewes breeds. It is interesting to emphasize that due to tail proximity; the operator has more difficulty in diagnosing

the sex of fetus female, owing to the difficulty in determining the final position of the GT by visualization of a hyperechoic point on the monitor screen. The GT in both specie and both sexes was visualized only as echogenic point, as mentioned by Coubrough and Castell (1998) and not as a bilobular structure reported in bovines by Muller and Wittkoski (1986) and in equines by Curran and Ginther (1991).

It was showed that the accuracy of sexing is not modified by the fetus sex when the diagnosis is based only on the visualization of the GT and when serial scannings are carried out. When sexing is carried out by searching any structure of the external genitalia, seems to be more accurate in males, owing to a major number of anatomical structures used for this purpose (Santos et al. 2005a), comments that corroborate with reports of other authors, as Davey (1986), Kähn et al., (1994) and Kaulfuss et al., (1996), which had previously described about the importance of the visualization of other anatomical structure gifts in male that facilitate the diagnosis of the fetal sex. Still on the same subject, it is interesting to report that although the tail and the umbilical cord, in some cases, are located between the posterior members and hind the visualization of the GT, vulva and nipples in female, in males still the GT and the prepuce will exist to be adequately visualized. This commentary is opportune for being, according to Bürstel (2002), a common fact in the routine of fetal sexing, especially in the ovine, which possesses an enough long tail to provoke these upheavals.

The results lead to conclude that fetal sexing in ovine is earlier possible than in caprine, that in caprine the fetal sexing must be carried out later in Saanen breed, and that in both specie the sex do not influence the GT migration time.

5. References

- Bürstel, D. 2002. Untersuchungen zur intrauterinen Geschlechtsfeststellung bei Feten kleiner Wiederkäuer mittels Ultrasonographie. 2002. 142f. Dissertation (Doctor Medicinae Veterinariae) - Institut für Reproduktionsmedizin, Tierärztliche Hochschule Hannover.
- Bürstel, D., Meinecke-Tillmann S, Meinecke B. 2001. Ultrasonographic determination of fetal sex in small ruminants. Proceeding 5 Annual Conference of the European. Society for Domestic Animal Reproduction. 6: 53-54.
- Bürstel, D., Meinecke-Tillmann S, Meinecke B. 2002. Ultrasonographic diagnosis of fetal sex in small ruminants bearing multiple fetuses. *Veterinary Record*, 151: 635-636.
- Chalhoub, M., Santos, M.H.B., Oliveira, M.A.L., Bartolomeu, C.C. 2004. Características do ultra-son Scan B. In: Santos, M.H.B; Oliveira, M.A.L; LIMA, P.F. Diagnóstico de gestação na cabra e na ovelha. São Paulo: Varela. p. 73-84.
- Curran, S.; Kastelic, J.P.; Ginther, O.J., 1989. Determining sex of the bovine fetus by ultrasonic assessment of the relative location of the genital tubercle. *Animal Reproduction Science*, 19: 217-227.
- Curran, S.; Ginther O.J., 1991. Ultrasonic determination of fetal gender in horses and cattle under farm conditions. *Theriogenology*, 36: 809-814.
- Davey, C.G. 1986. An evaluation of pregnancy testing in sheep using a real-time ultrasound scanner. *Australian Veterinary Journal*, 63: 347-8.
- Kähn, W. 1994. *Veterinary reproductive ultrasonography*. London: Mosbywlf. 256p

- Kaulfuss, K.H., Uhlich, K., Brabant, S., Blume, K., Strittmatter, K. 1996. Die ultrasonographische Trächtigkeitsdiagnostik (B Mode) beim Schaf. Teil 1: Verlaufsuntersuchungen im ersten Trächtigkeitsmonat. *Tierärztliche Praxis*, v.24 p.443-52.
- Martins, E.C., Wander, A.E. 2005. A origem e os conceitos relacionados ao agronegócio. In: Campos, ACN (Ed.) *Do campus para o campo: Tecnologias para produção de ovinos e caprinos*. Fortaleza, Brasil: Gráfica Nacional. pp.11-19.
- Muller, E., Wittkoski, G. Visualization of male and female characteristics of bovine fetuses by real-time ultrasonics. *Theriogenology*, 22: 571-574.
- Nan, D., Van Oord, H.A., Taverne, M.A.M. 2001. Determination of foetal gender in sheep by transabdominal ultrasonographic scanning. 5th Annual Conference of the European Society for Domestic Animal Reproduction, Vienna, ESDAR Newsletter, v.6, p.70.
- Oliveira, M.A.L., Reichenbach, H.-D. Santos, M.H.B., Tenório Filho, F. 2004. Aplicabilidade do scan B na reprodução de pequenos ruminantes. In Santos, M.H.B., Oliveira, M.A.L., Lima PF (Eds.) *Diagnóstico de gestação na cabra e na ovelha*. São Paulo, Brasil: Varela. pp.85-96.
- Reichenbach, H.-D., Santos, M.H.B., Oliveira, M.A.L., Meinecke-Tillmann, S., Bürstel, D.-M. 2004. Sexagem fetal na cabra e na ovelha por ultra-sonografia. In Santos, M.H.B., Oliveira, M.A.L., Lima, P.F. (Eds.) *Diagnóstico de gestação na cabra e na ovelha*. São Paulo, Brasil: Varela. pp.117-136.
- Santos, M.H.B., Chiamenti, A., Aguiar Filho, C.R., Moraes, E.P.B.X., Cavalcanti Neto, C.C., Lima, P.F., Oliveira, M.A.L. 2005a. Utilização da ultra-sonografia na sexagem de fetos da raça Anglo-nubiana pela identificação do tubérculo genital e da genitália externa. *Veterinária e Zootecnia*, v. 12, n.1/2, p.1-112.

- Santos, M.H.B., Gonzalez, C.I.M. Bezerra, F.Q.G., Neves, J.P., Reichenbach,. H.D., Lima PF, Oliveira MAL. 2007a. Sexing of Dorper sheep derived from mating and embryo transfer by ultrasonography. *Reproduction, Fertility and Development*, 19: 366-369.
- Santos, M.H.B., Moraes, E.P.B.X., Aguiar Filho, C.R., Chaves, R.M., Neves, J.P.; Lima, P.F., Oliveira, M.A.L. 2007b. Fetal sexing by ultrasonography identifying the genital tubercle or external genitalia of American Alpine goats. *Ciência Animal Brasileira* (in press).
- Santos M.H.B., Moraes, E.P.B.X., Aguiar Filho, C.R., Moura R.T.D., Paula-Lopes, F.F. Neves, J.P. Lima P.F., Oliveira, M.A.L. 2007c. Early fetal sexing of goats by use of transrectal ultrasonography to identify the genital tubercle and external genitalia. *American Journal of Veterinary Research*, 69: p.1-4.
- Santos M.H.B., Moraes, E.P.B.X., Aguiar Filho, C.R., Paula-Lopes, F.F., Reichenbach,. H.D., Neves, J.P. Lima P.F., Oliveira, M.A.L. 2007d. Accuracy of early fetal sex determination by ultrasonic assessment in goats. *Research in Veterinary Science* (in press).
- Santos, M.H.B., Moraes, E.P.B.X., Chiamenti, A., Rocha, J.M., Paula, N.R.O., Lima, P.F., Oliveira, M.A.L. 2007e. Determination of the genital tubercle migration period to early sexing sheep fetuses of Damara, Saint Ines and 3/4 crossbred Damara-Saint Ines. *Ciência Animal Brasileira*, 8: p.11-117.
- Santos MHB, Moraes EPBX, Guido, S.I., Bezerra, F.Q.G., Lima PF, Oliveira MAL.. 2005b. Identification of fetal sex in uterus of goats and ewes by ultrasonography. *Ciência Veterinária nos Trópicos*, 8: p.68-73.
- Santos, M.H.B., Moraes, E.P.B.X., Guido, S.I., Bezerra, F.Q.G.B., Lima, P.F., Oliveira, M.A.L. 2006a. Fetal sexing in Santa Inês ewes by ultrasonography. *Ciência Rural*, 36: 573-578.

Santos, M.H.B., Moura, R.T.D., Chaves, R.M., Soares, A.T., Neves, J.P., Reichenbach, H.D., Lima PF, Oliveira MAL. 2006b. Early fetal sexing of Boer goat by transrectal ultrasonography. *Animal Reproduction*, 3: 371-375.

Santos, M.H.B., Oliveira, M.A.L., Lima, P.F., Moraes E.P.B.X., Chalhoub. M., Bicudo, S.D. 2004. Diagnóstico de gestação por ultra-sonografia de tempo real. In Santos, M.H.B., Oliveira, M.A.L., Lima, P.F. (Eds.) *Diagnóstico de gestação na cabra e na ovelha*. São Paulo, Brasil: Varela. p.97-116.

Santos, M.H.B., Rabelo, M.C., Guido, S.I., Lopes Junior, E.S. Freitas, V.J., Lima, P.F., Oliveira, M.A.L. 2007. Determination of the genital tubercle migration in Morada Nova sheep fetuses by ultrasonography. *Reproduction in Domestic Animals*, 42: 214-217.

White IR, Russel AJF, Fowler DJ. Real-time ultrasonic scanning in the diagnosis of pregnancy and determination of fetal numbers in sheep. *Veterinary Record*, 115: 140-143, 1984.

CAPÍTULO 3

ULTRASONOGRAFIC SCAN PLANES FOR SEXING OVINE AND CAPRINE FETUSES

E.M.P. Azevedo, R.T.D Moura,, C.R. Aguiar Filho, F.Q. G. Bezerra, M.H.B. Santos, P.F. Lima, M.A.L. Oliveira.

Trabalho formatado para ser publicado na Revista *Veterinary Radiology and Ultrasound*

Abstract

The present study emerged from the diagnostic difficulties found during the ultrasonographic examinations for fetal sexing, concerning to the different images obtained in the visualization of fetal structures. This work aimed to describe anatomic planes obtained in ultrasonographic images to locate and identify the genital tubercle, umbilical cord, prepuce, scrotal bag, nipples and vulva for sexing embryos in goats and ewes. The 280 embryos from 219 females were monitored at 24-hours interval, being examined goats between Days 40 and 60 and ewes on Days 30 to 60 of pregnancy, with an ultrasound equipped with linear transducer (6.0 and 8.0 MHz), by transretal via. The same technician executed all the examinations with the animal in station position. Among the reached planes, the ventral longitudinal plane was considered the most suitable for sexing goat and ovine fetuses (52.86%), once it enables getting images of the initial period of genital tubercle migration, besides the visualization of other structures as umbilical cord, nipples, mammary gland and scrotal bag.

Keys-Words: genital tubercle, scrotal bag, prepuce, nipples, vulva

Introduction

The raising of small ruminants in Brazil has increased in recent years due to the introduction of exotic specie by importation of animals, semen and embryo with high genetic value, especially in the Northeastern region where the concentration of these animals are the highest in Brazil (IBGE, 2002).

Early fetal sex identification is of important value in the animal breeding industry. There are several methods for sexing embryos and fetuses and the methods give high accurate results at a very early stage of development of the embryo (Moura, 1993). Thus, the determination of the exact day of genital tubercle migration is still one of the main challenges of fetal sexing in small ruminants (Santos et al., 2006a). The first study on fetal sex identification in sheep was performed by Coughbrough and Castell (1998) and later by Bürstel et al. (2001/2002), Nan et al. (2001) and Andrade et al. (2004). However, only after Santos et al. (2005b/2006b) reports was possible to sex sheep and goat fetuses taking into consideration the final position of the genital tubercle.

Identification of fetal sex in uterus is useful when combined with a management decision that justifies the expense of fetal sexing (Santos et al., 2005c). The development of integrated reproductive management systems that combine ultrasound with new and existing reproductive technologies will further increase the practical applications of ultrasonography (Reichenbach et al., 2004; Santos et al., 2004). The genital tubercle (GT) is the embryonic structure that differentiates into the penis in males and into the clitoris in females. During differentiation, the GT moves from its initial position between the hind limbs toward the umbilical cord in males and toward the tail in females (Noden and De Lahunta, 1985).

Ultrasonography for sexing goats and ewes fetuses is extremely efficient and a practical technique under farm conditions and it is a promising method that can allow goat and ewe breeders to plan in advance the future use of the kids which are yet to be born (Santos et al. 2005b). The fetal sexing allows the commercialization of pregnant animals carrying fetuses of a known gender (Reichenbach et al., 2004), however, the diffusion of this technique, especially under field conditions, depends on the accuracy of the method, since factors such as multiple pregnancy and number and frequency of examinations can lead to a false diagnosis (Bürstel, 2002; Oliveira et al., 2005).

Determination of the relative location of the genital tubercle is dependent upon the plane of view of the fetus, being often difficult to identify the genital tubercle with sagittal sections of the fetus (Moura, 1993). Cross sectional views appeared to be most useful for routine use, because the bilobed morphology is distinct and it is convenient, for orientation purposes, to first locate the head and beating heart in cross section and then to move the transducer caudally across the fetus to obtain sequential cross-sectional views (Moura, 1993). The main disadvantage of cross sectional viewing is the measurement of the distance from umbilical cord to the genital tubercle (Curran et al., 1989). Still according to these authors, frontal view sometimes seems helpful in determining relative location and measuring distance between structures, but it is difficult to get an adequate frontal plane and determination of orientation of the plane view is often difficult. Location score was used instead of measurements, due to difficulties in viewing the genital tubercle in sagittal plane and the inconsistency in obtaining frontal plane (Curran et al., 1989).

Some scanning planes in different sections (levels) can be used in fetal sexing. The fetus can be positioned facing the transducer in lateral, dorsal, cranial or ventral position in each

scanning plane (Moura, 1993). According to this author, the scanning planes used for this purpose are Longitudinal or Dorsal, Sagittal or Median and Transverse or Cross sectional Planes.

In cows, the appearance of the fetus in longitudinal plane at the section lateral make easy the diagnosis of the sex, because there were observed, in a single image, the previous members, thorax, umbilical cord, hind limbs, tail and genital tubercle, visualizing in many cases the anogenital raphe and the scrotal bag in males and the nipples in females (Barros and Visintin, 2001). According these authors, this image shows the exact view of the positioning of the genital tubercle in males, but in females the genital tubercle comes close to the sacred and coccyges vertebrae, hindering longitudinal plane diagnostic. In the longitudinal back-ventral plane it is possible a wide vision of the fetus, this simplifies the diagnosis in males and females, which show the genital tubercle right below the tail. The transverse plane makes thorny diagnosis in males and females. The fetus landmarks is extended and complicated, because they need to be visualized in several planes to determine the positioning of the tubercle, being more difficult in females, due to the presence, at the same plane, of the sacred, ischium and coccyges vertebrae (Barros and Visintin, 2001).

Using a 6.0 and 8.0 MHz transrectal transducer for sex identification of caprine and ovine fetuses under field conditions; goats were examined between Days 40 to 60 and ewes on Days 30 to 60 of pregnancy. Considering the inexistence of studies in this subject in small ruminants, the present study was undertaken to describe the ultrasonographic planes used to sex fetuses in goats and ewes, as well as to point out the ideal plane to locate and identify the genital tubercle, prepuce, scrotal bag, nipples, mammary gland and vulva.

Material and Methods

The 280 fetuses of the 219 pregnant females monitored at intervals of 24 hours were examined between Days 40 to 60 of pregnancy in goats and Days 30 to 60 in ewes.

Transrectal ultrasound was carried out with a 240 Parus (Pie Medical) apparatus equipped with a linear transducer (6.0 and 8.0 MHz), that was adapted to a PVC support to facilitate manipulation into the animal's rectum, as suggested by Oliveira et al. (2004). Pictures obtained by ultrasonography were printed using a Sony printer (Seikosha VP/1200). The same technician performed all examinations with the animal in a standing position.

The determination of the plane of view had to be carefully carried out before the location of the fetus gender be evaluated. It was convenient to first look for fetal landmarks for orientation purposes and also detailed observation of other embryonic structures with ultrasonographic appearance similar to that of the genital tubercle. Therefore, if the ultrasonographer attempted to hurry the examination, misinterpretations could be made.

At the end of each scanning section, all printed images were assessed for a detailed analysis and confirmation of the obtained planes of view. In this experiment many different scanning planes were achieved and than described.

The longitudinal or dorsal plane view could be obtained by holding the transducer lateral, cranial or caudal to the fetal body; allowing the sound beam to pass through the fetus in a dorsal plane. This plane was achieved in three sections at different regions of the fetus body: close to the dorsum, at the midway level of the trunk and at the ventral portion of the abdomen.

The sagittal plane was achieved by holding the transducer dorsal, ventral, cranial or caudal to the fetal body, allowing the sound beam to pass through the fetus in sagittal plane. The sections of this plane were achieved leaving the sound bean pass exactly in the middle of the fetus body or moving the transducer slightly to the right or to the left side.

The transverse plane was achieved by holding the transducer dorsal, lateral or ventral to the fetal body, permitting the sound beam to pass through the fetus in transverse plane. This plane could be visualized in three sections achieved between the umbilicus and tail: caudal, inguinal and umbilical sections. Locating the umbilicus was helpful for the use of this technique. After finding the umbilical cord, which was usually imaged in longitudinal plane, on reaching the level of the attachment of the umbilical cord to the abdomen (umbilicus), the transducer was slowly moved to obtain a cross section of the umbilicus. The sample of this work allowed to quantifie the scanning planes during the ultrasonographic exams, obtaining thus a percentage to indicate de most frequent plane.

Oblique Plane was obtained by holding the transducer angled toward the sides of the fetus. Sections in this plane could be obtained at the extreme caudal region, ventral abdominal wall, perineal region, inguinal region and others. This plane was frequently seen as a deviation of one of the planes previously explained. There were some sections in the oblique plane imaged in this work that may lead to errors in the identification of the structures of the fetus:

-Oblique section close to the transverse plane, at the extreme caudal region of the fetus, was achieved by holding the transducer at an oblique angle to the fetal body, as a deviation of the transverse plane at the extreme caudal region of the fetus;

-Oblique section close to the transverse plane, at the region caudal to the umbilicus, was obtained by holding the transducer at an oblique angle to the fetal body, at the region between the umbilicus and the hind limbs;

-Oblique section close to the transverse plane, at the level of the umbilicus, the transducer was placed at an oblique angle to the lateral region of the fetus, at the level of the umbilicus.

-Oblique section close to the dorsal plane, at the level of the proximal region of the hind limbs, resembled the oblique section close to the transverse plane at the level of the umbilicus and also at the region caudal to the umbilicus in males.

3 Results

Some of the smaller goats and ewes presented great problems with scanning, due to the narrowness of the rectum; and some were of poor temperament, leading to prolonged scanning.

There were many structures which could be ultrasonographically confused with the genital tubercle, due to a similar bilobar hyperechoic appearance. Locating fetal landmarks such as umbilical cord, heart beating and head was essential for orientation purposes.

With positive male diagnosis, a bilobar hyperechoic structure appeared near or in close proximity to the umbilicus, depending on the gestational age (Figure 1). Whereas for a positive female diagnosis, this structure was absent on scanning this region (Figure 2).

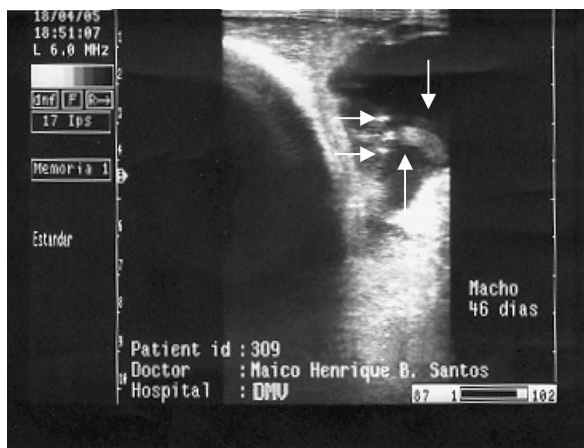


Figure 1: Longitudinal plane at the extreme ventral region of the fetus. Ovine male fetus on Day 46, exhibiting a hyperechoic image of the genital tubercle (↑) located caudally to the umbilicus (↓), showing the hind limbs (→).

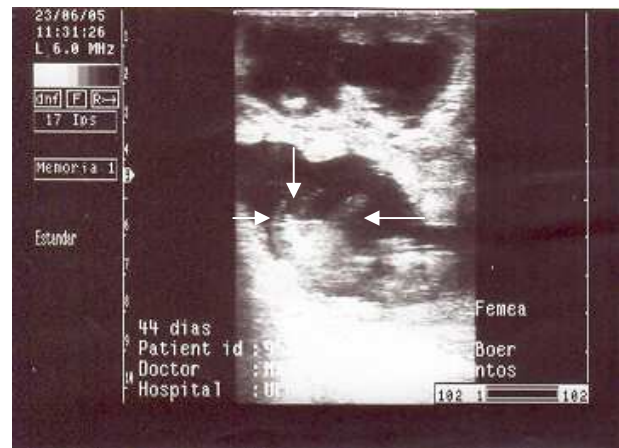


Figure 2: Sagittal plane of a caprine female fetus on Day 44 of pregnancy, showing hyperechoic image of the genital tubercle (↓) located near the tail (→), visualize the umbilical cord (←).

During the scannings it could be observed that in the same period of pregnancy some diagnoses were easier to achieve than others, even with fetus of the same sex. The images framed were also similar in some scannings and different in others. Evaluating these obtained images, at the moment of the scanning and later looking at the frames, could be observed that the anatomical planes of viewing of the fetuses varied according to the position of it to the sound beam that passed through its body. In fact, the way the fetus faced the transducer could give similar structure images for sexing both female and male fetuses, what was determined by the scanning plane obtained at the moment of the exam.

To image the relevant structures identifiable with the different genders within the fetal body, the longitudinal plane section should be situated more ventral than dorsal to the fetus body (Figure 3); otherwise, the hyperechoic structures used for deciding genders of the fetus could be confused with ribs, pelvic bones and even the umbilical region could probably not be imaged, preventing early sex identification of the fetus. For both sexes, the genital tubercle and external genitalia were easily imaged in longitudinal view. This was a very reliable plane and also commonly achieved during the examinations.

Scanning in longitudinal plane at the level of the dorsum, did not enable visualization of the gender in early stage of differentiation of the gonad, once the genital tubercle is situated ventrally, between the hind limbs. In older females, the external genitalia could be visualized. The section of this plane at the level of the proximal region of the limbs (medial region of the abdomen), allowed the identification and location of the external genitalia in female, as well as the migrating genital tubercle. Rarely, this view provided visualization of the ventral portion of the rib cage, making difficult the identification of the genital tubercle at the abdomen, in the male fetus. This section usually exhibited the tail vertebrae in cross or longitudinal plane and the cross section of the limbs. A section at the extreme ventral region of the fetus showed the limbs, the tail

and umbilicus in cross section; the latter could also be present in longitudinal view. Usually, the prepuce could be observed next to the umbilicus. Occasionally, the head could be visualized. In older female fetuses, the mammary gland could be observed (Figure 4).



Figure 3: Longitudinal plane at the extreme ventral region of a caprine male fetus on Day 55, visualizing the prepuce (←) and the hind limbs (→).



Figure 4: Longitudinal plane at the extreme ventral region of a caprine female fetus on Day 60 visualizing the nipples (↓) between the hind limbs (↑), with the umbilical cord (→) cranial.

A section of the transverse plane at the extreme caudal region was also observed. This view could show the entire hind limbs or only parts of it. The scrotum, when present, was usually seen in longitudinal plane (Figure 5). In this view, a cross section of the vertebrae column could be visualized directly opposite to the scrotum. The mammary gland could be seen in older female fetuses also in cross section (Figure 6). In the ovine species, the tail could be seen in cross section at the level of its insertion with the fetal body, resembling the ultrasonographic appearance of the genital tubercle. Sometimes the tail could be seen in longitudinal plane, running distal to the body preventing visualization of the fetal genitalia in this species. The umbilicus was usually not present in this image, but occasionally could be seen in both cross section and longitudinal plane.



Figure 5: Longitudinal plane at the extreme ventral region of the caprine male fetus on Day 60; exhibits the scrotum (←) between the hind limbs (↓).

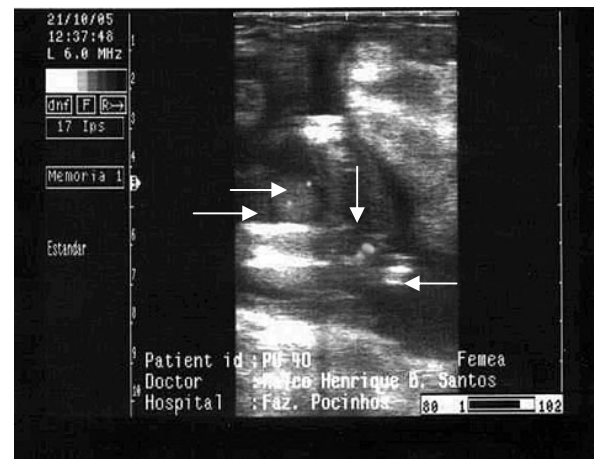


Figure 6: Transverse plane at the perineal region, observe the image hyperechoic of the nipples (→) between the hind limbs, showing the vulva (↓) and the tail (←).

This plane with a section between the umbilicus and the hind limbs (inguinal) provided visualization of the scrotum in longitudinal plane, when this was present. Occasionally, female fetuses that had the genitalia already resembling that of the adult could be framed (Figure 7) and the prepuce could be imaged close to the longitudinal view of the umbilical cord (Figure 8).



Figure 7: Transverse plane of a caprine female fetus on Day 60, visualize an image hyperechoic of the vulva (↓) near to tail (←).

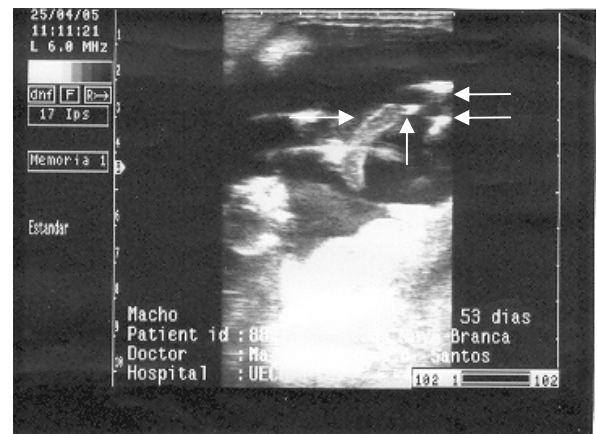


Figure 8: Longitudinal plane of caprine male fetus on Day 53, showing an image hyperechoic of the prepuce (↓) caudally to the umbilical cord (→), the hind limbs are visualized (←).

Part of the ventral region of the animal could also be seen, but the umbilicus was not visible. It was clearly noticed that the hind limbs were cranially imaged. In the male fetus, the genital tubercle could be seen as a hyperechoic structure at the ventral region of the abdomen.

When the scrotum was present, it could be visualized in a longitudinal plane pendent from the abdomen, between the hind limbs, or in cross section at the same region (Figure 9).

The section of the transverse plane at the level of the umbilicus showed the genital tubercle, seen as a hyperechoic round structure at the ventral wall of the abdomen, near or in close proximity to the umbilicus. The umbilical cord could be imaged in longitudinal plane in this section when running perpendicular to the ventral abdominal wall of the fetus. A cross section of the umbilical cord was the most reliable way to achieve a diagnosis. Both the prepuce and scrotum were usually present in the same image, however, the former was difficult to discern. To image the prepuce and scrotum, the section had to reach a larger portion of the ventral abdominal region and extend caudally.

The Sagittal plane of the fetus was rarely obtained. This plane was not consistent in early stages of differentiation of the gonad, since the migration of the genital tubercle could be at its initial stage and ultrasonographic visualization was difficult. The position of the hind limbs could occasionally prevent location of the genital tubercle in early stages of differentiation, and at times the hind limb bones could be confused as the tubercle. In an after stage of migration of the organs differentiation of gender, the sex could be easily discerned by location of the external genitalia under the tail or close to the umbilicus, for female and male respectively. At stages in which the scrotum was already present, this could be missed when one of the hind legs was on the near plane of the image, leaving the scrotum in the background of the frame. When imaged in this plane, the umbilical cord was always seen in longitudinal view. At figure number 10 is observed a female in this plane identifying showing the vulva close to the tail, however the visualization of the nipples was difficult because the hind limbs position.



Figure 9: Transverse plane at the level of umbilical cord of a caprine male fetus on Day 60, with the scrotum (→) between the hind limbs (↓); visualize the insert of the umbilical cord (←) on the abdomen.



Figure 10: Sagittal plane of an ovine female fetus on Day 60, observed an image hyperechoic of the vulva (←) near to the tail (↓).

Considering a total of 280 embryos and based on the number of visualized scanning planes was obtained a percentage of achieved planes. The total number of sagittal plane was 48 (17.5%), the transverse plane was 83 (29.7%) and the longitudinal plane achieved 148 (52.86%).

Discussion

In this work the ultrasonographic identification and location of the genital tubercle and fetal external genitalia in early gestational stage allowed identification of the sex. Same results were previously obtained by Coubrough and Castell (1998), Bürstell et al. (2001), Bürstell et al. (2002), Nan et al. (2001), Andrade et al. (2004), Santos et al. (2005a/2006ab/2007abcdef).

The genital tubercle is the embryonic structure present in both male and female that differentiates into the penis and clitoris in male and female fetuses respectively (Noden and De La Hunta, 1985). During the process of differentiation, the genital tubercle migrates from its initial position, between the hind limbs, towards the umbilicus in males and towards the tail in

females. The genital tubercle was ultrasonographically seen as a hyperechoic structure usually presenting a bilobar appearance, corroborating with Inomata et al. (1982).

Determination of the relative location of the genital tubercle was dependent upon the plane of scanning. Visualization and location of the gender of the fetus was possible through sagittal, longitudinal and transversal (cross section) planes in goats and ewes fetuses, according to Bürstel (2002), and in bovine, also adding the oblique plane, according to Moura (1993). Corroborating with this authors, the number of samples obtained in this work suggested a wide variety of planes of view of the fetus, which was helpful in locating and identifying the fetus sex.

In this work it was observed difference in the ultrasonographic appearance of the genital tubercle on different days of early stages of its differentiation and also in the plane that it was imaged, what is in agreement with Moura (1993).

The visualization of fetal structures, in both genders, was observed in all the described planes and their sections. However, some planes difficulty the visualization of those structures because the position of the body, hind limbs and umbilical cord of the fetus, as mentioned by Moura (1993).

The sagittal plane permitted an easy identification of the prepuce and vulva in older fetuses, corroborating with Moura (1993) results. This plane, however, was rarely achieved and seemed to produce inconstant results in the early stages of migration of the gender. Owing to the small size of the external genitalia at early stages of development, it could be easily missed by the presence and movement of the hind limbs seen in this view, as previously reported by Curran et al. (1989) and Moura (1993).

In this work, the transverse plane of the fetus at the level of the umbilical region (umbilical section) or caudal to it (inguinal section) proved to be a consistent useful plane of view for sexing. In the male, the genital tubercle could be seen close to the umbilicus and also the

longitudinal presentation of the scrotum, when this was already formed. A section at the extreme caudal region (extreme caudal section) gave a good view for identification of the genital tubercle or external genitalia in females, and also the scrotal bag when it was already developed, corroborating with Curran et al. (1989) and Moura (1993).

Transverse plane appeared to be most useful for routine use, because the bilobed morphology is distinct, and it was convenient, for orientation purposes, to first locate the head and beating heart in cross section and then to move the transducer caudally across the fetus, to obtain sequential transverse plane sections, according to Moura (1993); however, Barros and Visintin (2001) relate that the transverse plane makes thorny diagnosis in males and females, because fetus landmarks need to be visualized in several planes to determine the positioning of the tubercle, being more difficult in females, due to the presence, at the same plane, of the sacred, ischium and coccyges vertebrae. In this research work, the transverse plane showed to be one of the most reliable planes of view, depending on the period of gender differentiation and the section scanned.

According to Moura (1993) and Barros and Visintin (2001), the longitudinal plane provided the best images and gave an easy location of the gender. In this work the fetus could be imaged in its entire length in this plane, showing the umbilical and perineal regions, enabling identification and location of the genital tubercle and other structures of the external genitalia, besides important landmarks as umbilical cord, tail and hind limbs.

According to Barros and Visintin (2001), in cows the appearance of the fetus in longitudinal plane at the section lateral make easy the diagnosis of the sex, because there were observed, in a single image, the previous members, thorax, umbilical cord, hind limbs, tail and genital tubercle, visualizing in many cases the anogenital raphe and the scrotal bag in males and the nipples in females, what was also observed in the specie used in this work.

Still according to these authors, this image shows the exact view of the positioning of the genital tubercle in males, but in females the genital tubercle comes close to the sacral and coccyges vertebrae, hindering longitudinal plane diagnostic. In the longitudinal back-ventral plane it is possible a wide vision of the fetus, this simplifies the diagnosis in males and females, which show the genital tubercle right below the tail. In this research work in small ruminants, it was observed some similarity in certain scanning planes mentioned by the above mentioned authors, but our work defined sections differently of those cited by them, what turn difficult to compare some planes of view.

The oblique plane was usually obtained as a deviation of the dorsal and transverse planes and presented difficulties to properly locating the genital tubercle and external genitalia in these specie. Always partially showing the fetus and also seemingly to show the fetus as if it was reduced, several oblique sections gave rise a doubt to correctly identify the sex of the fetus. Some images obtained showed the genital tubercle in close proximity to the umbilicus and the presumptive genital swellings between the hind limbs, distant of the genital tubercle. The distance between the structures would not match with the gross morphological findings of the external genitalia at this age, as reported in Moura (1993).

The cross section view of the umbilical cord appeared to be the most reliable way for diagnosis, as mentioned by Curran et al. (1989) and Moura (1993). However, in this work, a cross section of the umbilical cord, at the base of its attachment to the abdominal region, occasionally exhibited hyperechoic areas which could be mistaken with the genital tubercle. These areas of hyperechogenicity may be referred to the wall of the umbilical veins or also some internal structure of the fetal body close to the region of the umbilical attachment, corroborating with Moura (1993).

Conclusion

The scanning planes defined were the longitudinal/dorsal plane, with extreme dorsal section, abdominal section and ventral section; the sagittal/medium plane (17.5%), with medium section, right section and left section; the transverse/cross sectional plane (29.7%) with extreme caudal section, inguinal section and umbilical section; and the oblique plane as a deviation of all mentioned planes and their sections.

The longitudinal plane (52.86%) represents the most suitable plane to sex male and female caprine and ovine fetuses at any stage of development of the gender, once the moving of the transducer to get the different sections in this plane was easily achieved and the visualization of the entire fetus abdomen and caudal region was possible, enabling identification of the fetus sex structures and landmarks and also the measurement of distance among them.

References

- Andrade, J.C.O.; Guido, S.I.; Sousa, B.P.A. 2004. Sexagem fetal em ovinos. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.32, p.185.
- Barros, B.J.P.; Visintin, J.A. 2001. Ultrasonic control of early pregnancies, embryonic and fetal mortalities and fetal sex in zebu cattle. **Brazilian Journal Veterinary Research Animal Science**, v.38, n.2, 74-79.
- Bürstel, D., S. Meinecke-tillmann U. B. Meinecke, B. 2001. Ultrasonographic determination of fetal sex in small ruminants. 5th Annual Conference of the Europ. Soc. for Domestic Anim. Reprod., Vienna, Sept. 13 - 15, 53 - 54 (abstr.) (ESDAR Newsletter 6).
- Bürstel, D. Untersuchungen zur intrauterinen Geschlechtsfeststellung bei Feten kleiner Wiederkäuer mittels Ultrasonographie. Hannover, 2002. 142p. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) - Institut für Reproduktionsmedizin, Tierärztliche Hochschule Hannover.

- Bürstel, D., Meinecke-tillmann, S., Meinecke, B. 2002. Ultrasonographic diagnosis of fetal sex in small ruminants bearing multiple fetuses. *Vet. Rec.*, 151, 635-636.
- Coughbrough, C.A.; Castell, M.C. 1998. Fetal sex determination by ultrasonically locating the genital tubercle in ewes. *Theriogenology*, v.50, n.2, 263-267.
- Curran, S.; Kastelic, J.P.; Ginther, O.J. 1989. Determining sex of the bovine fetus by ultrasonic assessment of the relative location of the genital tubercle. *Animal Reproduction Science*, v.19, 217-227.
- IBGE, 2002. Anuário Estatístico do Brasil, Rio de Janeiro, 58, 3-54.
- Inomata, T. et al. 1982. Development of the external genitalia in bovine fetuses, *Japanese Journal of Veterinary Science* 44, 489 - 496.
- Moura, R.T.D. Ultrasonographic Studies on Early Bovine Pregnancy Diagnosis and Foetal Sexing 1993, Thesis (Master in Science), Department of Veterinary Anatomy, University of Glasgow.
- Nan, D., Van Oord, H.A., Taverne, M.A.M. 2001. Determination of foetal gender in sheep by transabdominal ultrasonographic scanning. 5th Annual Conference of the European Society for Domestic Animal Reproduction, Vienna, *ESDAR Newsletter*, v.6, p.70.
- Noden, D.M.; De Lahunta, A. 1985. The embryology of domestic animals. Developmental mechanisms and malformations. Williams and Wilkins, Baltimore, 330 – 342.
- Oliveira, M.A.L. et al., Aplicabilidade do Scan B na reprodução de pequenos ruminantes. In: Santos, M.H.B; Oliveira, M.A.L; Lima, P.F. Diagnóstico de gestação na cabra e na ovelha. São Paulo: Varela, 2004. p. 85.

- Oliveira, M.A.L.; Santos, M.H.B.; Moraes, E.P.B.X.; Moura, R.T.D.; Chiamenti, A.; Bezerra, F.Q.G.; Rabelo, M.C.; Lima, P.F. 2005. Early identification of fetal sex and determination of the genital tubercle migration's day in dairy goats using ultrasound. *Acta Scientiae Veterinariae* 32, 353.
- Reichenbach, H-D. et al., 2004. Sexagem fetal na cabra e na ovelha por ultra-sonografia. In: Santos, M.H.B; Oliveira, M.A.L; Lima, P.F. Diagnóstico de gestação na cabra e na ovelha. São Paulo: Varela, 117-136.
- Santos, M.H.B. et al. 2004 Diagnóstico de gestação por ultra-sonografia de tempo real. In: Santos, M.H.B; Oliveira, M.A.L; Lima, P.F. Diagnóstico de gestação na cabra e na ovelha. São Paulo: Varela, 97-116.
- Santos, M.H.B., Chiamenti, A., Aguiar Filho, C.R., Moraes, E.P.B.X., Cavalcanti Neto, C.C., Lima, P.F., Oliveira, M.A.L. 2005a. Utilização da ultra-sonografia na sexagem de fetos da raça Anglo-nubiana pela identificação do tubérculo genital e da genitália externa. *Veterinária e Zootecnia*, v. 12, n.1/2, p.1-112.
- Santos, M.H.B., Gonzalez, C.I.M. Bezerra, F.Q.G., Neves, J.P., Reichenbach, H.D., Lima PF, Oliveira MAL. 2007a. Sexing of Dorper sheep derived from mating and embryo transfer by ultrasonography. *Reproduction, Fertility and Development*, 19: 366.
- Santos, M.H.B., Moraes, E.P.B.X., Aguiar Filho, C.R., Chaves, R.M., Neves, M.A.L. Lima, P.F., Oliveira, M.A.L. 2007b. fetal sexing by ultrasonography identifying the genital tubercle or external genitalia of American Alpine goats. *Ciência Animal Brasileira* (in press).
- Santos M.H.B., Moraes, E.P.B.X., Aguiar Filho, C.R., Moura R.T.D., Paula-Lopes, F.F. Neves, J.P. Lima P.F., Oliveira, M.A.L. 2007c. Early fetal sexing of goats by use of transrectal ultrasonography to identify the genital tubercle and external genitalia. *American Journal of Veterinary Research*. (in press).

- Santos M.H.B., Moraes, E.P.B.X., Aguiar Filho, C.R., Paula-Lopes, F.F., Reichenbach,. H.D., Neves, J.P. Lima P.F., Oliveira, M.A.L. 2007d. Accuracy of early fetal sex determination by ultrasonic assessment in goats. *Research in Veterinary Science* (in press).
- Santos, M.H.B., Moraes, E.P.B.X., Chiamenti, A., Rocha, J.M., Paula, N.R.O., Lima, P.F., Oliveira, M.A.L. 2007e. Determination of the genital tubercle migration period to early sexing sheep fetuses of Damara, Saint Ines and 3/4 crossbred Damara-Saint Ines. *Ciência Animal Brasileira* (in press).
- Santos, M.H.B., Moraes, E.P.B.X., Guido, S.I., Bezerra, F.Q.G.B., Lima, P.F., Oliveira, M.A.L. 2006a. Fetal sexing in Santa Inês ewes by ultrasonography. *Ciência Rural*, 36: 573-578.
- Santos, M.H.B., Moraes, E.P.B.X., Moura, R.T.D., Lima, P.F., Reichenbach,. H.D., Oliveira, M.A.L. 2005b. Early identification of the fetal sex in small ruminants by ultrasonography, *Acta Scientiae Veterinariae*, 33: 131-134.
- Santos, M.H.B., Moraes, E.P.B.X., Rabelo, M.C., Melo,A.N., Lima, P.F., Oliveira, M.A.L., 2005c. Fetal sexing by ultrasonography in ewe of Santa Inês breed. *Acta Scientiae Veterinariae* 32, 247.
- Santos, M.H.B., Moura, R.T.D., Chaves, R.M., Soares, A.T., Neves, J.P., Reichenbach,. H.D., Lima PF, Oliveira MAL. 2006b. Early fetal sexing of Boer goat by transrectal ultrasonography. *Animal Reproduction*, 3: (in press).
- Santos, M.H.B., Rabelo, M.C., Guido, S.I., Lopes Junior, E.S. Freitas, V.J., Lima, P.F., Oliveira, M.A.L. 2007f. Determination of the genital tubercle migration in Morada Nova sheep fetuses by ultrasonography. *Reproduction in Domestic Animals* (in press).
-