

MANEIO REPRODUTIVO EM OVINOS E CAPRINOS

10. ECOGRAFIA

Por: Sandra Sacoto^{3,4}, Teresa Montenegro²,
Ramiro Valentim², Maria José Gomes⁴,
Isilda Rodrigues⁴, Jorge Azevedo^{1,3,4}

¹ jazevedo@utad.pt

² CIMO, ESAB, IPB

³ CECAV

⁴ UTAD

INTRODUÇÃO

A eficiente gestão reprodutiva de um efetivo de pequenos ruminantes é um dos pilares para a obtenção de bons resultados produtivos e económicos. Face ao nível de exigência dos consumidores por produtos diferenciados e disponíveis ao longo do ano, torna-se necessário recorrer a tecnologias que contribuam para uma otimização do processo reprodutivo.

As técnicas de ultrassonografia têm assumido um papel preponderante na reprodução animal contribuindo para uma maior eficiência reprodutiva dos efetivos [1][2]. A informação fornecida por esta técnica veio revolucionar o conhecimento da biologia reprodutiva das espécies e clarificar o complexo processo reprodutivo, nomeadamente, a dinâmica folicular ovárica, o funcionamento do corpo lúteo e o desenvolvimento fetal.

UTILIZAÇÃO E VANTAGENS DA ECOGRAFIA REPRODUTIVA

A ultrassonografia apresenta inúmeras vantagens e aplicabilidades possibilitando a visualização em tempo real de órgãos internos, tecidos, estruturas e fluidos sem riscos de radiação. Está técnica é considerada não prejudicial para o animal, pode ser utilizada de forma rotineira, simples e sistemática, fornecendo informação preciosa e detalhada sobre o estado reprodutivo dos animais [1]. Enquadra-se nas técnicas “animal-friendly” associadas a um menor nível de stress para os animais habituados a rotinas de manejo e contenção [3]. Permite uma eficiente avaliação do estado reprodutivo do efetivo, planificação do manejo reprodutivo do rebanho, ajustamento de protocolos de inseminação a tempo fixo, produção e transferência de embriões [4], diagnóstico de gestação, entre outras valências.

Há mais de 25 anos que a técnica de ecografia é utilizada, com maior ênfase na avaliação reprodutiva das fêmeas do que dos machos, mas foi durante muito tempo vista como uma ferramenta apenas útil para criadores de elite[4]. É hoje uma ferramenta incontornável em



diagnóstico animal e investigação. Na década passada, avanços na tecnologia de ultrassons possibilitaram melhorias na qualidade das imagens e a conceção de sondas com maior poder de penetração, assim como uma maior portabilidade dos equipamentos o que permitiu a sua vulgarização como ferramenta de apoio à gestão reprodutiva ao nível da exploração [2].

O recurso a esta tecnologia permite a avaliação e acompanhamento do ciclo reprodutivo de fêmeas e machos com acesso a tecnologia de imagiologia não-invasiva, fiável e segura [1, 3-5], e com obtenção de imagem bidimensional em tempo real. Apresenta um baixo custo por animal, um tempo de avaliação curto (1-2 minuto por animal com técnico experiente) e resultados imediatos [2].

Em pequenos ruminantes, as potencialidades desta técnica aplicada aos sistemas de produção, é ainda muito limitada, apresentando maior relevância em estudos experimentais com os ovinos e caprinos como animais modelo[3]. No entanto, as suas vantagens são inúmeras e a sua disseminação permitirá uma

transferência de inovação entre investigadores e criadores que proporcionará benefícios em termos de produtividade. Poderá apresentar como principal limitação o lento processo de aprendizagem para um eficiente desempenho do operador.

BASES DA ECOGRAFIA, EQUIPAMENTOS E TÉCNICA ECOGRÁFICA

Ultrassom é definido como qualquer frequência sonora acima do limiar auditivo dos humanos (maior que 20.000 Hz). As ondas sonoras dos equipamentos de ultrassons são produzidas pela vibração de cristais especializados (cristais piezoelétricos – efeito piezoelétrico) que constituem as sondas ou transdutores. Com a vibração dos cristais produzem-se ondas sonoras que interagem com as diferentes interfaces. Uma proporção das ondas emitidas é refletida para o transdutor e o correspondente eco aparece no ecrã originando uma imagem bidimensional numa escala de 256 tons de cinzento, variando entre o branco e o negro[1][3][4].

Dependendo do tecido ou órgão sob examinação, podem-se escolher vários modos de apresentação da ultrassonografia: modo A (modo amplitude), modo B (modo brilho), modo M (modo movimento). A estes acresce ainda a ultrassonografia Doppler tridimensional. A ultrassonografia em modo B em tempo real é a técnica mais empregue em ovinos e caprinos produzindo uma imagem a duas dimensões, baseada na ecogeneidade das interfaces. É o modo mais utilizado em pequenos ruminantes para avaliação reprodutiva [3].

EQUIPAMENTO DE ULTRASSONOGRAFIA

O equipamento de ultrassonografia é composto por um monitor e sonda (ou transdutor, que varia em frequência e secção). Existe uma grande variedade de equipamentos disponíveis no mercado o que nem sempre facilita a escolha. Devem-se então observar alguns critérios que facilitam a escolha do ecógrafo e da sonda.

O primeiro passo na escolha do ecógrafo a adquirir assenta em decidir sobre a sua finalidade (investigação versus trabalho de campo) e a sua portabilidade (Figura 1). Os ecógrafos não-portáteis apresentam imagens de alta definição, em função da frequência da sonda utilizada, configurando-se mais adequados para centros de investigação. São potentes em termos de software de análise de imagem, mas com a principal desvantagem de serem muito dispendiosos. Os dispositivos portáteis e ultraportáteis (pesos entre 6 e 10 kg) são mais adequados para trabalho de campo, facilmente transportáveis, com fornecimento autónomo de energia, mas com limitações evidentes em termos de qualidade de imagem e software de apoio [3, 4]. Outra etapa absolutamente determinante é a escolha da sonda (tipo e frequência) [3]. Os transdutores podem ser classificados em lineares, sectoriais ou convexos (Figura 2). Deste fator depende ao tipo de imagem visualizada e a sua qualidade. As

frequências mais utilizadas variam entre os 3,5 e os 12 MHz: sondas de maior frequência permitem uma imagem de maior qualidade, mas menor penetração nos tecidos ao contrário das de menor frequência[3, 4]. Esta característica é determinante para a precisão e qualidade de imagem pretendida e da localização do órgão/tecido a avaliar.

Em ultrassonografia reprodutiva em pequenos ruminantes são usualmente utilizadas sondas de 3,5-5 MHz para abordagens transabdominais e de 7,5-10 MHz para avaliações transretais, transvaginais ou transcutâneas de estruturas de pequena dimensão e/ou superficiais [3].

TÉCNICA E ABORDAGEM ECOGRÁFICA

Em fêmeas, o principal objetivo do uso da ultrassonografia em tempo real (UTR) é a visualização dos ovários e dos cornos uterinos para determinação do estado reprodutivo (padrão de ciclicidade, fase do ciclo éstrico, tempo de gestação, número e sexo dos fetos,...) [1, 3, 4]. O objetivo desta avaliação determina a abordagem ecográfica: transabdominal ou transretal. A ecografia transabdominal é mais fácil de efetuar, mas apresenta limitações quando se pretende uma avaliação detalhada dos ovários e das estruturas nele presentes. É um procedimento adequado para monitorização da gestação dos 25 dias em diante recorrendo a sondas de baixa frequência (3,5-5 MHz). Para avaliação de fêmeas não-gestantes e no início da gestação deve-se recorrer a sondas de alta frequência (7,5 MHz) numa abordagem transretal com a fêmea em estação [4]. Prévia à introdução da sonda no reto esta deve ser lubrificada com um gel hidrossolúvel que melhora a propagação dos ultrassons [3] e minimiza a interferência do ar na formação da imagem. Após introdução no reto, a sonda deve ser orientada perpendicularmente à parede abdominal ventral [4] sempre exercendo uma pressão moderada sobre a

mucosa rectal para uma melhor propagação do feixe de ultrassons [1]. A primeira estrutura visualizada é normalmente a bexiga, anecoica, em relação à qual dorsalmente se localizam o corpo e os corpos uterinos. A avaliação detalhada destas estruturas deve ser realizada movimentando a sonda lateralmente em sentido horário e anti-horário promovendo um varrimento completo da área.

A ecografia transabdominal pode ser efetuada com o animal em estação colocando o transdutor na região inguinal direita. Por vezes é necessário proceder à tosquia da área inguinal e aplicar gel hidrossolúvel de forma abundante para permitir uma melhor visualização do genital feminino.

INTERPRETAÇÃO SONOGRAMAS

Para uma correta interpretação das imagens obtidas é imprescindível um conhecimento profundo da anatomia e fisiologia animal, assim como as propriedades dos gases, fluidos, tecidos e órgãos em refletir as ondas sonoras [3].

A ecotextura do tecido vai determinar a imagem visualizada à qual é atribuída uma classificação em função da sua ecogeneidade; assim, tecidos com menor impedância acústica tais como fluido folicular, urina, e outros fluidos não oferecem resistência e as ondas de ultrassons ultrapassam-nos sem dificuldade dispersando-se no meio não gerando ecos. Assim sendo, não existe formação de imagem no ecrã e estas zonas visualizadas de tonalidade negra são denominadas anecoicas. No espectro oposto situam-se os tecidos de elevada coesão molecular (cervix, osso, estruturas fibrosadas, ...) que refletem intensamente os ultrassons recebidos dando origem a inúmeros ecos com formação de uma imagem de tonalidade branca classificada como hiperecogénica. O estroma ovárico e uterino, que refletem proporções intermédias de ecos são chamadas de ecogénicas e apresentam-se em diversos tons de cinzento no sonograma[4].



Figura 1
Modelo fixo (esquerda) e modelo portátil (direita).

Figura 2
Tipos de sondas: micro-convexo, convexo e linear.

ULTRASSONOGRRAFIA EM FÊMEAS OVINAS E CAPRINAS

CICLO ÉSTRICO

Em pequenos ruminantes, em que a avaliação das estruturas ováricas não é possível por palpação rectal, a ecografia é o melhor método para monitorização da atividade ovárica [1].

Na avaliação ecográfica transretal de fêmeas não-gestantes importa avaliar os cornos uterinos e a dinâmica ovárica (Figura 3). O útero como estrutura de composição muscular apresenta-se com uma ecotextura característica com uma ecogeneidade que depende do tónus uterino e do conteúdo luminal. Tais variações estão associadas às fases folicular e lútea do ciclo éstrico. Regra geral, durante a fase folicular o útero apresenta-se hipocogénico e de limites mal definidos em função da ação do estradiol. Contrariamente, na fase lútea, sob influência da progesterona, os cornos uterinos são visíveis em cortes bem definidos, ecogénicos e com diminuto conteúdo luminal. Os ovários, com dimensões entre 10-15 mm, apresentam uma conformação elíptica, ecogénica, onde é possível observar estruturas anecóicas (folículos antrais) com limite hiperecogénico e que variam em tamanho: os folículos identificáveis de menor dimensão apresentam um diâmetro médio entre 2-3 mm enquanto que os folículos pré-ovulatórios apresentam diâmetros médios entre os 6-8 mm. A precisão de contagem e medição destas estruturas depende em larga escala das capacidades do operador.

O dia de emergência e a duração dos folículos ovulatórios e a taxa de ovulação podem ser monitorizados de forma precisa e consistente por ecografia [6], permitindo melhorias na taxa de fertilidade.

O tempo de ovulação pode ser estimado por ecografia acompanhando o crescimento do folículo pré-ovulatório (tamanho superior 5mm) e do seu desaparecimento, em avaliações sucessivas intercaladas de 4 horas [7, 8].

Pós ovulação, o corpo hemorrágico surge como estrutura transitória sucedida pelo corpo lúteo -CL-[4] o qual é observável 3 dias pós ovulação como uma estrutura mal definida, irregular e de ecogeneidade intermédia [1].

A aparência ultrassonográfica e o tamanho do CL variam em função do dia da fase lútea e da produção de progesterona[1, 4].A contagem de corpos lúteos permite uma estimativa fiável da taxa de ovulação.

SAZONALIDADE

A UTR pode dar um contributo complementar determinante para o conhecimento do padrão

de ciclicidade em fêmeas ovinas e caprinas. O conhecimento da dinâmica ovárica e a sua avaliação por ecografia transretal [9], permite obter sonograma ou vídeos que após analisados possibilitam o mapeamento das estruturas ováricas durante um período temporal [10, 11]. Esta avaliação permite determinar com maior precisão a duração da época de anestro sazonal e os períodos de transição para a estação reprodutiva.É possível perceber as diferenças de fertilidade e prolificidade dos rebanhos em função do seu padrão reprodutivo, tornando o manejo reprodutivo do efetivo mais apropriado e potencializado [11].

GESTAÇÃO

O diagnóstico de gestação em pequenos ruminantes, com recurso à ultrassonografia, é hoje uma metodologia precisa, rápida, precoce e segura. Permite identificar as fêmeas gestantes, e adequar o manejo alimentar às suas exigências, assim como precocemente detetar as fêmeas vazias encaminhando-as para uma nova inseminação/cobrição ou refugio [5][12]. A avaliação da idade gestacional, quando não se conhece a data da fecundação, é um dado crucial para a planificação de diversas tarefas como o manejo nutricional e da época de parição.

A escolha do tempo gestacional mais apropriado para avaliação das estruturas anatómicas e o crescimento de órgãos e sistemas, por ultrassonografia, pode fornecer informação relevante sobre a idade gestacional versus crescimento fetal, predição de peso dos fetos ao nascimento além do sexo e número de fetos [13].

Em fêmeas gestantes, é possível por UTR transretal ou transabdominal determinar com precisão a idade gestacional desde fases muito precoces[5][12]. A observação da vesícula embrionária como dilatação anecóica do corno uterino desde os 12 dias de gestação é possível recorrendo a UTR transretal em modo B com sonda linear de 3,5-5 MHz[4, 5]. No entanto, devido à ocorrência de falsos positivos é aconselhável que se repita o procedimento a partir dos 24 dias de gestação. Em cabras, o embrião pode ser visualizado, por ecografia transretal, entre os 22 e os 24 dias de gestação e entre os dias 27-33 quando se recorre a ultrassonografia transabdominal [2, 12]. A via transvaginal é também uma possibilidade para avaliar o número de fetos por gestação. No entanto, esta releva-se pouca precisa antes das 5 semanas de gestação, a partir das quais apresenta uma boa precisão na predição do número de crias nascidas vivas mas não na determinação de gestações múltiplas [14].Posteriormenteao dia 50

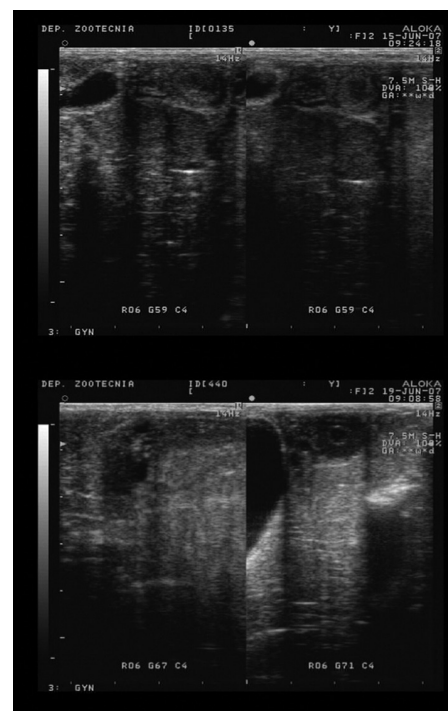


Figura 3

Sonograma aparelho reprodutivo ovelhas; corte transversal cornos uterinos (imagem cima) e corpo lúteo cavitário (imagem baixo).

pós fecundação, a avaliação da fase gestacional deve ser feita exclusivamente por ecografia transabdominal [4].

O conhecimento de gestações simples e múltiplas permite uma separação das fêmeas em lotes de modo a proporcionar-lhes o adequado manejo nutricional durante a gestação [1].Um manejo alimentar adaptado às necessidades específicas das fêmeas, em função do número de fetos e em especial nas últimas 4 a 6 semanas de gestação [2], pode prevenir a incidência de toxemia de gestação, otimizar o peso ao nascimento e a sobrevivência das crias. Acresce ainda o facto de poder contribuir para uma menor incidência de distócias e custos desnecessários em fêmeas com gestações simples a[12].

A ecografia transretal estima com elevada precisão o número de fetos entre os dias 31-36 de gestação; com recurso a ecografia transabdominal, e para o mesmo nível de precisão, esta avaliação deve ser efetuada entre os dias 31-36 de gestação [12]. A determinação do sexo dos fetos pode ser efetuada por visualização do tubérculo genital ou do escroto e das glândulas mamárias. Após o 35º dia de gestação em pequenos ruminantes, o desenvolvimento e a migração do tubérculo genital torna possível a atribuição do sexo ao feto

por avaliação ultrassonográfica. A migração do tubérculo genital em direção ao cordão umbilical é indicativa de um macho enquanto que a migração desta estrutura em direção caudal é indicativa de um feto fêmea. Esta migração ocorre num intervalo de 15 dias e é observada mais cedo nas ovelhas (dias 35-51 de gestação) do que nas cabras (dias 40-55 de gestação) [15]. A sexagem fetal após os 50 dias de gestação baseia-se na detecção das estruturas da genitália externa, nomeadamente o escroto e a vulva, pois nesta fase o tubérculo genital já não é identificável.

A fase mais apropriada para a avaliação do sexo dos fetos situa-se entre os 55-60 dias de gestação sendo uma técnica precisa mesmo em condições de campo. Fetos entre os 48-119 dias de idade gestacional são sexados com exatidão entre os 92-100% [1].

O acompanhamento ecográfico do útero no pós-parto pode ser uma ferramenta valiosa na avaliação do processo de involução uterina e conhecimento precoce de potenciais distúrbios puerperais (metrites, retenção placentária,...) que ainda não se manifestaram através de sinais clínicos e que irão retardar a entrada das fêmeas num novo ciclo reprodutivo [16].

ULTRASSONOGRAFIA EM CARNEIROS E BODES

O principal objetivo da ultrassonografia em machos é a avaliação da genitália externa (testículos, epidídimo e plexos pampiniforme) e da genitália interna (glândulas anexas) para determinação do potencial reprodutivo do macho e/ou eventuais patologias. Muitas lesões escrotais e testiculares, que comprometem a fertilidade e potencial reprodutivo dos machos, podem ser facilmente detetadas e caracterizadas pelo exame ultrassonográfico [5, 17].

Por abordagem transescrotal linear ou convexa [17] é possível visualizar o estroma testicular pela obtenção de imagens sagitais, transversais ou oblíquas. Os testículos observam-se delimitados por um folheto triplo (pele e túnica albugínea e vaginal) que apresentam uma aparência hiperecogénica intercalados de espaços anecoicos. O parênquima testicular apresenta um padrão heterogéneo hipocóico e na zona mediana visualiza-se uma linha hiperecóica que corresponde ao mediastino [4]. A ecotextura do parênquima testicular pode ser utilizada como preditor da qualidade seminal. No entanto, ainda não é dispensável, para uma correta avaliação do potencial reprodutivo dos machos, a palpação da genitália externa e a avaliação macro e microscópica do sêmen.



«A deteção do tempo de ovulação é uma etapa essencial em estudos que pretendam avaliar a efetividade da sincronização de ciclos éstricos em fêmeas domésticas»

A motilidade massal e individual espermática não apresenta uma correlação significativa com a avaliação ultrassonográfica sendo necessários mais estudos que relacionem alterações no padrão ecográfico testicular com variações na fertilidade [5].

sonogramas, à relutância de alguns criadores em aderirem à UTR e também à progressão relativamente lenta do conhecimento na área da ultrassonografia reprodutiva em especial em pequenos ruminantes [5]. ■

USO COMPLEMENTAR COM TECNOLOGIAS DE REPRODUÇÃO ASSISTIDA

As tecnologias reprodutivas mais utilizadas em pequenos ruminantes são a sincronização de ciclos éstricos e a inseminação artificial a tempo fixo. Em menor escala surge a produção de embriões com recurso a superovulação. A implementação da ecografia transretal para monitorização da dinâmica folicular representa uma etapa crucial para a determinação da resposta ovárica aos tratamentos hormonais e à sua variação [4].

A deteção do tempo de ovulação é uma etapa essencial em estudos que pretendam avaliar a efetividade da sincronização de ciclos éstricos em fêmeas domésticas. Alterações morfológicas e desenvolvimento no local de ovulação de um corpo lúteo podem ser caracterizados por ultrassonografia em modo B [8]. Também a inseminação a tempo fixo beneficia da informação veiculada pela avaliação ecográfica pela determinação do tempo de ovulação que permite melhores resultados de fertilidade [18].

Apesar das suas potencialidades, a ultrassonografia é ainda hoje uma metodologia subutilizada. Tal parece ficar a dever-se à falta de conhecimento especializado dos técnicos em relação à técnica e interpretação dos

BIBLIOGRAFIA

1. Medan, M.S. and A.M. Abd El-Aty, Advances in ultrasonography and its applications in domestic ruminants and other farm animals reproduction. *Journal of Advanced Research*, 2010. 2(2): p. 123-128.
2. Jones, A.K. and S.A. Reed, Benefits of ultrasound scanning during gestation in the small ruminant. *Small Ruminant Research*, 2017. 149: p. 163-171.
3. Meinecke-Tillmann, S., Basics of ultrasonographic examination in sheep. *Small Ruminant Research*, 2017. 152: p. 10-21.
4. Gonzalez-Bulnes, A., P. Pallares, and M. Vázquez, Ultrasonographic imaging in Small Ruminant Reproduction. *Reprod Dom Anim* 2010. 45 Suppl 2: p. 9-20.
5. Crilly, J.P., A.P. Politis, and K. Hamer, Use of ultrasonographic examination in sheep veterinary practice. *Small Ruminant Research*, 2017. 152: p. 166-173.
6. Vilarinho, M., E. Rubianes, and A. Menchaca, Ovarian responses and pregnancy rate with previously used intravaginal progesterone releasing devices for fixed-time artificial insemination in sheep. *Theriogenology*, 2013. 79(1): p. 206-210.
7. Simões, J., et al., Time of ovulation in nulliparous and multiparous goats. *Animal*, 2008. 2(5): p. 761-768.
8. Gonzalez-Bulnes, A., et al., Ultrasonographic screening of the ovulatory process in goats. *Small Ruminant Research*, 2004. 52(1): p. 165-168.
9. Ginther, O.J. and K. Kot, Follicular dynamics during the ovulatory season in goats. *Theriogenology*, 1994. 42(6): p. 987-1001.
10. Simões, J., et al., Follicular dynamics in Serrana goats. *Animal Reproduction Science*, 2006. 95(1): p. 16-26.
11. Nogueira, D.M., et al., Comparison of follicular dynamics and hormone profiles in Boer goats examined during the breeding and non-breeding seasons in the tropics of Queensland, Australia. *Small Ruminant Research*, 2015. 125: p. 93-100.
12. Karen, A., et al., Accuracy of B-mode ultrasonography for diagnosing pregnancy and determination of fetal numbers in different breeds of goats. *Animal Reproduction Science*, 2014. 147(1): p. 25-31.
13. Valasi, I., et al., Developmental anatomy of sheep embryos, as assessed by means of ultrasonographic evaluation. *Small Ruminant Research*, 2017. 152: p. 56-73.
14. Kokker, A., D. Ince, and M. Sezik, The accuracy of transvaginal ultrasonography for early pregnancy diagnosis in Saanen goats: A pilot study. *Small Ruminant Research*, 2012. 105(1): p. 277-281.
15. Azevedo, E., et al., Migration time of the genital tubercle in caprine and ovine fetuses: Comparison between breeds, sexes and species. *Acta Veterinaria Hungarica*, 2009. 57(1): p. 147-154.
16. Ioannidi, K.S., et al., Ultrasonographic examination of the uterus of ewes during the post-partum period. *Small Ruminant Research*, 2017. 152: p. 74-85.
17. Gouletsos, P.G., Ultrasonographic examination of the scrotal contents in rams. *Small Ruminant Research*, 2017. 152: p. 100-106.
18. Maia, A.L.R.S., et al., Reproductive parameters of dairy goats after receiving two doses of d-cloprostenol at different intervals. *Animal Reproduction Science*, 2017. 181: p. 16-23.