

## DIAGNÓSTICO DE GESTAÇÃO E SEXAGEM FETAL EM CAPRINOS POR ULTRASSONOGRAFIA

[Pregnancy diagnosis and fetal sexing in goats by ultrasonography]

Gislayne Christianne Xavier Peixoto<sup>1</sup> & Alexandre Rodrigues Silva<sup>1,\*</sup>

<sup>1</sup> Laboratório de Conservação de Germoplasma Animal, UFERSA, Mossoró, RN.

**RESUMO** - O diagnóstico precoce de gestação em caprinos, como em outras espécies domésticas, tornou-se uma necessidade em regimes de manejo semi-intensivo e intensivo dentro do sistema de exploração produtivo. O diagnóstico gestacional através da ultrassonografia em caprinos apresenta uma grande importância de ordem prática em função da limitação anatômica para a avaliação do sistema genital através da palpação retal. Esta técnica também é usada na identificação de patologias causadoras de infertilidade no macho e na fêmea caprina facilitando o diagnóstico e o tratamento. A ultrassonografia em tempo real (modo-B) é atualmente o método de diagnóstico de gestação mais utilizado em função de suas vantagens: é um método rápido, de elevada acurácia, não é invasivo e não oferece risco nem para a fêmea nem para o concepto. Esta revisão apresenta os princípios e métodos ultrassonográficos bem como a aplicação desta técnica na reprodução de caprinos.

**Palavras-chave:** caprino, biotécnicas, ultrassom.

**ABSTRACT** - The early pregnancy diagnosis in goats, as for other domestic species, is necessary for semi-intensive and intensive management into productive exploration systems. In goats, pregnancy diagnosis by ultrasonography shows a practical importance since is not possible to realize rectal palpation of the genital tract per as in larger animals. The technique is also used for infertility pathological identification in male and female goats, facilitating diagnosis and treatment. The ultrasonography in real time is currently the method of diagnosis of pregnancy most widely used due to its advantages: It is a fast method, high accuracy, is not invasive and is not risk for either the female or the concept. This review shows the ultrasonographic principles and methods as well as its practical use in goat reproduction.

**Keywords:** Goat, biotech, ultrasonic.

### INTRODUÇÃO

A espécie caprina é uma das poucas espécies capazes de sobreviver e produzir em condições adversas, como as observadas em regiões de clima extremamente quente ou frio e com poucos recursos naturais. Porém, ainda não se atingiu estágio de desenvolvimento tal, que permita aos caprinocultores a utilização de tecnologia mais avançada, como por exemplo, o diagnóstico precoce de gestação por meio da ultrassonografia (Yamada & Kozicki, 1998). Os principais motivos para o diagnóstico precoce de gestação são a possibilidade de descrição e o acompanhamento do desenvolvimento embrionário e fetal, com detecção de prováveis perdas o que permite mais rapidamente a

reintrodução destas fêmeas em reprodução (Calamari et al., 2003).

Sabe-se que, as biotécnicas da reprodução tais como a sincronização e/ou indução do estro, tecnologia do sêmen, inseminação artificial e transferência de embriões têm se constituído em valiosos instrumentos à disposição do sistema produtivo. Entretanto, a utilização destes está condicionada ao desenvolvimento de outras técnicas complementares que possam fornecer informações que os tornem adequados ao sistema produtivo (Cruz & Freitas, 2001). Dentre estas técnicas, a ultrassonografia vem sendo considerada precisa, de alta praticidade e bastante segura, permitindo a visualização da anatomia dos órgãos estudados mostrada de forma dinâmica em imagem bidimensional.

\* Autor para correspondência. E-mail: alexrs@ufersa.edu.br.

Em curto espaço de tempo, a imagem obtida através da ultrassonografia em tempo real tem contribuído para o conhecimento de diversos fenômenos da fisiologia reprodutiva, uma vez que esta técnica pode ser realizada por vários dias, de forma alternada ou em observação contínua de um evento dinâmico, permitindo desta maneira a obtenção de importantes informações morfológicas sem invadir ou causar dano aos tecidos (Cruz & Freitas, 2001). Ao que concerne ao diagnóstico de gestação, geralmente são utilizados equipamentos simples e economicamente mais acessíveis, todavia, para a identificação do sexo fetal são necessárias imagens com maior detalhamento das estruturas do feto, aspectos que são melhores obtidos através de equipamentos mais sofisticados, fato que determina maiores investimentos do criador ou do profissional liberal (Bürstel et al., 2002). A determinação do estado gestacional durante ou após a estação de monta, permitiu a adoção de manejos sanitários e nutricionais específicos, possibilitando a racionalização das atividades e dos investimentos. Fêmeas não gestantes podem ser comercializadas ou submetidas à nova estação de monta mais precocemente (Lima et al., 2006).

Desta forma, visto a importância que a ultrassonografia possa exercer sobre a reprodução, esta revisão objetiva apresentar as utilizações deste meio de diagnóstico em tempo real na reprodução de caprinos, buscando a sua aplicação no diagnóstico de prenhez, assim como na realização da sexagem fetal.

#### **DIAGNÓSTICO GESTACIONAL NA ESPÉCIE CAPRINA POR USO DA ULTRASSONOGRÁFIA**

A caracterização da gestação na espécie caprina apresenta sérias limitações, já que poucos são os métodos disponíveis que associam precisão e precocidade. O diagnóstico presuntivo é estabelecido pelo índice de não retorno ao cio que apresenta uma elevada imprecisão, por não permitir segurança de resultados até quando a caracterização externa da gestação se torne evidente (Bicudo, 2007).

A possibilidade de realização de um diagnóstico precoce de gestação é uma das ferramentas de maior implicação na melhoria dos rendimentos produtivos de explorações de ovinos e caprinos, reduzindo de forma eficaz o intervalo entre o parto e a próxima cobertura fértil (Gonzalez de Bulnes et al., 1999). Esse método, além de permitir a identificação de situações de infertilidade ou esterilidade, e o seu precoce tratamento e recuperação, facultam também a opção de um descarte oportuno quando seja essa a

decisão mais aconselhável (Abreu et al., 2007). Assim, o diagnóstico da gestação é necessário para conhecer se realmente ocorreu concepção, caso contrário, deve-se corrigir tal situação antes que termine a temporada de acasalamento, facilitando o manejo do rebanho (Granados et al., 2006).

Um exato diagnóstico de gestação se torna fundamental também para assegurar a eficácia do manejo reprodutivo de um rebanho tanto leiteiro quanto de corte (Holmes et al., 2002). Dos diversos meios disponíveis para o diagnóstico de gestação em caprinos e ovinos, os que utilizam o princípio da ultrassonografia é que merecem destaque, pois além de serem não invasivos, aliam precocidade e acurácia (Lima et al., 2006).

A utilização da ultrassonografia tem permitido o diagnóstico de gestação em cabras entre 25 e 120 dias de gestação, sendo utilizada para tanto os métodos designados de Modo-A, sistema Doppler e o Modo-B em tempo real. Todos os três métodos podem ser usados em condições de campo. A precisão do diagnóstico, o tempo despendido para a realização do exame e a acurácia na determinação do número de fetos e sua idade variam entre as três técnicas e dependem da sensibilidade do equipamento usado, além da qualificação e experiência do profissional. Entretanto, independente do método a ser usado deve-se atentar para proceder a jejum hídrico e alimentar de, pelo menos, 12 horas (Haibel, 1990).

O diagnóstico de gestação através do Modo-A (Modo Amplitude) baseia-se na detecção de uma faixa fluida presente no útero. Ondas ultrassônicas são emitidas a partir de um transdutor manual colocado externamente na pele do abdômen e em direção ao útero. Estas ondas são refletidas entre os diferentes tecidos para o transdutor e convertidas em energia elétrica na forma de sinais audíveis ou luminosos. É considerado um método satisfatório, chegando a obter 96% de sensibilidade e 87,5% de especificidade em caprinos para uma idade fetal entre 50 a 120 dias (Karen et al., 2001). No entanto, vale ressaltar que uma bexiga urinária repleta, a hidrometra e a piometra podem levar a um falso positivo, assim como um resultado falso negativo pode ocorrer no início ou no final da gestação, devido à reduzida quantidade de fluido uterino em relação ao volume do tecido fetal (Freitas et al., 2004).

O dispositivo Doppler utiliza o princípio de Doppler para detectar os batimentos cardíacos fetais e de fluxo de sangue nos vasos uterinos e fetais (Karen et al., 2001). Lindahl (1971) relatou que a técnica

intrarretal com o uso do Doppler poderia ser utilizada pra se diagnosticar a gravidez, no início do segundo terço da gestação com uma precisão de 90% ou melhor. A utilização de um transdutor Doppler externo gerou quase 100% de precisão para diagnóstico de gravidez após 111 dias de gestação em ovelhas (Watt et al., 1984). No que diz respeito o uso do Doppler para se estimar idade gestacional em ovinos e caprinos, os dispositivos não tem sido utilizados com sucesso (Goddard & Russel, 1995).

O Modo-B, por sua vez, produz uma imagem bidimensional e móvel do útero, fluidos fetais, feto, placentomas e batimento cardíaco fetal (imagem em tempo real). Esta imagem é resultado da análise dos ecos que voltam até a sonda e a amplitude deste é proporcional à intensidade das ondas refletidas pelo órgão em questão. Os ecos são evidenciados na tela do aparelho por tonalidades que variam do preto (nenhuma reflexão: anecogenicidade) ao branco (grande reflexão: hiperecogenicidade), passando por toda gama do cinza (Mai, 2000). Os fluidos praticamente não refletem as ondas sonoras e são observados na tela com a cor preta (vesículas embrionárias ou bexiga repleta, por exemplo). Enquanto que os tecidos densos (ossos ou parede do útero, por exemplo) refletem uma grande proporção das ondas de som e são vistas na tela com a cor cinza claro ou branca (Lopes Júnior, 2009).

A técnica mais constantemente utilizada no diagnóstico de gestação por ultrassonografia em Modo-B consiste na transretal, que envolve a inserção de uma sonda de ultrassom fixa por um tubo extensor rígido. A utilização de gel entre o transdutor e uma proteção de plástico descartável, na qual seu uso seria de considerável importância, permitirá uma imagem de melhor qualidade (Neves, 2002), já que facilita o contato e elimina o ar entre o transdutor e a pele ou parede retal (Santos et al., 2004). O animal permanece em estação, no entanto, anterior ao exame, o reto deve ser esvaziado evitando que as fezes envolvam o transdutor, dificultando o contato deste com a parede do reto, o que pode levar a obtenção de uma imagem de má qualidade. A superfície de digitalização da sonda é posicionada em contato direto com a parede ventral do reto para permitir a visualização de estruturas no interior, ou cranial para a visualização da cavidade pélvica (Mueller, 2001). O transdutor deve ser avançado suavemente até que a bexiga torne-se visível no monitor, onde os cornos uterinos estão localizados em uma posição mais cranial. Todo o trato reprodutivo deve ser inspecionado movendo a sonda suavemente para trás e no sentido anti-horário. Às vezes se faz necessário empurrar manualmente o

abdômen do animal para cima, para obter o útero dentro da escala do transdutor (Amer, 2008).

O Modo- B oferece rapidez, segurança para o operador e para o animal, além de boa acurácia a partir do 40º dia, quando usado por via transabdominal, e entre o 24º e o 34º dia pós-cobertura ou IA quando usado por via transretal (Garcia et al., 1993). Esse método apresenta ainda como vantagens, uma alta precisão para determinar o número de fetos (entre 45 e 90 dias), a avaliação da viabilidade fetal, bem como a realização de diagnósticos de patologias uterinas (Dawson et al., 1994). Na via transabdominal, o animal também deve estar em estação e o transdutor é colocado contra a pele na região inguinal. Na ovelha, a ultrassonografia transcutânea pelo flanco é amplamente usado (Bratzlaff et al., 1993).

A data da primeira visualização das diferentes características do conceito é variável e os fatores mais importantes que determinam esta variação são a frequência do transdutor e a via de acesso (Kahn, 1994). As principais imagens ultrassonográficas que caracterizam uma gestação são a presença de líquido intra-uterino, visualização da vesícula embrionária, detecção de pelo menos um embrião, visualização dos batimentos cardíacos, identificação da membrana amniótica, visualização dos placentomas, diferenciação da cabeça e tronco, identificação do botão germinativo dos membros, movimentos do conceito, delimitação do cordão umbilical e visualização do globo ocular (Chalhoub & Ribeiro Filho, 2002).

Os placentomas em ovinos podem ser detectados por ultrassonografia transretal entre os dias 28 e 30 pós-cobertura, utilizando um transdutor linear de 5 MHz. Essas estruturas podem ser visualizadas como pequenas áreas ecogênicas na superfície do endométrio no início da gestação (Buckrell, 1988). Posteriormente, os placentomas são observados com a superfície côncava direcionadas para o lúmen uterino. A sua mensuração ultrassonográfica durante a gestação oferece um meio de determinar a idade gestacional (Doizé et al. 1997).

A partir de certo período, que corresponde ao segundo terço da gestação, a sensibilidade, especificidade, valor preditivo negativo e positivo para diagnóstico de gestação por ultrassom transretal são tipicamente acima de 90%, isso associado ao aumento da idade gestacional e frequência do transdutor, resultando em uma maior precisão (Hunnam et al., 2009).

Hunnam et al (2009) estudando meios de diagnóstico de gestação em vacas, observou que a ultrassonografia por via transcutânea foi eficiente na visualização do feto, placentomas, cordão umbilical, membranas fetais, bem como fluidos fetais. Estes mesmos autores utilizaram um transdutor de frequência 3,5MHz, produzindo imagens detalhadas do feto bovino e da anatomia do útero. Da mesma forma, estudos com ultrassonografia transcutânea em ovelhas, éguas e cervos tem usado transdutores de baixa frequência, entre 2 e 3,5 MHz. A área de superfície relativamente pequena e em forma de arco, na qual apresenta o transdutor convexo, em comparação com transdutores lineares, favorece uma melhoria na sua utilização em ultrassom transcutânea, facilitando o posicionamento sobre a pele e ao mesmo tempo sendo favorecido por um amplo campo de visão (Kahn et al., 2004). Segundo ACPA (2003), pode ser utilizado para caprinos transdutor de 5MHz, mas se o transdutor possuir uma frequência maior, cerca de 7,5MHz, o diagnóstico poderá realizar-se por via transretal a partir dos 25 dias após a fecundação. Santos et al (2007), utilizaram em seu experimento transdutores de 6,0 e 8,0 MHz e o diagnóstico gestacional, assim como o sexo dos fetos foram corretamente identificado.

#### **SEXAGEM FETAL NA ESPÉCIE CAPRINA POR USO DA ULTRASSONOGRAFIA**

A adoção da ultrassonografia na rotina do monitoramento reprodutivo dos pequenos ruminantes é uma realidade que precisa ser incorporada às atividades das propriedades tecnificadas em função do potencial do comércio de animais devidamente sexados (Reichenbach et al., 2004). Nesses animais, ao contrário do que ocorre com as grandes espécies, a sexagem fetal ainda e de uso restrito porque a acurácia de diagnóstico é limitada nos casos de gestação múltipla (Burstel, 2002), mesmo depois da realização de exames seriados (Oliveira et al., 2005).

Em pequenos ruminantes, a referida identificação pode contribuir para a confirmação e diagnóstico do sexo de fetos após a inseminação artificial com sêmen sexado (Johnson, 2000; Garner, 2001), depois da 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 deste meio de diagnóstico pode-se destacar sua importância para a produção animal por permitir um melhor

planejamento tanto para adquirir quanto para comercializar animais do próprio rebanho, podendo racionalizar produção e lucratividade (Santos et al., 2004).

A estrutura anatômica que precede o aparecimento do pênis, prepúcio, bolsa escrotal, vulva, tetas e clitóris é o tubérculo genital (TG) e a determinação de seu posicionamento, próximo á cauda ou imediatamente após o cordão umbilical, é o método mais precoce de definir o sexo fetal pela ultrassonografia (Reichenbach et al., 2004). Morfologicamente, segundo Bürstel (2002), o conceito ovino e caprino entre o 35º e o 40º dia de gestação é, do ponto de vista anatômico, sexualmente indefinido e ambivalente, apesar de embriões ovinos aos 25 dias de gestação já apresentarem, de acordo com Schnorr (1989), 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. Portanto, a partir deste período, a distância compreendida entre o ânus e o TG, será maior no macho do que na fêmea (Santos et al., 2005).

Ultrassonograficamente, o TG pode ser identificado como uma estrutura constituída de dois lóbulos alongados, com aparência semelhante a duas barras paralelas ovais que refletem de forma intensiva as ondas ultrassônicas que lhes são dirigidas (Curran et al., 1989). Segundo Azevedo & Oliveira (2007), dos planos de visualização estudados, o longitudinal ventral foi considerado o mais eficiente para sexar fetos tanto na espécie caprina quanto na ovina, uma vez que são adquiridas imagens do período inicial de migração do TG além da visualização de outras estruturas, como cordão umbilical, tetas, glândula mamária, prepúcio e bolsa escrotal.

Dentre os poucos trabalhos disponíveis na literatura sobre sexagem fetal nos pequenos ruminantes, ficou evidente existir diferença do período de migração do TG tanto entre espécies (Azevedo & Oliveira, 2007) quanto entre indivíduos de uma mesma ou de diferentes raças (Santos et al., 2005ab; Azevedo et al., 2009), e até mesmo, segundo Santos et al. (2005a), entre fetos provenientes de monta natural e de transferência de embriões congelados. Resultados semelhantes foram encontrados por Freitas Neto et al (2010), onde a sexagem fetal para fetos de acasalamento natural foi possível de ser realizada com até 5 dias de antecedência, quando comparado a

sexagem de fetos oriundos de embriões frescos e criopreservados.

Santos et al (2006) citam que por meio do acompanhamento diário da gestação em caprinos, o início da migração do TG em direção à região umbilical fetal foi possível ser identificado entre os dia 37 e 46. Esses achados corroboram os de Bürstel (2002) e Dias et al (2009), onde os autores comentam que nos pequenos ruminantes, a sexagem fetal pela ultrassonografia já é possível por volta do 35º- 40º dia. Todavia, recomenda a realização do exame entre o 50º e o 58º dia, podendo ser também efetuada até o 64º dia, mas com uma precisão diagnóstica inferior.

Particularmente nas fêmeas, o posicionamento da cauda pode interferir na visualização do TG (Nan et al., 2001). Para o diagnóstico de machos, pode-se também tomar como base, a presença do prepúcio imediatamente caudal ao cordão umbilical e/ou a presença da bolsa escrotal, geralmente de aparência triangular, entre os membros posteriores (Bürstel, 2002). Ainda é importante comentar que gestação múltipla é um fator limitante da eficiência da sexagem em consequência de ser normalmente impossível identificar o sexo de todos os fetos quantificados num único exame. Este fato compromete a viabilidade econômica da atividade ultrassonográfica em consequência da necessidade de repetir exames sem a devida segurança de que no próximo, o feto estará adequadamente posicionado para permitir a sexagem (Reichenbach et al., 2004).

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Finalmente, percebe-se que a ultrassonografia em tempo real é um método eficiente para se diagnosticar gestação precocemente na espécie caprina, assim como realizar a sexagem fetal pela visualização do TG, e pela identificação das estruturas relativas à genitália externa. Contudo, o acompanhamento ultrassonográfico gestacional, requer habilidade, paciência e experiência do operador, além de equipamento de ultrassom com excelente qualidade, contribuindo desta forma para a confiabilidade do exame.

## REFERÊNCIAS

Abreu D., Almeida J.C., Silva S., Azevedo J., Fontes P. & Simões J. 2007. Estimativa da idade fetal por ultrassonografia em cabras da raça Serrana. REDVET- Revista electrónica de Veterinaria. 8(2):78-96.

ACPA, Asociación Cubana de Producción Animal. 2003. Manual del Productor Caprino, Impreso.

Azevedo E.M.P., Santos M.H.B., Aguiar Filho C.R., Freitas Neto L.M., Bezerra F.Q.G., Neves J.P., Lima P.F. & Oliveira M.A.L. 2009. Migration time of the genital tubercle in caprine and ovine fetuses: Comparison between breeds, sexes and species. Acta Veterinaria Hungarica. 57(1).

Azevedo E.M.P. & Oliveira M.A.L. 2007. Utilização da ultrassonografia em ovinos e caprinos para diagnosticar a gestação, sexar fetos e prever a idade da gestação e o peso fetal ao nascimento. Medicina Veterinária. 1(1):109-110.

Bicudo S.D. O diagnóstico ultrassonográfico de gestação em ovinos. Capturado em 18 de outubro de 2007. Disponível em: <<http://www.fmvz.unesp.br/ovinos/repman3.htm>>.

Bretzlaff K., Edwards J., Forrest D. & Nuti L. 1993. Ultrasonographic determination of pregnancy in small ruminants. Vet Med. 88:12-24.

Buckrell B.C. 1988. Applications of ultrasonography in reproduction in sheep and goats. Theriogenology. 29(2):17-84.

Bürstel D. 2002. Untersuchungen zur intrauterinen Geschlechtsfeststellung bei Feten kleiner Wiederkäuer mittels Ultrasonographie. Dissertação de Doutorado, Institut für Reproduktionsmedizin, Tierärztliche Hochschule Hannover. 142f.

Bürstel D., Meinecke-Tillmann S. & Meinecke B. 2002. Ultrasonographic diagnosis of fetal sex in small ruminants bearing multiple fetuses. Vet Record. 151(21):635-636.

Calamari C.V., Ferrari S., Leinz,F.F., Rodrigues C.F.C., Bianchini D., Ferreira F. & Dias R.A. 2003. Avaliação de dois métodos de diagnóstico precoce de gestação Em ovelhas: ultrassonografia transretal e detector de prenhez para pequenos ruminantes (DPPR-80). Braz J vet Res anim Sci. 40(4).

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

Chalhoub, M. & Ribeiro Filho, A. de L. 2002. Diagnóstico de gestação em pequenos ruminantes por ultra-sonografia de tempo real. In: Congresso Norte/ Nordeste de Reprodução Animal, I, Recife. Anais... Rev. Bras. Reprod. Anim., Supl. 5., p.27-30, 2002.

Cruz J.F. & Freitas V.J.F. 2001. A ultrassonografia em tempo real na reprodução de caprinos. Ciência Animal. 11(1):53-61.

Curran S., Kastelic J.P. & Ginther, O. J. 1989. Determining sex of the bovine fetus by ultrasonic assesment of the relative location of the genital tubercle. Animal Reproduction Science. 19(3-4):217-227.

Dawson L.J., Sahl T., Hart S.P., Detweiller G., Gipson T.A., The T.H., Henry G.A. & Bahr R.J. 1994. Determination of fetal numbers in Alpine does by real-time ultrasonography. Small Ruminant Research. 14:221-225.

Dias L.M.K., Souza J. C., Assis R.M. & Raymundo C. M. 2009. Pregnancy diagnosis, fetal quantification and gender estimation by ultra-sonography in ewes. Ciência e Agrotecnologia. 33(3).

Doize F., Vaillancourt D., Carabin H. & Belanger, D. 1997. Determination of gestational age in sheep and goats using transrectal ultrasonographic measurement of placentomes. Theriogenology. 48:449-460.

- Freitas Neto L.M., Santos M.H.B., Aguiar Filho C.R., Almeida-Irmão J.M., Santos Junior E.R., Caldas E.L.C., Lima P.F. & Oliveira M.A.L. 2010. Reliability of ultrasound for early sexing of goat fetuses derived from natural mating and from fresh, frozen and vitrified embryo transfer. *Rev. Reproduction, Fertility and Development*. 22(2).
- Freitas V.J.F., Lopes-Junior E.S., Rondina D., Salmito-Vanderley C.S.B., Salles H.O., Simplício A.A., Baril G. & Saumande J. 2004. Puberty in Anglo-Nubian and Saanen female kids raised in the semi-arid of North-eastern Brazil. *Small Ruminant Research*. 53:167-172.
- García A., Neary M.K., Kelly G.R. & Pierson R.A. 1993. Accuracy of ultrasonography in early pregnancy diagnosis in the ewe. *Theriogenology*. 39: 847-861.
- Garner D.L. 2001. Sex-sorting mammalian sperm: concept to application in animals. *Journal of Andrology*. 22:519-526.
- González De Bulnes A.G., Moreno J.S. & Sebastian A.L. 1999. Diagnóstico de gestación y determinación del número de embriones. *Ovis*. 61:35-40.
- Granados L.B.C., Dias A.J.B. & Sales M.P. 2006. Aspectos gerais da reprodução de caprinos e ovinos. 1º ed. Campos dos Goytacazes – Projeto PROEX/UENF.
- Gutierrez-Adan A. et al. 1997. Ovine-specific Y-chromosome RAPD-SCAR marker for embryo sexing. *Animal Genetic*. 28:135-138.
- Haibel G.K. 1990. Use of ultrasonography in the reproductive management of sheep and goats herds. *Vet. Clin. North. Am*. 1:597-613.
- Holmes C.W., Brookes I.M., Garrick DJ ET AL. 2002. Milk production from pasture: principles and practices. Massey University. 1(1).
- Hunnam J.C., Parkinson T.J. & McDougall S. 2009. Transcutaneous ultrasound over the right flank to diagnose mid-to-late-pregnancy in the dairy cow. *Australian Veterinary Journal*. 87(8).
- Johnson L.A. 2000. Sexing mammalian sperm for production of offspring: the state-of-the-art. *Animal Reproduction Science*. 60: 61:93-107.
- Kahn W. 1994. *Veterinary reproductive ultrasonography*. 1ª edição. London: Mosbywfe, 256p.
- Kahn W., Volkman D. & Kenney R. 2004. *Veterinary reproductive ultrasonography*. Schlutersche Verlagsgesellschaft MBH & Co, Hannover.
- Karen A., Kovács P., Becjers J.F. & Szenci O. 2001. Review article: Pregnancy diagnosis in sheep: Review of the most practical methods. *Acta Vet. Brno*. 70:115-126.
- Lima R.F., Albuquerque F.H.M.A.R., Borges I., Henry J. M., Rogerio C.P., Silva T.P.G., Macedo Junior G.L., Silva A.G.M., Carmo M.P. & Ferreira M.I.C. 2006. Eficiência do uso do ultrassom para quantificação fetal e diagnóstico de gestação em ovelhas Santa Inês. *Zootec* 2006. 22 a 26 de maio de 2006. Pernambuco.
- Lindahl I.L. 1971. Pregnancy diagnosis in the ewe by intrarectal Doppler. *J. Anim. Sci*. 32: 922-925.
- Lopes Junior E.S. 2009. Manejo Reprodutivo de ovinos e caprinos. Capturado em 22 de fevereiro de 2009. Disponível em <http://www.sheepembryo.com.br/files/artigos/122.pdf>.
- Mai W. 2000. A imagem ecográfica: formação e qualidade. *A Hora Veterinária*. 19:51- 56.
- Mueller K. 2001. Comparison of enzyme-immunoassay of oestrone sulphate in milk with rectal palpation, ultrasonography and farmer's observations for pregnancy diagnosis in seasonal dairy herds in New Zealand. Dissertação de Mestrado, Palmerston North, Massey University, New Zealand.
- Nan D., Van Oord H.A. & Taverne M.A.M. 2001. 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, 6:70.
- Neves J.P. 2002. *Biotécnicas aplicadas à reprodução animal*. 2ªed. Varela, São Paulo, p. 8.
- Oliveira M.A.L. et al. 2005. Early identification of fetal sex and determination of the genital tubercle migration's day in dairy goats using ultrasound. *Acta Scientiae Veterinariae*. 32:459.
- Reichenbach H.D. et al. 2004. Sexagem fetal na cabra e na ovelha por ultrassonografia. 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.15. p.117-136.
- Russel A.J.F. & Goddard P.J. 1995: Small ruminant reproductive ultrasonography. In: Goddard P.G.: *Veterinary Ultrasonography*. CAB International, Wallingford, Oxon OX108DE, UK, p. 257-274.
- Santos M.H.B., Moraes E.P.B.X., Moura R.T.D., Lima P.F., Reichenbach H.D. & Oliveira M.A.L. 2005. Identificação precoce do sexo fetal em pequenos ruminantes através da ultrassonografia. *Acta Scientiae Veterinariae*. 3(1):131-134.
- Santos M.H.B. et al. 2006. Sexagem fetal em ovelhas Santa Inês por ultrassonografia. *Ciência Rural*. 36(2):573-578.
- Santos M.H.B. et al. 2005a. Early identification of the fetal sex in small ruminants by ultrasonography. *Acta Scientiae Veterinariae*. 32:131-134.
- Santos M.H.B. et al. 2005b. Fetal sexing by ultrasonography in ewe of Santa Inês breed. *Acta Scientiae Veterinariae*. 32:247.
- Santos M.H.B. et al. 2005. Utilização da ultrassonografia na sexagem de fetos da raça Anglo-Nubiana pela identificação do tubérculo genital e da genitália externa. *Vet e Zootec*. 12(1/2):52-60.
- Santos N.H.B., Rabelo M.C., Aguiar-Filho C.R., Dezzoti C.H., Reichenbach H.D., Neves J.P., Lima P.F. & Oliveira M.A.L. 2007. Accuracy of early fetal sex determination by ultrasonic assessment in goats. *Veterinary Science*. 83(2):251-255.
- Santos M.H.B., Oliveira M.A.L. & Lima, P.F. 2004. Diagnóstico de gestação na cabra e na ovelha. Editora Varela, São Paulo, p. 145.
- Schnorr B. 1989. *Embryologie der Haustiere: Ein Kurzlehrbuch*. Stuttgart: Verlag Enke. p.165-180.
- Yamada M.L.A. & Kozicki L.E. 1998. Contribuição ao estudo do diagnóstico de gestação em *Capra hircus*, através da histologia e citologia do epitélio vaginal. *Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci*. 35(6):246-251.
- Watt B.R., Andreson G.A. & Campell I.P. 1984. A Comparison of six methods used for detecting pregnancy in sheep. *Aust. Vet. J*. 61: 377-382.