

Utilização do ultrassom para sexar fetos equinos da raça Mangalarga Marchador pela visualização do tubérculo genital e da genitália⁽¹⁾

(Use of ultrasound for fetal sexing of Mangalarga Marchador breed by visualization of genital tubercle and genitalia)

"<u>Artigo Científico</u> / <u>Scientific Article</u>"

AW Taveiros^A, LM Freitas Neto^B, CR Aguiar Filho^B, PR Motta Melo^C, ACJ Silva^D, MHB Santos^E, PF Lima^B, MAL Oliveira^{B(*)}

Resumo

Neste trabalho objetivou-se diagnosticar precocemente o sexo de fetos equinos (n=157) da raça Mangalarga Marchador por ultrassom, identificando-se a posição final do tubérculo genital ou visualizando-se as estruturas anatômicas da genitália. Os exames foram realizados em dias alternados, por via transretal, entre o 58° e o 69° dias, bem como entre o 90° e o 150° dias de gestação. As éguas foram artificialmente inseminadas no dia da ovulação, o qual foi considerado como o dia 0 da prenhez. O diagnóstico de gestação foi realizado no 15° dia após a ovulação. Não foi observada diferença (P>0.05) na acurácia da sexagem entre fetos macho (95.6%) e fêmea (91.4%). Todavia, foi verificado que a acurácia do exame realizado apenas com base no tubérculo genital (90.1%) é menor (P<0.05) do que a do exame efetuado considerando as estruturas da genitália externa (93.7%). Os resultados permitem concluir que a ultrassonografia é um método apropriado para diagnosticar precocemente o sexo fetal através da identificação da posição final do tubérculo genital, especialmente pela visualização de estruturas anatômicas da genitália externa. **Palavras-chave:** gestação, bolsa escrotal, prepúcio, tetas, clitóris.

Abstract

The aim of this study was to early diagnose the gender of equine fetuses (n=157) of Mangalarga Marchador by ultrasound visualization of the final position of the genital tubercle or viewing the anatomical structures of genitalia. The exams were performed in alternate days, by transrectal via, between the 58^{th} and 69^{th} days, as well as between the 90^{th} and 150^{th} days of pregnancy. The mares were artificially inseminated on the ovulation day and this day was considered as pregnancy day (Day 0). The pregnancy diagnosis was performed on the 15^{th} day after ovulation. There was not observed difference (P > 0.05) on the fetal sexing accuracy between male (95.6%) and female fetuses (91.4%). However, was verified that the accuracy of the exam performed taking into consideration the genital tubercle (90.1%) was lower (P < 0.05) than the exam performed considering the genital structures (93.7%). The results allow to conclude that the ultrasound is a suitable method to early diagnose the fetal sex by identification of the final position of genital tubercle, especially by visualization of anatomical structures of the external genitalia.

Key-words: pregnancy, scrotal bag, prepuce, nipples, clitoris.

^ARegimento de Polícia Montada Dias Cardoso. Av. General San Martin s/n, Bongi, 50 761 000 Recife– PE/Brasil.

^BLaboratório de Biotécnicas Reprodutivas do Departamento de Medicina Veterinária da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE). Av. Dom Manoel de Medeiros, s/n, Dois Irmãos. 52171-900 Recife-PE/Brasil.

^CMédico Veterinário Autônomo.

Dárea de Anatomia do Departamento de Morfologia e Fisiologia da UFRPE. Av. Dom Manoel de Medeiros, s/n, Dois Irmãos. 52171-900 Recife-PE/Brasil.

^EBolsita (BFP) da Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco (FACEPE), Rua Benfica, 150, Madalena, 50720 001 Recife-PE/ Brasil.

⁽¹⁾ Trabalho extraído da Tese de Doutorado da primeira autora apresentado ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Veterinária da Universidade Federal Rural de Pernambuco.

^(*) Autor para correspondência/Corresponding author (maloufrpe@uol.com.br).

^(§) Recebido em 18/06/2008 e aceito em 26/11/2008.

Introdução

A atual exploração de equinos encontra-se inserida num contexto restrito aos grandes e seletos criadores que adotaram a pesquisa e a seleção genética como verdadeiros pilares de sustentação desses Assim. criatórios (TAVEIROS. 2000). técnicas como a inseminação artificial, a superovulação e a transferência de embrião, por acelerarem a seleção genética, vêm sendo utilizadas em larga escala (TAVEIROS, 2000; TAVEIROS et al., 2003).

O ultrassom é uma ferramenta importante no diagnóstico precoce gestação em equinos desde a década de 80 em países desenvolvidos (DUARTE et al., 2002), todavia, sua utilização no Brasil teve início somente na década de 90 (TAVEIROS et al., 2003). Do mesmo modo, a identificação precoce do sexo genital foi previamente realizada na Europa (MERKT et al., 1999) e nos Estados Unidos (MCKINNON et al., 1993) com animais das raças Hanoveriana e Puro Sangue Inglês. No Brasil foi realizada com éguas da raça Mangalarga Marchador objetivando apenas avaliar a acurácia de um único exame transretal (DIAS, 2007).

O objetivo da sexagem fetal pelo ultrassom varia de acordo com o período de gestação. Entre o 55º e o 90º dia, a identificação do sexo é baseada no posicionamento do tubérculo genital (TG) e a partir deste período é fundamentada na identificação das estruturas da genitália, podendo ser realizado por via transretal (CURRAN e GUINTHER, 1993; HOLDER, 2003; BUCCA, 2005) ou transabdominal (RENAUDIN et al., 1997). A sexagem fetal visualizando-se o TG em pequenos ruminantes é muito utilizada devido à precocidade do diagnóstico (AZEVEDO et al., 2009; SANTOS 2005/2006ab/2007abcdefg).

Quando o diagnóstico tem por base a visualização das estruturas da genitália externa, o intervalo indicado está entre o 90º e o 150º dia de gestação (ALI, 2004; HOLDER, 2000/2006). Todavia, o intervalo ideal está compreendido entre o 110º e o 150º dia em razão da dificuldade de distinguir essas estruturas e após esse intervalo, o exame torna-se mais difícil em função da localização mais cranial do útero (RENAUDIN et al., 1997; RENAUDIN, 2001). Os maiores equívocos na identificação do sexo de fetos na espécie equina ocorrem nas fêmeas em decorrência de algumas estruturas hiperecogênicas localizarem-se próximo à cauda e dificultarem a visualização precisa do TG (MERKT et al., 1999).

Apesar do potencial incorporada na rotina de campo pela capacidade de agregar valor ao diagnóstico de gestação, a sexagem fetal na espécie equina continua pouco difundida nos criatórios devido à baixa tolerância das éguas ao exame, ao pequeno intervalo para diagnosticar o sexo pela visualização do TG e a própria carência de profissionais capacitados (DIAS, 2007; HOLDER, 2006). Diante do exposto, teve-se o objetivo de avaliar a eficiência do diagnóstico do sexo de fetos equinos pela visualização do TG e da estruturas da genitália, bem como avaliar a eficiência do diagnóstico do sexo fetal entre machos e fêmeas.

Material e Métodos

Foram examinados 157 fetos equinos da raça Mangalarga Marchador resultantes de prenhez simples. experimento O foi conduzido na Fazenda Pedra Verde. localizada no Município de Limoeiro, Estado Pernambuco. As éguas foram artificialmente inseminadas no dia da ovulação, o qual foi considerado como o dia 0 da prenhez. O diagnóstico de gestação foi realizado no 15º dia após a ovulação.

Os exames ultrassonográficos foram realizados por via transretal e pelo mesmo operador utilizando um aparelho Aloka 500 equipado com transdutor linear de 5 MHz. Após a deposição do gel na superfície onde estavam localizados os cristais piezelétricos, o transdutor foi colocado sob a mão e introduzido no reto da gestante. Após a localização do concepto e da definição da técnica do exame em conformidade com o

plano ultrassonográfico, dedicou-se especial atenção à região umbilical e aquela localizada entre os membros posteriores.

Os fetos foram monitorados em dias alternados, do 58º até o 69º dia de prenhez, para diagnosticar o sexo fetal com base na visualização do TG e do 90º até o 150º dia foi levado em consideração às estruturas da genitália externa (Figuras 1 e 2).

Considerou-se como feto macho que apresentou o TG situado imediatamente posterior ao cordão umbilical (Figura 1A). No plano horizontal ao eixo longitudinal do feto, o TG foi visualizado uma estrutura bilobular sendo hiperecóica. A partir do 90º dia de gestação foi dada ênfase à visualização do prepúcio e

da bolsa escrotal, sendo diagnosticado como feto macho aquele em que o prepúcio, quando visualizado no plano horizontal ao eixo longitudinal do feto, mostrou-se como uma estrutura triangular na região ventral do abdômen (Figura 1B). No plano transversal, o testículo foi evidenciado como uma estrutura oval entre os membros posteriores (Figura 1C).

Foi diagnosticado como feto fêmea aquele que evidenciou o TG (Figura 2A) ou o clitóris (Figura 2C) posicionados abaixo da cauda ou as tetas situadas entre os membros posteriores (Figura 2B). As tetas foram visualizadas como pequenas estruturas hiperecóicas tanto no plano horizontal quanto no transversal.

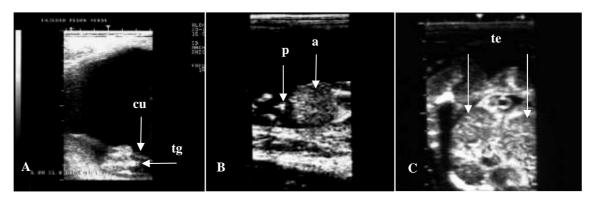


Figura 1 - Imagens de feto macho (A, B, C) mostrando o tubérculo genital (tg), cordão umbilical (cu), abdômen (ab), prepúcio (p) e testículo (te).

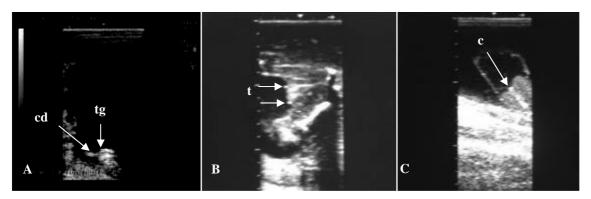


Figura 2 - Imagens de feto fêmea (A, B, C) evidenciando o tubérculo genital (tg), cauda (cd), tetas (t) e clitóris (c).

Uma semana antes do previsto para a parição, os animais foram diariamente observados visando identificar sinais de parto eminente. Aos primeiros sinais, a frequência de observações foi aumentada com a finalidade de acompanhar e documentar cada parto. Imediatamente após, o número, o sexo e recém-nascidos peso dos foram devidamente anotados.

A eficiência da sexagem fetal entre feto macho e fêmea, bem como entre a visualização do TG e da genitália foi calculada pelo teste de Qui-Quadrado, com probabilidade de 5%.

Resultados e Discussão

Foram diagnosticados o sexo de 126 fetos (80,3%) de um total de 157 avaliados. Dos 31 restantes (19,7%), não foi possível diagnosticar o sexo em consequência do temperamento inquieto de algumas éguas que dificultava ou mesmo impedia a manipulação do útero durante ao exame. O índice de sexagem fetal deste trabalho não foi muito diferente dos 89,0% obtidos por Mari et al. (2002) e tampouco dos 82,6 % constatados por Dias (2007), salientando-se que essa autora complementava a avaliação utilizando as imagens gravadas em DVD.

A acurácia do diagnóstico do sexo fetal, comprovado após o nascimento das crias, foi de 93,7% (Tabela 1), resultado semelhante aos 85% descritos por Holder (2000), aos 89,6 % relatados por Bucca (2005), aos 92,0% registrados por Renaudin et al. (1997) e aos 90% obtidos por Holder (2006). Avaliando ainda a Tabela 1 é possível verificar que apesar da diferença numérica, a eficiência da sexagem não diferiu (P > 0.05) entre fetos machos e fêmeas, resultado contrário aos de Müller e Wittowski (1986), Curran e Ginther (1989), Merkt et al. (1999), Mari et al. (2002), Ali (2004) e Dias (2007). Entretanto, é importante salientar que na prática foi constatada uma maior dificuldade em diagnosticar feto fêmea, observação que respalda os dados de Merkt et al. (1999), Ali (2004) e Holder (2006), os quais também comentaram que o TG da fêmea não é facilmente visualizado em todos os planos, sendo mais favorável o transversal oblíquo. Já nos fetos machos esses autores reportam não ser encontrada essa dificuldade, uma vez que o TG está localizado próximo à região abdominal, não havendo muitas estruturas

ecogênicas para confundir o operador. Além do que foi exposto, é interessante ressaltar que, tanto as observações desses autores quanto as deste trabalho permitem a afirmação de que o posicionamento da cauda entre os membros posteriores pode dificultar ou mesmo impedir a visualização do TG do feto fêmea, além de uma maior quantidade de estruturas hiperecogências localizadas na região pélvica que também dificulta o exame.

Tabela 1 – Eficiência da sexagem de fetos machos e fêmeas.

Gênero fetal	Exames n	Fetos sexados		
		Incorreto n (%)	Correto n (%)*	
Macho	68	3 (4,4)	65 (95,6)	
Fêmea	58	5 (8,6)	53 (91,4)	
Total	126	8 (6,3)	118 (93,7)	

 $*X^2 = 0.36 (P > 0.05).$

Quanto ao período de gestação em que o diagnóstico do sexo fetal pode ser realizado (Tabela 2) foi observado que ele é mais eficiente (P < 0,05) quando o exame é efetuado mais tardiamente, do 90º ao 150º dia de gestação, tendo por base as estruturas da genitália do feto. Esse resultado já era esperado em decorrência da identificação do gênero do feto ser fundamentada num maior número de estruturas da genitália externa, bem como em função do tamanho dessas período gestacional. estruturas nesse Adicionalmente, faz-se necessário ressaltar que tanto os equívocos de diagnóstico quanto a não visualização do TG foram obtidos nos fetos fêmeas. Além do que foi anteriormente comentado é fundamental esclarecer que a distância a ser percorrida pelo TG no feto fêmea, do seu posicionamento inicial até o final, é bem menor do que no feto macho. Conforme ponderação de Azevedo et al. (2009) e Santos et al. (2005/2006ab/ 2007abcdefg), se essa diferença é difícil de ser visualizada em fetos de pequenos ruminantes obtidos em matadouro, num feto com,

aproximadamente, 60 dias de idade é uma tarefa mais árdua de ser corretamente concretizada utilizando apenas imagens ultrasonográficas em tempo real. Por essa razão e em virtude de retardo na migração do TG é que fetos são equivocadamente diagnosticados como fêmeas.

Tabela 2 - Influência do período de gestação sobre a eficiência da sexagem de fetos equinos.

Período de gestação (dia)	Exames (n)	Fetos sexados			
		Não visualizado n (%)	Incorreto n (%)	Correto n (%)*	
58º - 69º	157	26 (16,6)	13 (9,9)	118 (90,1)	
90º - 150º	131	5 (3,8)	8 (6,3)	118 (93,7)	
Total	157	31 (19,7)	8 (6,3)	118 (93,7)	

 $[*]X^2 = 18.97 (P < 0.05).$

De um modo geral, a porcentagem de acerto aqui obtida pode ser considerada como semelhante à de 92% relatada por Renaudin et al. (1997), a de 99% obtida por Holder (2006) e a de 82% reportada por Dias (2007).

Diante do abordado é possível concluir que a ultrassonografia é um método apropriado para diagnosticar precocemente o sexo fetal através da identificação da posição final do TG, especialmente pela visualização das estruturas anatômicas da genitália externa. É também possível concluir que o período mais favorável para visualizar o TG está situado entre o 58º e o 69º dia de gestação, sendo o 64º dia, o mais indicado para visualizar o TG nos equinos e que a precisão de visualização da genitália externa aumenta a partir do 110º dia de gestação, mas o 124º dia é o mais favorável.

Referências

ALI, A. Effect of gestacional age and fetal position on the possibility and accuracy of ultrasonographic fetal gender determination in dairy cattle. Reproduction in Domestic **Animals**. v.39, p.190-194, 2004.

AZEVEDO, E.M.P. et al.. Migration time of the genital tubercle caprine and ovine fetuses: comparison between breeds, sexes and species. Acta Veterinary Hungarica, v.57, n.1, p.147-154, 2009.

BUCCA, S. Equine fetal gender determination from mid- to advanced gestation by ultrasound. Theriogenology, v.64, n.3, p.568-571, 2005.

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

CURRAN, S.; GINTHER, O.J. Ultrasonic gender fetal diagnosis during months 5 and 11 in mares. Theriogenology, v.40, n.6, p.1127-1135, 1993.

DIAS, L.M.K. Diagnóstico de Gestação quantificação e sexagem fetais por meio de ultra-sonografia convencional em éguas e ovelhas. 2007, 70f. Dissertação (Mestrado em Ciência Veterinária) Universidade Federal de Lavras.

DUARTE, M.B. et al. Incidência e perda de prenhez até o 50° dia em éguas Quarto de Milha. Ciência Rural, v.32, n.4, p.643-647, 2002.

HOLDER, R.D. Fetal sex determination. In: SAMPER, J.C. et al. Current therapy in equine reproduction. Amsterdam: Elsevier, 2006. p.343-356.

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

HOLDER, R.D. Fetal sex determination in the mare between 55 and 150 days gestation. In: ANNUAL **CONVENTION** OF AMERICAN ASSOCIATION OF EQUINE PRACTITIONERS, 46th. 2000. San Antonio. Proceedings... San Antonio, 2000. v.46, p.321-324.

MARI, G. et al. Equine fetal sex determination using a single ultrasonic under conditions. examination farm **Theriogenology**, v.58, p.1237-1243, 2002.

MCKINNON, A.O. et al. Diagnostic of ultrasonography. In: MCKINNON, A.O.; VOSS. J.L. **Equine** Reproduction. Philadelphia: Lea & Febiger, 1993. p.266-302.

MERKT, H. et al. Gender determination in equine foetuses between 50 and 90 days of gestation. Journal Equine Veterinary Science, v.19, n.2, p.90-94, 1999.

MÜLLER, E.: WITTOWSKI, G. Visualization of male and characteristies of bovine fetuses by real-time ultrasonics. Theriogenology, v.25, n.4, p.571-574, 1986.

RENAUDIN, C.D. et al. Transabdominal combined with transretal ultrasonographic determination of equine fetal gender during midgestation. . In: ANNUAL CONVENTION OF THE AMERICAN ASSOCIATION OF EQUINE PRACTITIONERS, 43th. 1997. Phoenix. **Proceedings...** Phoenix, 1997. v.43, p.251-255.

RENAUDIN, C.D. Ultrasonographic Determination of Equine Fetal Gender. Veterinary **Information** International **Service**. (31 Mar 2001). Disponível em: http://www.ivis.org/advances/Reproduction Ball/fetal_sexing_renaudin/chapter_frm.asp?L A=1>. Acesso em: 26 mar. 2004.

SANTOS, M.H.B. et al. Accuracy of early fetal sex determination by ultrasonic assessment in goats. Research in Veterinary **Science**, v.83, p.251-255, 2007a

SANTOS, M.H.B. et al. Early fetal sexing of Saanen goats by use of transrectal ultrasonography to identify the genital tubercle and external genitalia. American Journal of Veterinary Research, v.68, n.5, p.561-564, 2007b.

SANTOS, M.H.B. et al. Determination of the genital tubercle migration period in Morada Nova sheep fetuses by ultrasonography. Reproduction in Domestic Animals, v.42, p.214-217, 2007c.

SANTOS, M.H.B. et al. Determinação do período de migração do tubérculo genital na sexagem precoce de fetos ovinos das raças Damara, Santa Inês e 3/4 Damara-Santa Inês. Ciência Animal Brasileira, v.8, n.1, p.111-117, 2007d.

SANTOS, M.H.B. et al. Sexagem fetal em ovelhas Santa Inês por ultra-sonografia. Ciência Rural, v.36, n.2, p.573-578, 2006a.

SANTOS, M.H.B. et al. Sexagem fetal pela ultra-sonografia identificando-se o tubérculo genital ou a genitália externa de caprinos da raça Alpina Americana. Ciência Animal **Brasileira**, v.8, n.2, p.325-331, 2007e.

SANTOS, M.H.B. et al. Sexagem precoce de fetos caprinos da raça Toggenburg pela ultrasonografia transretal. Medicina Veterinária, v.1, n.1, p.48-54, 2007f.

SANTOS, M.H.B. et al. Sexing of Boer goat fetuses using transrectal ultrasonography. Animal Reproduction, v.3, n.3, p.359-363, 2006b.

SANTOS, M.H.B. et al. Sexing of Dorper sheep fetuses derived from natural mating and embrvo transfer by ultrasonography. Reproduction, Fertility and Development, v.19, p.366-369, 2007g.

SANTOS, M.H.B. et al. Utilização da ultrasonografia 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.52-60, 2005.

TAVEIROS, A.W. Transferência de embriões eqüinos da raça Mangalarga Marchador. Recife-PE, 2000, 42f. Dissertação (Mestrado em Ciência Veterinária) - Programa da Pós-Graduação em Ciência Veterinária, Universidade Federal Rural de Pernambuco. Recife-PE, 2000.

TAVEIROS, A.W. et al. Ultrasonographic monitoring of 103 recipient mares of different reproductive status during the first 30 days after embryo transfers. Veterinary Record, v.153, n.18, p.558-560, 2003.