

## DETERMINAÇÃO ULTRASSONOGRÁFICA DO SEXO FETAL EM ÉGUAS DA RAÇA CRIOULA ENTRE O 59° E O 126° DIAS DE GESTAÇÃO, EM CONDIÇÕES DE CAMPO

*(Ultrasonographic determination of fetal sex in Crioulo mares between 59th and 126th day of gestation, under field conditions)*

Eduarda Maciel Busato<sup>1</sup>, Ana Cláudia Machinski Rangel de Abreu<sup>1</sup>, Tácia Gomes Bergstein-Galan<sup>1</sup>, Natália Santana Siqueira de Lara<sup>1</sup>, Felipe Augusto Beckert Marcondes<sup>2</sup>, Luiz Ernandes Kozicki<sup>3</sup>, Romildo Romualdo Weiss<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Universidade Federal do Paraná, PR, Brasil, <sup>2</sup>Faculdade Evangélica do Paraná, PR, Brasil, <sup>3</sup>Pontifícia Universidade Católica do Paraná, PR, Brasil.

<sup>1</sup>Autor para correspondência: eduarda.busato@gmail.com

**RESUMO** - O presente trabalho teve como objetivo comparar a eficácia da sexagem fetal pelo tubérculo genital com a baseada na avaliação das gônadas fetais, realizadas em condições de campo, em equinos. Foram utilizadas 27 éguas da raça Crioula, as quais foram submetidas aos referidos exames de sexagem fetal por ultrassonografia transretal em dois momentos distintos. Foi realizada uma única avaliação por técnica em cada animal e o sexo dos potros foi confirmado ao nascimento. A sexagem pela identificação e posicionamento do tubérculo genital ocorreu entre 59 e 65 dias de gestação, resultando em uma taxa de diagnósticos possíveis de 51,9% (14/27) e acurácia de 85,7% (12/14). A sexagem baseada na avaliação das gônadas fetais foi realizada entre 117 e 126 dias de gestação, sendo a taxa de diagnósticos possíveis 88,9% (24/27) e a acurácia 83,3% (20/24). A taxa de diagnósticos possíveis por cada técnica e acurácia dos exames durante as duas janelas diagnósticas foram comparadas estatisticamente utilizando o teste do qui-quadrado, com nível de significância determinado para  $P < 0,05$ . A acurácia de ambas as técnicas não apresentou diferença ( $P = 0,85$ ), no entanto, a taxa de diagnósticos possíveis foi superior pela técnica baseada nas gônadas fetais ( $P = 0,003$ ). Conclui-se que, em condições de campo (não otimizadas), a sexagem fetal pela avaliação das gônadas fetais apresentou melhor eficácia, tendo como principal vantagem a maior taxa de diagnósticos possíveis.

**Palavras-chave:** equino; reprodução; sexagem fetal; tubérculo genital; ultrassonografia.

**ABSTRACT** - The aim of this study was to compare the efficacy of fetal sexing by genital tubercle with that based on the evaluation of fetal gonads performed in field conditions in horses. A total of 27 Crioulo breed mares were used, which were submitted to the referred examinations of fetal sexing by transrectal ultrasonography at two different times. A single technique evaluation was performed on each animal and the sex of the foals was confirmed at birth. The sexing by the identification and positioning of the genital tubercle occurred between 59 and 65 days of gestation, resulting in a possible diagnosis rate of 51.9% (14/27) and accuracy of 85.7% (12/14). The sexing based on the evaluation of fetal gonads was performed between 117 and 126 days of gestation, with the possible diagnosis rate being 88.9% (24/27) and the accuracy 83.3% (20/24). The rate of possible diagnoses for each technique and accuracy of the tests during the two diagnostic windows were compared statistically using the chi-square test, with a significance level determined for  $P$

<0.05. The accuracy of both techniques did not present difference ( $P = 0.85$ ), however, the possible diagnosis rate was higher by the technique based on the fetal gonads ( $P = 0.003$ ). It was concluded that, under field conditions (not optimized), fetal sexing through the evaluation of fetal gonads presented better efficacy, with the main advantage being the higher rate of possible diagnoses.

**Keywords** - equine; fetal sexing; genital tubercle; reproduction; ultrasonography.

## INTRODUÇÃO

A sexagem fetal consiste no exame utilizado para diagnosticar o sexo do feto antes do nascimento (*in utero*) e pode ser realizada por diferentes técnicas, de acordo com a idade gestacional e espécie em questão. Em equinos, os métodos mais empregados a campo utilizam a ultrassonografia transretal e são baseados na identificação e diferenciação de estruturas anatômicas do feto, de acordo com a fase de desenvolvimento em que esse se encontra.

A primeira técnica pode ser realizada entre os 59 e 68 dias de gestação pela identificação e posicionamento do tubérculo genital, estrutura que dá origem ao pênis, nos machos, e ao clitóris, nas fêmeas. Esse método foi descrito por Curran e Ginther, em 1989, e é o mesmo utilizado para a sexagem fetal em bovinos (Curran *et al.*, 1989). A segunda técnica, geralmente é realizada entre os dias 100 e 150 de gestação e se baseia em identificação e diferenciação das gônadas fetais e genitália externa (Livini, 2010; Bucca, 2005; Renaudin *et al.*, 1997; Curran e Ginther, 1993).

A sexagem fetal é pouco difundida na rotina da reprodução equina. A dificuldade na localização do tubérculo genital é um dos obstáculos encontrados, além disso, a técnica baseada na sua identificação possui um período ótimo para execução restrito (curta janela diagnóstica). Por esses motivos, alguns profissionais optam apenas pelo diagnóstico mais tardio, realizado pela avaliação das gônadas e genitália externa, pois esse apresenta maior facilidade na execução e janela diagnóstica mais ampla (Carmo *et al.*, 2008; Bucca, 2005).

A acurácia dos diagnósticos pode variar de acordo com as condições do ambiente, experiência do médico veterinário e características dos animais

avaliados (éguas tolerantes ou não a exames retais prolongados). Para a obtenção de bons resultados, preconiza-se a otimização destas condições, recomendando-se a realização dos exames em locais com luminosidade reduzida, equipamento de ultrassonografia de alta resolução, localizado próximo ao examinador e ao nível da visão (Curran e Ginther, 1991, 1989). Na rotina da reprodução a campo, estas condições nem sempre são possíveis, podendo refletir em menores taxas de diagnóstico e acurácia dos exames.

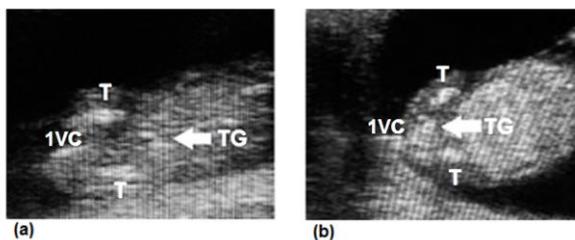
O presente trabalho teve como objetivo comparar as taxas de diagnóstico e a acurácia das referidas técnicas de sexagem fetal em equinos, em condições de campo (uma avaliação por técnica em cada animal e ambiente não otimizado).

## MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizadas 27 éguas da raça Crioula, com idade média de  $10,3 \pm 4,9$  anos, alojadas em cabanha localizada no município de Palmeira, Paraná, Brasil. As éguas foram cobertas ou inseminadas por cinco (5) diferentes garanhões de mesma raça, sendo registradas as datas das ovulações como referência para o cálculo do período gestacional. As avaliações ultrassonográficas foram realizadas por um único profissional com experiência em reprodução equina. Para tais exames foi utilizado um equipamento de ultrassonografia SonoScape A5V (SonoScape Co. Ltd., Shenzhen, China), equipado com transdutor linear de 5MHz de frequência. Todos os exames foram realizados em condições de campo: ambiente coberto, sem controle da luminosidade externa e equipamento levemente abaixo do campo de visão.

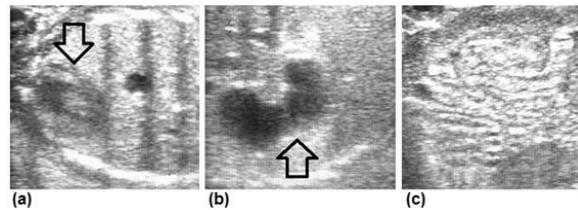
O primeiro exame ultrassonográfico realizado para identificação do sexo fetal ocorreu entre

os dias 59 e 65 de gestação, sendo efetuada apenas uma avaliação por égua durante esta janela diagnóstica. A partir da ultrassonografia transretal, buscou-se identificar o tubérculo genital (TG) dos fetos e determinar sua localização relativa aos membros pélvicos, primeira vértebra coccígea e cordão umbilical (úraco). Quando o TG era detectado cranialmente aos membros pélvicos (próximo ao cordão umbilical), o feto era considerado macho (Figura 1a) e quando identificado caudalmente aos membros pélvicos, próximo à primeira vértebra coccígea do feto, esse era considerado fêmea (Figura 1b).



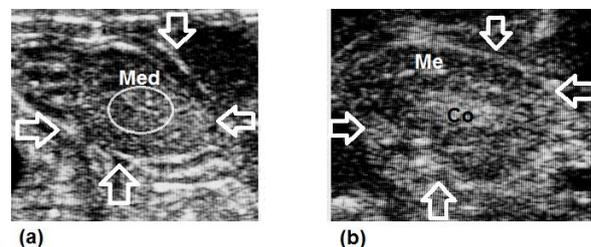
**Figura 1** – Imagens ultrassonográficas de fetos equinos aos 60 dias de gestação. (a) feto macho (tubérculo genital cranialmente aos membros pélvicos); (b) feto fêmea (tubérculo genital caudalmente aos membros pélvicos, próximo à primeira vértebra coccígea, no centro do triângulo formado pelas duas tíbias e a cauda). T - Tíbia, 1VC – primeira vértebra coccígea, TG - Tubérculo Genital.

O segundo exame ocorreu entre os dias 117 e 126 de gestação, sendo realizada apenas uma avaliação por égua nesta janela diagnóstica. Durante este exame, o profissional, sem ter acesso aos resultados do primeiro, buscou identificar e diferenciar as gônadas fetais. Para isto, primeiramente localizava-se a cabeça e tórax/coração do feto (Figura 2a) e então se movia o transdutor em direção ao abdômen, onde se observava o estômago (Figura 2b) e, em seguida, as alças intestinais (Figura 2c). Na região caudal do abdômen, próximas às alças intestinais, buscavam-se as gônadas fetais.



**Figura 2** – Imagens ultrassonográficas de feto equino aos 120 dias de gestação. (a) tórax fetal, com destaque para o coração (seta); (b) estômago (estrutura anecóica no abdômen, com formato de feijão - seta); (c) alças intestinais no interior do abdômen (imagem hiperecólica).

Quando as gônadas apresentavam ecogenicidade homogênea e uma fina linha ecogênica central eram interpretadas como testículos, sendo o feto considerado macho (Figura 3a); quando as gônadas apresentavam a periferia ecogênica e o centro hiperecólico, delimitados por uma linha homogênea, eram interpretadas como ovários e o feto era considerado fêmea (Figura 3b). A idade gestacional e os resultados de todos os exames foram anotados e o sexo dos potros foi confirmado ao nascimento pela visualização da genitália externa. A taxa de diagnósticos possíveis por cada técnica e acurácia dos exames durante as duas janelas diagnósticas e de acordo com o sexo fetal foram comparadas estatisticamente utilizando o teste do qui-quadrado, com nível de significância determinado para  $P < 0,05$ .



**Figura 3** – Imagens ultrassonográficas das gônadas fetais de equinos aos 120 dias de gestação. (a) gônada fetal masculina (testículo - setas) com o parênquima homogêneo e uma fina linha ecogênica central (Med – mediastino testicular); (b) gônada fetal feminina (ovário – setas) com as camadas medular (Me) e cortical (Co) bem delimitadas.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Das 27 éguas utilizadas no experimento, 21 (77,8%) pariram potros do sexo feminino e 6 (22,2%), potros do sexo masculino. O sexo fetal pôde ser diagnosticado em 14 (51,9%) dos 27 fetos pela técnica do tubérculo genital (Tabela 1). Dentre as dificuldades encontradas na execução do exame, as quais impossibilitaram a realização do diagnóstico em 13 fetos (48,1%), destacam-se o temperamento inquieto de algumas éguas e a movimentação excessiva dos fetos ou mau posicionamento desses no útero. Nas éguas inquietas, pouco tolerantes ao exame retal, interrompia-se a avaliação quando estas demonstravam sinais de desconforto. Embora alguns autores recomendem a sedação dos animais, com acepromazina e xilazina ou detomidina (Turner, 2013), optou-se por não realizá-la devido aos possíveis efeitos sobre os fetos, visto que os sedativos utilizados em equinos atravessam a barreira placentária (Hubbell, 2011).

A grande quantidade de líquido alantoideano no útero da égua prenhe, quando comparada à espécie bovina, torna a sexagem fetal pelo tubérculo genital mais difícil. Além disso, os fetos equinos apresentam alta mobilidade e longo cordão umbilical, dificultando a obtenção de imagens ultrassonográficas adequadas para o diagnóstico (Carmo *et al.*, 2008). No presente trabalho, os fetos posicionados nas porções mais ventrais do útero tiveram seu acesso dificultado. Fetos com movimentação excessiva também prejudicaram o diagnóstico, visto que a identificação do tubérculo genital era mais difícil, ou impossível, nesses.

A acurácia da sexagem pelo tubérculo genital no presente estudo foi de 85,7% (12 dos 14 diagnósticos foram corretos) (Tabela 1). Tal valor foi semelhante aos 90,1% relatados por Taveiros *et al.* (2008) e aos 84,4%

obtidos por Merkt *et al.* (1999), apesar de estes últimos terem realizado seus estudos em condições otimizadas (melhores que as condições de campo do presente trabalho). Mari *et al.* (2002) também trabalharam em condições de campo, utilizando um equipamento Aloka SSD-500 (Tokyo, Japão) com transdutor linear de 5MHz de frequência. No entanto, estes pesquisadores obtiveram 65% de acurácia, o que pode ser justificado pela janela diagnóstica utilizada (54 a 89 dias de gestação), a qual não condiz com a janela ótima (59 a 68 dias). Valores de acurácia superiores, próximos a 100%, podem ser obtidos em exames realizados por profissionais experientes e em condições otimizadas. Nestas condições, Curran e Ginther obtiveram 97,6% de acurácia em estudo realizado em 1989 e 97,3% em 1991. Livini (2010) relatou sua experiência profissional com sexagem fetal durante dois (2) anos de trabalho a campo, nos quais obteve uma acurácia de 97,6% nos exames realizados.

Dentre os 10 fetos diagnosticados como fêmeas pela técnica do tubérculo genital, nove (9) se confirmaram ao nascimento, resultando em uma acurácia de 90% para o sexo feminino. Pela mesma técnica, três (3) dos quatro (4) fetos diagnosticados como machos foram confirmados ao nascimento, sendo assim, a acurácia desse exame para o sexo masculino foi de 75% (Tabela 1). A menor acurácia para o sexo masculino difere dos dados encontrados na literatura, que relatam maiores erros na determinação do sexo em fêmeas (Mari *et al.*, 2002; Merkt *et al.*, 1999). No entanto, esta diferença não foi significativa ( $P=0,47$ ) e, provavelmente, deve-se ao pequeno número de fetos machos resultantes das gestações avaliadas (quatro (4) machos em 14 fetos diagnosticados), uma vez que não foi notada maior dificuldade

relacionada a um ou outro sexo durante a realização dos exames.

Tabela 1 – Resultados da sexagem fetal realizada pela identificação do tubérculo genital (TG) e pela diferenciação das gônadas fetais em éguas da raça Crioula, de acordo com o sexo do feto ao nascimento.

Técnica	Total de diagnósticos	Fêmeas nascidas	Acurácia fêmeas	Machos nascidos	Acurácia machos	Acurácia total
TG	14	10	9/10 (90%)	4	3/4 (75%)	12/14 (85,7%)
Gônadas	24	18	17/18 (94,4%)*	6	3/6 (50%)*	20/24 (83,3%)

\*Diferença estatisticamente significativa ( $P < 0,05$ ).

Pela diferenciação das gônadas fetais, o diagnóstico foi possível em 24 (88,9%) das 27 éguas, valor superior aos 51,9% obtidos pela técnica do tubérculo genital ( $P=0,003$ ; Tabela 1) e semelhantes aos 88% (300 diagnósticos possíveis em 341 exames) obtidos por Livini (2010) e aos 85% referidos por Holder (2000). Os presentes resultados confirmam o descrito por Carmo et al. (2008), que relataram maior facilidade na sexagem pela avaliação das gônadas fetais. Em estudo conduzido por Resende et al. (2014), 86 éguas foram examinadas entre 90 e 180 dias de gestação e a taxa de diagnósticos possíveis foi de 81,4%, semelhante à obtida no presente trabalho. Segundo os referidos autores, a utilização de equipamentos de ultrassonografia em modo Doppler amplia a eficiência da técnica (98,8% de diagnósticos possíveis), principalmente em gestações avançadas (150 a 180 dias). Com o emprego da ultrassonografia em modo Doppler observa-se o plexo pampiniforme e a veia testicular, nos machos, e a vascularização entre as camadas medular e cortical do ovário nas fêmeas (Resende et al., 2014). Apesar de facilitar a execução da sexagem fetal, a maioria dos equipamentos de ultrassonografia utilizada na rotina da reprodução não possui modo Doppler, sendo os exames realizados em modo B.

A raça e o tamanho das éguas podem influenciar no sucesso ou fracasso do exame. Animais grandes apresentam o útero gravídico mais

profundo e, conseqüentemente, menos acessível pelo exame retal (Carmo et al., 2008). Apesar dos cavalos da raça Crioula não possuírem grande tamanho, encontrou-se maior dificuldade nas éguas mais velhas e pluríparas, pois essas possuíam úteros posicionados mais ventralmente no abdômen. Essa é uma característica comum em éguas pluríparas, devido ao alongamento do mesométrio ocasionado pelo peso dos fetos no decorrer das diversas gestações (Brin et al., 2010).

A acurácia da sexagem pelas gônadas fetais foi de 83,3% (20/24). Esse valor não diferiu ( $P=0,85$ ) do obtido pela identificação do tubérculo genital (85,7%) (12/14) (Tabela 1), entretanto, na prática notou-se maior facilidade na execução do exame mais tardio. Estudo semelhante foi realizado por Taveiros et al. (2008), no entanto, esses pesquisadores tinham como referência, para o diagnóstico entre o 90° e o 150° dias, a identificação do prepúcio, nos machos, e do clitóris e glândula mamária, nas fêmeas. Em seu trabalho, os autores relataram maior acurácia no exame realizado com base na identificação das estruturas da genitália externa (93,7%) quando comparado ao exame baseado no tubérculo genital (90,1%). Os melhores resultados obtidos pelos pesquisadores, quando comparados aos dados do presente estudo, podem ser justificados pela realização de várias avaliações para cada feto (exames em dias alternados durante toda a janela diagnóstica). No presente experimento foi realizado apenas um exame por técnica em cada feto.

A acurácia da sexagem para fêmeas, pela técnica da diferenciação das gônadas fetais, foi de 94,4% (17 de 18 diagnósticos corretos), valor superior ( $P=0,01$ ) aos 50% obtidos para os machos (três (3) de seis (6) diagnósticos corretos) (Tabela 1).

Diferentemente do encontrado nos exames pela técnica do tubérculo genital, pela avaliação das gônadas fetais se notou maior dificuldade no diagnóstico dos machos. Segundo Livini (2010), os ovários são facilmente reconhecíveis nas fêmeas, porém nos machos, estruturas como pênis e prepúcio são mais facilmente identificadas do que os testículos. Considerando que no presente estudo as avaliações foram focadas apenas na avaliação gonadal, o sucesso superior no diagnóstico de fêmeas se justifica.

### CONCLUSÕES

De acordo com os resultados do presente estudo, conclui-se que a sexagem fetal, em condições de campo, foi mais eficaz quando realizada pela técnica da avaliação das gônadas fetais comparada à identificação do tubérculo genital. Visto que a acurácia obtida em ambas as técnicas foi semelhante, a principal vantagem do exame baseado nas gônadas consiste na maior taxa de diagnósticos possíveis. Para melhorar a acurácia da sexagem de machos, recomenda-se utilizar a identificação da genitália externa em associação ao exame das gônadas.

### NOTAS INFORMATIVAS

O experimento encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de Outubro, de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovado pela comissão de ética no uso de animais do setor de ciências agrárias da Universidade Federal do Paraná (protocolo número 117/2016).

### REFERENCIAS

BRIN, P.; SCHUMACHER, J.; SCHUMACHER, J. Elevating the uterus (uteropexy) of five mares by

laparoscopically imbricating the mesometrium. **Equine Veterinary Journal**, v. 42, n. 8, p. 675–679, 2010.

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

CARMO, M.T.; OLIVEIRA, J.V.; ALMEIDA, M.T. et al. Avaliação ultrasonográfica da gônada fetal em equinos: uma nova alternativa para sexagem. **Anais IX Conferência Anual ABRAVEQ**, 2008.

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

CURRAN, S.; GINTHER, O. J. Ultrasonic determination of fetal gender in horses and cattle under farm conditions. **Theriogenology**, v. 36, n. 5, p. 809–814, 1991.

CURRAN, S.; GINTHER, O. J. Ultrasonic fetal gender diagnoses during months 5 to 11 in mares. **Theriogenology**, v. 40, p. 1127–1135, 1993.

CURRAN, S.; KASTELIC, J. P.; GINTHER, O. J. Determining Sex of the Bovine Fetus by Ultrasonic Assessment of the Relative Location of the Genital Tubercle. **Animal Reproduction Science**, v. 19, p. 217–227, 1989.

HOLDER, R.D. Fetal sex determination in the mare between 55 and 150 days gestation. **Proceedings of the Annual Convention of the AAEP**, v. 46, p. 321–324, 2000.

HUBBELL, J. A. E. Sedation and Anesthesia of the Pregnant Mare. In: MCKINNON, A. O. et al., editors. **Equine Reproduction**. 2nd. ed. Philadelphia: Wiley-Blackwell, p. 55–60, 2011.

LIVINI, M. Determination of Fetal Gender by Transrectal Ultrasound Examination: Field's Experience. **AAEP Proceedings**, v. 56, p. 323–327, 2010.

- MARI, G.; CASTAGNETTI, C.; BELLUZZI, S. Equine fetal sex determination using a single ultrasonic examination under farm conditions. **Theriogenology**, v. 58, n. 6, p. 1237–1243, 2002.
- MERKT, H.; MOURA, J. C.; JÖCHLE, W. Gender determination in equine fetuses between days 50 and 90 of pregnancy. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 19, n. 2, p. 90–94, 1999.
- RENAUDIN, C. D.; GILLIS, C. L.; TARANTAL, A. F. Transabdominal Combined with Transrectal Ultrasonographic Determination of Equine Fetal Gender During Midgestation. **Proceedings of the Annual Convention of the AAEP**, v. 43, p. 252-255, 1997.
- RESENDE, H.L.; CARMO, M.T.; NETO, C.R. et al. Determination of equine fetal sex by Doppler ultrasonography of the gonads. **Equine Veterinary Journal**, v. 46, p. 756-758, 2014.
- TAVEIROS, A.W.; NETO, L.M.F.; FILHO, C.R.A. et al. Utilização do ultrassom para sexar fetos equinos da raça Mangalarga Marchador pela visualização do tubérculo genital e da genitália. **Medicina Veterinária**, v. 2, n. 4, p. 35-40, 2008.
- TURNER, R.M. Fetal Sexing for the Practitioner. **Proceedings of the AAEP Annual Resort Symposium**, p. 119-124, 2013.