

# Utilização da ultrassonografia na reprodução de fêmeas bovinas

Ériklis Nogueira

Gisele Zoccal Mingoti

Alessandra Nicacio

Juliana Corrêa Borges Silva

Carlos Antônio Carvalho Fernandes

Walvonvitis Baes Rodrigues

Heitor Romero Marques Júnior

## Aplicação da ultrassonografia em bovinos

A aplicação da ultrassonografia ou ecografia em bovinos e equinos iniciou-se na década de 1980 e foi um dos passos mais importantes para o estudo e a compreensão dos eventos que ocorrem durante o ciclo estral e a gestação (GINTHER, 2014). A ultrassonografia tem diversas aplicações como método de diagnóstico em bovinos, especialmente no exame do aparelho reprodutor de fêmeas, com a vantagem de não ser uma técnica invasiva. A técnica permite visualizar as estruturas anatômicas de maneira bem semelhante à imagem real, obtida com um corte. É, ademais, um procedimento relativamente simples e seguro, tanto para o animal quanto para o operador. Seu uso pode, porém, ser limitado pela falta de qualificação de mão de obra, que precisa ser muito bem treinada, e pelo custo do equipamento – consequentemente, pela razão custo-benefício de cada exame. Graças à rápida difusão da técnica entre os profissionais da área e à boa oferta de aparelhos no mercado, aliadas à disponibilidade de profissionais aptos a realizar os exames, esse cenário vem mudando, resultando em crescente adesão ao seu uso nos sistemas de produção.

Como pode ser aplicada no campo e fornecer diagnóstico imediato, a ultrassonografia reprodutiva, na maioria dos casos, vem se popularizando. E tem outras aplicações, como: a) presta-se a avaliar questões associadas à ciclicidade e à puberdade, e/ou a diagnosticar precocemente a prenhez ao final da estação de monta, ou depois de protocolos de sincronização de cio e inseminação artificial, cooperando, assim, com o manejo de propriedades rurais; e b) vem sendo utilizada em programas de produção de embrião, por meio da utilização de aspiração folicular, da avaliação de receptoras para a transferência de embrião, do diagnóstico precoce de gestação, da avaliação de perdas gestacionais e da sexagem embrionária.

Este capítulo discorre sobre o funcionamento do ultrassom. Para tanto, as informações são complementadas com imagens, que mostram a gama de aplicações dessa técnica na reprodução bovina, particularmente na reprodução de fêmeas.

## Princípios básicos da formação de imagens

A ultrassonografia baseia-se no princípio do uso de ondas sonoras de alta frequência, medidas em megahertz (1 MHz = 1.000.000 de ondas de som por segundo), que são enviadas e refletidas para produzir imagens dos tecidos. As ondas acústicas do ultrassom são ondas de pressão, geradas pela vibração (pela compressão e descompressão alternadas) de cristais presentes no transdutor do equipamento. Esses cristais possuem propriedades piezo-elétricas; assim, quando submetidos a correntes elétricas alternadas, produzem ondas sonoras em resposta à vibração (PIERSON et al., 1988a, 1988b).

Os aparelhos de ultrassom são compostos pelo monitor, também chamado de “unidade de formação de imagens” ou “console”, e pelo transdutor ou probe. O transdutor é formado por um cabo de fibra ótica e possui, em sua extremidade, os cristais, com propriedade de conversão de impulsos elétricos em ondas sonoras. Essas ondas têm a propriedade de se propagarem pelos tecidos orgânicos de forma distinta, já que os tecidos

apresentam diferentes resistências acústicas. Dessa forma, à medida que as ondas atravessam um determinado corpo, parte é refletida na forma de um eco e parte prossegue interagindo com os tecidos mais profundos. A densidade e a organização de um tecido determinam que a proporção da onda ultrassonográfica seja refletida ou continue se propagando. Essas particularidades definem a característica ultrassonográfica gerada pelo tecido.

A intensidade e a frequência das ondas que retornam ao transdutor são proporcionais à distância e à consistência dos tecidos por onde passam. As imagens são geradas em tonalidades distintas de cinza, variando do branco ao preto. Os líquidos (folículos, âmnios) são observados na tela como imagens negras, pois não refletem as ondas ultrassonográficas, e são denominados “não ecogênicos” (“anecogênicos” ou “anecoicos”). Tecidos densos, como os ossos, refletem quase a totalidade das ondas e são denominados “hiperecogênicos” (ou “hiperecoicos”), apresentando-se como imagens brancas. As outras estruturas apresentam diferentes tonalidades de cinza, dependendo da densidade.

As ondas refletidas pelos tecidos são reconvertidas pelos cristais do transdutor em pulsos elétricos. No console, os pulsos são amplificados, compensados para diferenças de intensidade e utilizados por um receptor na geração de uma imagem bidimensional. O tempo entre a emissão do pulso elétrico e o retorno do eco é utilizado no cálculo da distância entre a estrutura e o transdutor. Imagens de tecidos mais distantes do transdutor são apresentadas na porção inferior da tela, dependendo do ajuste do aparelho (PIERSON et al., 1988b).

As ondas que atravessam os tecidos são geralmente muito delgadas (2 mm); portanto, as imagens produzidas equivalem a um corte histológico. Os limites entre os tecidos adjacentes de densidades diferentes são denominados de “interfaces”, que podem ser formadas por diferenças muito pequenas de intensidade. As interfaces permitem delimitar os órgãos em estudo, enquanto as densidades diferentes possibilitam fazer a avaliação

das variações normais ou anormais dos órgãos. Tecidos de diferentes resistências acústicas, quando em contato, produzem interfaces que permitem diferenciá-los (FISSORE et al., 1986).

A imagem ultrassonográfica representa, de forma aproximada, uma “fatia” do tecido em questão. As diferenças relativas ao tipo e à resolução dos aparelhos de ultrassom são resultantes da variação na disposição dos cristais no transdutor, da frequência da onda produzida e do processamento dos impulsos elétricos que retornam ao console. O tipo de transdutor a ser utilizado depende da aplicação principal, do tamanho das estruturas a serem avaliadas e de sua localização em relação à posição do transdutor. Para a ultrassonografia reprodutiva em grandes animais, os transdutores mais utilizados são os lineares de 5 MHz a 9 MHz, para a abordagem transretal. Transdutores intravaginais (convexos) também são utilizados rotineiramente para a realização de aspiração folicular. O formato da extremidade dos transdutores e o posicionamento dos cristais são adequados ao tipo de utilização principal de cada transdutor (GINTHER, 1986).

## Tipos de tecnologia empregada nos aparelhos

Os quatro modos mais comumente usados em equipamentos de ultrassonografia são:

- Modo A (modo amplitude): É uma imagem unidimensional das amplitudes de eco para várias profundidades, mostrada como uma linha gráfica. Alguns instrumentos para mensuração da gordura subcutânea ou para diagnóstico de prenhez utilizam esse modo. A maioria dos equipamentos possui essa função, porém é pouco empregada na rotina de avaliação.
- Modo B (modo de brilho): Essa é a imagem padrão de ultrassom, que apresenta uma imagem bidimensional representante de uma

fatia do tecido. É demonstrada como pontos individuais (pixels) com variações na tonalidade cinza. É o método mais utilizado.

- **Modo M (modo de movimento):** Esse modo, que está disponível em alguns aparelhos de uso em medicina veterinária, avalia estruturas em movimento (ex.: coração pulsante); por isso, é mais utilizado em avaliações cardiocirculatórias. A diferença na profundidade de reflexão é mostrada como uma linha gráfica.
- **Doppler:** Indica, numa escala de cores, variações de velocidade e direção de movimentos nos tecidos. Costuma ser utilizado para detectar variações de fluxo sanguíneo. Esse tema será abordado no Capítulo 3.

Atualmente, a maioria dos aparelhos trabalha com duas ou mais tecnologias, de forma associada ou não. Antes de adquirir um aparelho, deve-se ter em mente que, embora exista grande potencial de aplicações, na maioria das vezes um único aparelho não é capaz de executar de forma satisfatória todas as atividades desejadas, principalmente sem a complementação com alguns acessórios. Assim, para se decidir sobre o equipamento a ser adquirido, é preciso avaliar se atendem às seguintes características:

- **Resolução da imagem,** primeira característica a ser considerada.
- **Tipo de transdutor,** que pode ser linear, convexo ou setorial, ou ter outros formatos, conforme a aplicação.
- **Frequência de onda,** que vai depender da facilidade de acesso e do tamanho das estruturas que se pretende analisar.
- **Características do software:** é preciso avaliar se o software permite congelar a imagem, medir estruturas, aplicar zoom, amplificar e duplicar imagens, gravar imagens e vídeos, entre outros.
- **Tipos de uso,** que pode ser fixo ou móvel.

- Fonte de energia própria e auxiliar (baterias internas ou conexões com baterias externas).
- Tamanho da tela.
- Garantia, assistência técnica, peças de reposição e outros.
- Custo.

## Transdutores ou probes

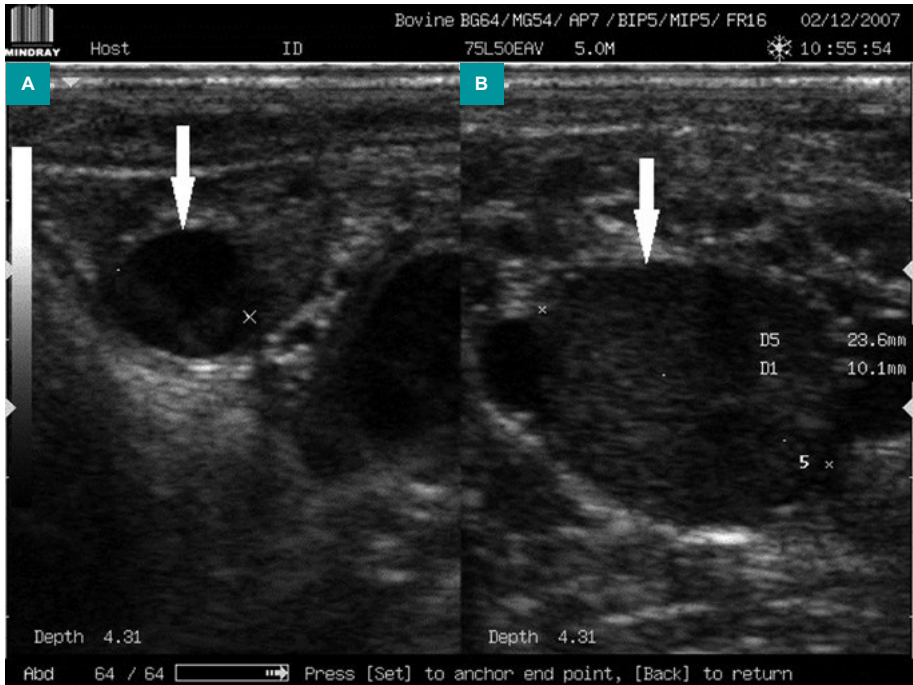
Este acessório é responsável pela emissão das ondas e pelo recebimento das ondas refletidas, que geram a imagem. Deve sempre se adequar à principal forma de utilização do aparelho, para garantir o máximo de desempenho do equipamento. É a parte do aparelho que merece mais cuidado, pois é frágil e de custo elevado.

Há vários tipos de transdutor, entre os quais se destacam os lineares, os convexos e os setoriais.

**Lineares:** Neles, os cristais são arranjados em fila, e a imagem resultante é tipicamente retangular. Esse tipo de transdutor é apropriado a avaliações reprodutivas, feitas através da via transretal (Figura 1).

**Convexos:** São apropriados à visualização externa (ex.: através da parede abdominal) ou do tórax (entre costelas). Fornecem imagem triangular (no formato de um pedaço de pizza) e são bastante utilizados nos procedimentos de aspiração folicular em bovinos (Figura 2) ou mesmo de avaliação reprodutiva de pequenos ruminantes.

**Setoriais:** Possuem sondas com uma cabeça móvel e são particularmente adequados à visualização por via transvaginal. Têm várias aplicações, entre as quais a aspiração folicular, com imagens feitas por aquela via. Fornecem uma imagem triangular (no formato de um pedaço de pizza). Sua aplicação vem diminuindo sensivelmente, pois que estão sendo substituídos por transdutores convexos.



**Figura 1.** Ovários: a seta indica os folículos (A); a seta indica o corpo lúteo (B). Imagens geradas por aparelho Mindray DP 20, com probe linear de 5,0 MHz.



**Figura 2.** Ovário de novilha com múltiplos folículos no segundo dia do ciclo estral. Imagem gerada por aparelho Pie Medical-Falcon 100, com probe convexa de 7,5 MHz.

## Frequência de onda

O tipo de transdutor a ser utilizado depende da finalidade principal da avaliação e do tamanho e da localização das estruturas a serem avaliadas em relação à posição do transdutor. A maioria dos equipamentos está disponível com transdutores de 3,5 MHz, 5,0 MHz e 7,5 MHz ou 9,0 MHz (ou frequências próximas, como 6,0 MHz e 8,0 MHz). Quanto mais alta a frequência, maior a resolução (habilidade em reconhecer dois objetos separados), porém menor é a penetração. Então, com um transdutor de 7,5 MHz, é possível detectar objetos de diâmetro muito pequeno (como de 1 mm), porém a penetração pode estar limitada a aproximadamente 15 cm. Por sua vez, com um transdutor de 3,5 MHz, apenas objetos de 5 mm de diâmetro podem ser detectados, mas a penetração de 40 cm é possível (GINTHER, 1995, 1998). Equipamentos mais modernos podem ter resolução superior numa mesma frequência.

O poder de resolução – que é a menor distância observável que separa dois pontos – e a clareza da imagem são resultados do tipo de transdutor utilizado e da qualidade da máquina ou do monitor. Geralmente, para a avaliação do trato reprodutivo feminino, não é necessária grande penetração. Os transdutores de 5,0 MHz e 7,5 MHz são ideais para examinar ovários e útero, bem como para diagnosticar gestação precoce e sexagem fetal. Em casos de prenhez avançada, transdutores de 3,5 MHz são os mais apropriados, pois o crescente tamanho fetal resulta na movimentação anteroventral do útero, o que dificulta a visualização do feto (acesso difícil pela via retal). Transdutores intravaginais (convexos) de 5,0 MHz a 7,5 MHz também são utilizados rotineiramente para a realização de aspiração folicular.

Transdutores de baixa frequência (3,5 MHz) também são comumente usados para a avaliação de carcaça (ver Capítulo 6) e também podem ser utilizados para a visualização transabdominal do trato reprodutivo, para a detecção de estádios mais avançados de prenhez em bovinos, função que, aliás, é pouco utilizada.



## Artefatos e outras características da imagem formada

Durante a formação da imagem, normalmente algumas características são observadas, sendo elas (GINTHER, 1986):

- Impedância acústica: É a resistência dos tecidos à propagação das ondas sonoras.
- Reflexão: É a proporção de ondas sonoras que retornam ao transdutor. A reflexão é máxima quando a interface é perpendicular ao transdutor.
- Absorção: É a capacidade de os tecidos capturarem a energia das ondas sonoras, que tipicamente aumentam a temperatura tecidual. No exame ultrassonográfico, a quantidade de energia presente nas ondas é muito baixa e com efeitos biológicos mínimos, em exames de rotina.

Além das características citadas, outros artefatos podem ocorrer, os quais estão descritos a seguir (GINTHER, 1986):

- Atenuação: É o progressivo enfraquecimento das ondas sonoras ao longo de sua passagem pelos tecidos (Figura 3).



**Figura 3.** Atenuação de onda ultrassonográfica (seta). Imagem gerada por aparelho Mindray DP 20, com probe linear de 7,5 MHz.

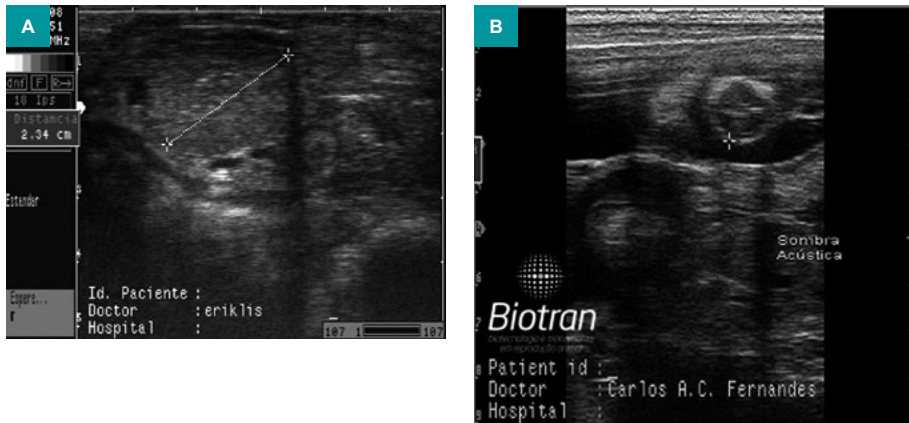
- Interfaces teciduais: São junções de tecidos que possuem diferentes densidades (portanto, diferentes impedâncias acústicas). Essas interfaces produzem frequentemente uma linha distinta, que claramente define os limites entre diferentes tecidos ou órgãos adjacentes (Figura 4).



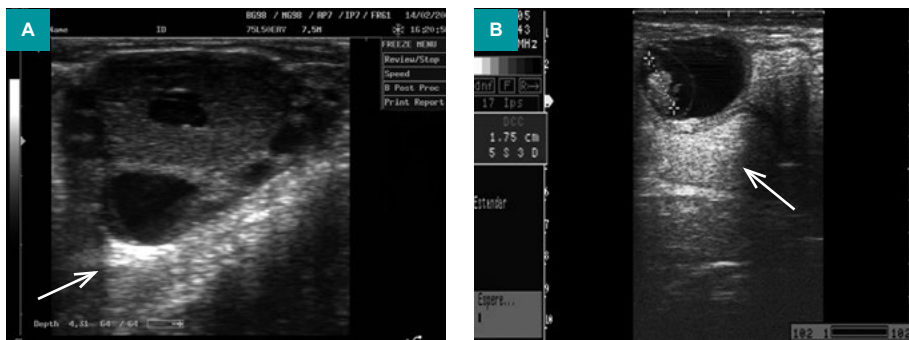
**Figura 4.** Interface tecidual (seta). Imagem gerada por aparelho Mindray M5, com probe linear de 7,5 MHz.

- Sombreamento (ou sombra acústica): É o fenômeno causado por bloqueio ou desvio dos feixes sonoros, devido, por exemplo, a tecido denso, como o osso (Figura 5).
- Intensificação (ou transmissão direta): É a transmissão acentuada das ondas sonoras através de fluidos, resultando em ecos mais brilhantes sob a estrutura (Figura 6).
- Reverberação: É o fenômeno que ocorre quando um eco salta entre duas interfaces fortes, até exaurir os pulsos de ultrassom. Em consequência, há uma série de linhas ecodensas, paralelas umas às outras, a uma mesma distância de separação, até que os pulsos de ultrassom sejam exauridos (Figura 7).

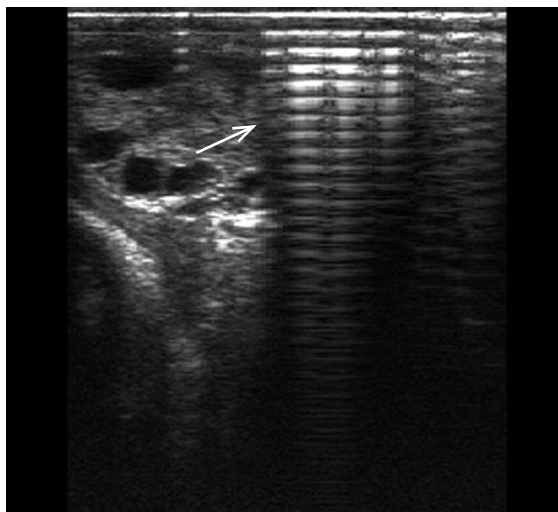
- Refração: É a angulação (desvio) das ondas sonoras quando cruzam interfaces não perpendiculares à onda (similar à luz entrando na água). Isso pode resultar em sombras abaixo de estruturas curvas (ex.: abaixo de um folículo ovariano) (Figura 8).



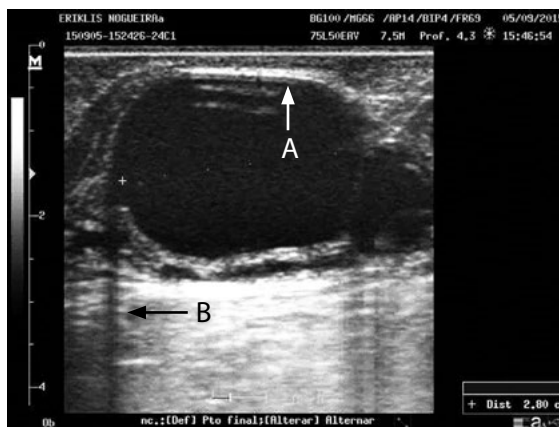
**Figura 5.** Sombreamento: ao lado de corpo lúteo (A); abaixo de feto (B). Imagens geradas por aparelho Pie Medical-Falcon 100, com probe linear de 8,0 MHz.



**Figura 6.** Intensificação da imagem: seta mostra a intensificação da imagem abaixo do folículo ovariano (A); seta mostra a intensificação da imagem abaixo de útero gestante (B). Imagens geradas pelos aparelhos Mindray DP 20 (A), com probe linear de 7,5 MHz, e Pie Medical-Falcon 100 (B), com probe linear de 6,0 MHz.



**Figura 7.** Reverberação na imagem (seta). Imagem gerada por aparelho Pie Medical-Falcon 100, com probe linear de 8,0 MHz.



**Figura 8.** Cisto folicular, apresentando refletor especular (A) e refração (B). Imagem gerada por aparelho Mindray DP 20, com probe linear de 7,5 MHz.

- Dispersão: É um fenômeno que ocorre quando uma onda sonora encontra uma superfície irregular ou menor que o comprimento de onda do ultrassom.
- Refletor especular: É uma linha ecodensa, paralela à face do transdutor. É produzido quando o feixe ultrassonográfico incide sobre

uma interface macia, mais larga que o feixe e paralela ao transdutor. Refletores especulares são comumente vistos em imagens reprodutivas (ex.: endométrio uterino, topo do folículo ovariano) (Figura 8).

- Refletor não especular: É uma linha ecodensa, paralela à face do transdutor. Ocorre quando uma interface é irregular ou mais estreita que o pulso, o seja, quando uma onda volta para a direção de onde veio, ao ser refletida por essa interface.

## Avaliação do aparelho reprodutor feminino

A técnica de ultrassonografia transretal tem múltiplas aplicações na avaliação morfológica e funcional do aparelho reprodutor feminino em bovinos. O uso do ultrassom possibilitou grandes avanços no estudo da fisiologia ovariana, particularmente na caracterização do padrão de crescimento folicular durante a puberdade, o diestro, a gestação inicial, o puerpério e sob estimulação hormonal. O desenvolvimento, a manutenção e a regressão luteal também podem ser monitorados em todas essas fases. A seguir, serão descritas as principais aplicações do ultrassom na reprodução bovina, bem como a técnica de exploração de cada parte do trato reprodutivo e suas particularidades.

### Técnica de exploração e avaliação do útero

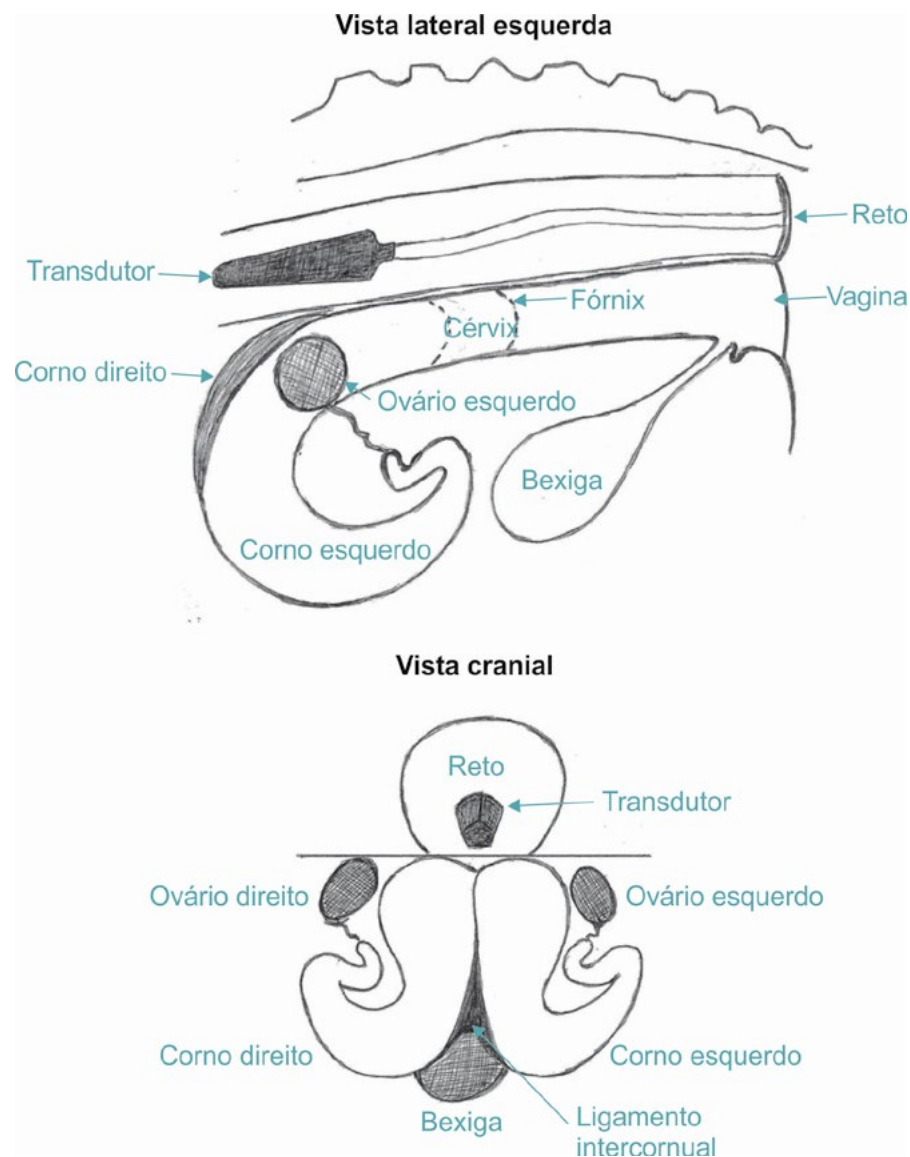
Para garantir um eficiente exame de ultrassom na vaca, o animal deve estar bem contido e o aparelho de ultrassom deve estar colocado a uma distância segura, posicionado preferencialmente em local oposto ao braço do operador e na altura dos seus olhos. O reto do animal deverá ser evacuado antes da introdução do transdutor; por vezes, convém fazer uma exploração manual preliminar da topografia do trato reprodutivo antes de se dar início ao exame ultrassonográfico. A habilidade para examinar úteros

não prenhes é essencial para o diagnóstico precoce da prenhez e exame do trato reprodutivo de forma geral. Deve-se ajustar a posição do transdutor para que seja obtida uma boa imagem do corno uterino. A visão linear do corno é mais útil em seções sagitais, pois seções angulares são mais difíceis de interpretar. Já as seções transversais podem auxiliar a diagnosticar conteúdos sob a luz de um determinado órgão.

Geralmente, o transdutor é posicionado dorsalmente ao corno uterino ou aproximadamente na linha média, dirigido ventrolateralmente. Porém, o transdutor também pode ser posicionado de maneira extremamente lateral e dirigido para a linha média. Para a realização de um exame sistemático dos cornos uterinos, recomenda-se iniciar pela cérvix e progredir distalmente, ao longo de cada um dos cornos uterinos (Figura 9).

A cérvix aparece como uma estrutura ecodensa irregular, sendo um bom ponto de referência (Figura 10). Localizado cranialmente à cérvix, o útero avança para a frente e, então, curva-se ventralmente (primeira curvatura). Segue caudal e dorsalmente (segunda curvatura) e, em seguida, cranialmente. Podem ser obtidos vários “cortes” dos cornos em uma mesma imagem, graças à sua disposição. Em geral, o corpo uterino e a porção proximal dos cornos são os de mais fácil visualização, aumentando-se a dificuldade conforme se progride distalmente.

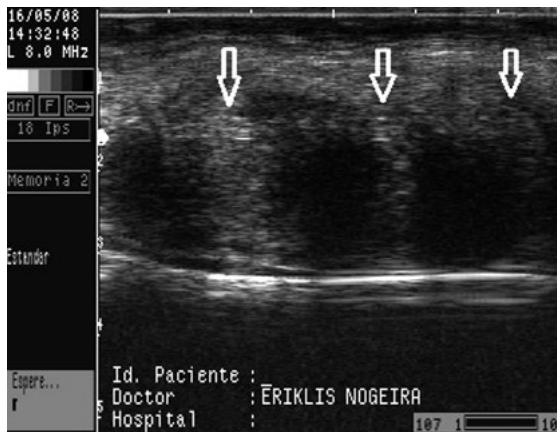
A aparência ultrassonográfica do útero e das estruturas presentes sobre os ovários ajuda a determinar o estágio do ciclo estral. O enovelamento dos cornos uterinos é máximo durante a metade do diestro e mínimo durante o estro. O volume de fluidos intrauterinos começa a aumentar 3 a 4 dias antes do estro, e atinge o máximo, por volta do estro, e então declina até o terceiro dia do ciclo estral. Se um animal estiver em estro, o acúmulo de líquido no útero poderá ser confundido com a fase inicial de gestação, o que poderá ser evitado realizando-se a avaliação dos ovários, pois, na fase de estro, o corpo lúteo não estará presente (Figura 11). Ademais, na maioria dos casos, durante o cio, é encontrado líquido em ambos os



**Figura 9.** Aparelho reprodutor bovino, demonstrando a utilização de sonda transretal para avaliação ginecológica (vista lateral e cranial).

Ilustração: Neimar Corrêa Severo

cornos, ao passo que, na gestação inicial, o acúmulo de líquidos fetais é encontrado em apenas um corno. Somente após o dia 32 da gestação é que a vesícula embrionária se estenderá até o corno uterino contralateral; a partir de então, poderá ser vista em ambos os cornos.



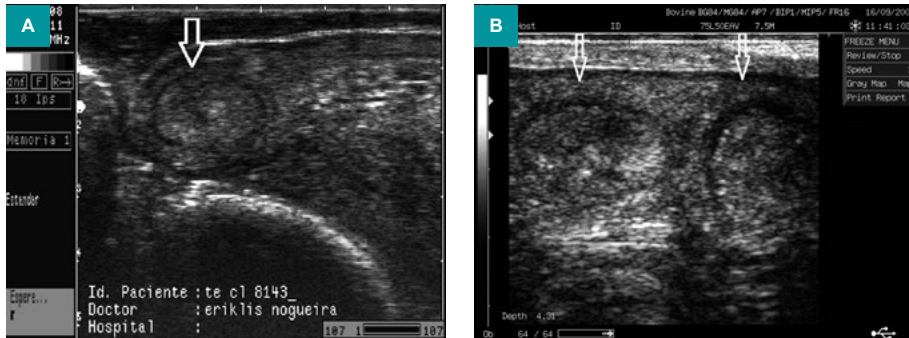
**Figura 10.** Cérvix bovina com visualização dos anéis cervicais (setas). Imagem gerada com aparelho Pie Medical-Falcon 100, com probe linear de 8,0 MHz.



**Figura 11.** Útero de vaca não gestante em fase de proestro, com pequena quantidade de líquido (seta). Ao lado, observa-se o foliculo pré-ovulatório. Imagem gerada por aparelho Minday DP 20, com probe linear de 7,5 MHz.

A ecotextura uterina é relativamente uniforme durante o diestro (Figura 12), mas torna-se muito mais variável próximo ao momento do estro (Figura 11).





**Figura 12.** Cornos uterinos não gestantes, em fase de diestro, em cortes transversais (setas). Imagens geradas pelos aparelhos Pie Medical-Falcon 100 (A), com probe linear de 8,0 MHz, e Minday DP 20 (B), com probe linear de 7,5 MHz.

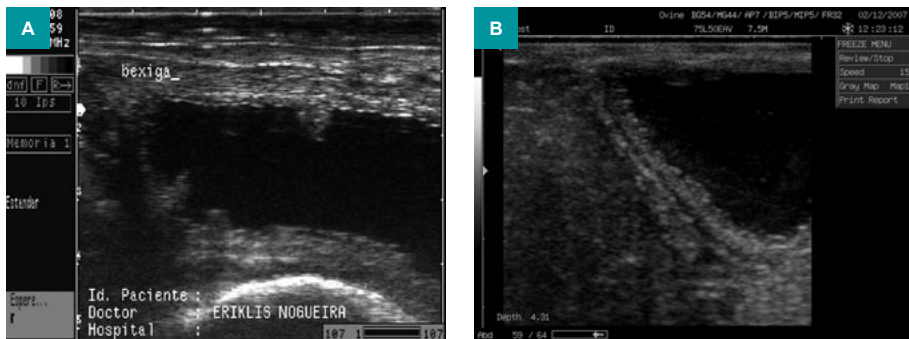
Em casos de metrite ou piometra, os fluidos intrauterinos apresentam graus distintos de ecodensidade, variando de um aspecto floculento até um intensamente branco. Pelo contrário, a imagem do fluido intrauterino fisiológico encontrado no momento do estro ou durante a prenhez é não ecoica (preta) (Figura 11).

A bexiga aparece em um exame de ultrassom como uma estrutura anecoica, com variações de tamanho e aparência de sua parede, dependendo da quantidade de urina retida (Figura 13). Com a bexiga cheia, a maior parte do campo aparece como uma imagem preta; mas, estando o órgão relativamente vazio, a mucosa pode ser visualizada como uma superfície hipoeicoica enrugada, no contorno do órgão. A bexiga pode servir de ponto de referência para o exame ginecológico, mas pode confundir o operador inexperiente em relação a gestações iniciais. Um operador experiente deve ser capaz de identificar a bexiga e eliminar sua imagem da avaliação do trato reprodutivo.

## Ovários

Os ovários são estruturas fáceis de serem avaliadas e podem até mesmo ser o ponto de referência durante o exame. São verificadas

principalmente as estruturas funcionais, como folículos e corpos lúteos, porém o estroma ovariano produz imagem com ecotextura mista de sinais hipo- e hiperecoicos, dependendo do estado fisiológico do órgão.

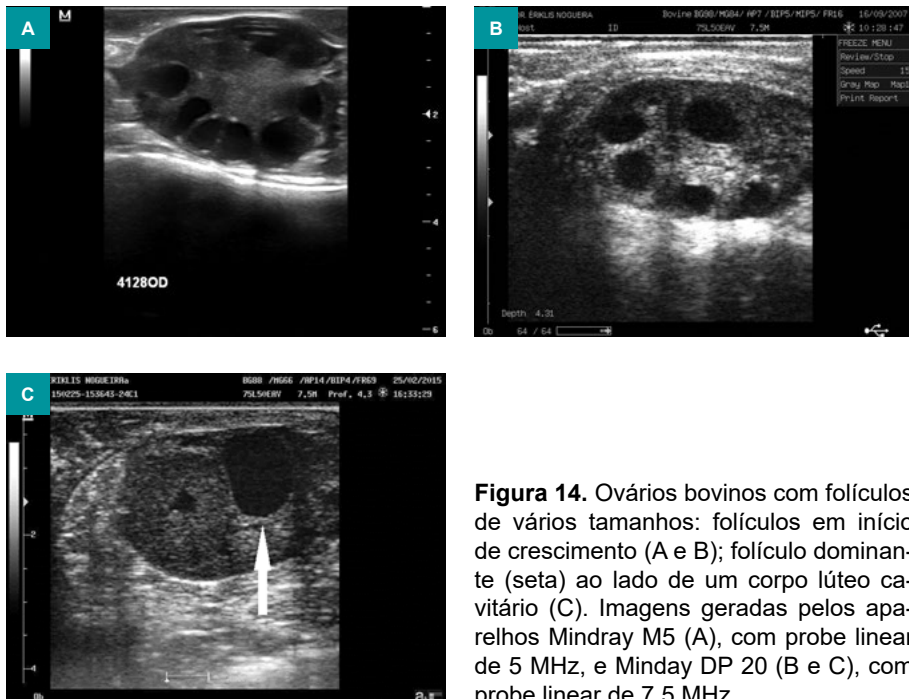


**Figura 13.** Bexiga urinária da espécie bovina, repleta de urina. Imagens geradas pelos aparelhos Pie Medical-Falcon 100 (A), com probe linear de 8,0 MHz, e Minday DP 20 (B), com probe linear de 7,5 MHz.

Os folículos ovarianos aparecem como estruturas anecoicas (em preto), geralmente com a borda delgada e bem definida (Figura 14). Os folículos podem parecer irregulares por causa da compressão, por outras estruturas ovarianas, e dois folículos próximos podem parecer como sendo um só, porém um exame minucioso permitirá a detecção de uma linha ecodensa (em branco), que representa as paredes foliculares. O congelamento da imagem permite determinar o diâmetro de um folículo no seu máximo tamanho, podendo-se também realizar a mensuração da altura e da largura para calcular a média entre elas ou a área. Quando a borda superior de um folículo se apresenta difusa, a redução da pressão para baixo sobre o transdutor (até que haja pressão suficiente apenas para manter contato com a mucosa retal) pode reduzir ou eliminar esse artefato (VIANA et al., 2004).

A avaliação ultrassonográfica de folículos de vários tamanhos apresenta boa correlação com a sua inspeção visual após dissecação (Tabela 1), segundo relatado por Pierson e Ginther (1987). A identificação de

folículos no limite de resolução do equipamento pode, porém, estar sujeita a erros, pois esses podem ser confundidos com veias e artérias ovarianas (Figura 15). A individualização e o monitoramento dos folículos também podem ser comprometidos em ovários que possuam grande população folicular, o que pode causar sub- ou superestimação do número real de folículos. Na prática, essa diferença de estimativa não é significativa e não compromete as avaliações. Por sua vez, folículos em fase final de desenvolvimento, com maior volume, tendem a sofrer maior efeito da compressão de estruturas adjacentes em seu formato e, por isso, aparecem frequentemente ovalados ou deformados. Nesses casos, a mensuração dos folículos deve ser feita pela média entre sua maior e menor dimensão. O efeito da compressão é particularmente visível em ovários durante o tratamento para superovulação, nos quais existe um grande número de folículos em fase final de desenvolvimento (VIANA et al., 2004) (Figura 16).



**Figura 14.** Ovários bovinos com folículos de vários tamanhos: folículos em início de crescimento (A e B); folículo dominante (seta) ao lado de um corpo lúteo cavitário (C). Imagens geradas pelos aparelhos Mindray M5 (A), com probe linear de 5 MHz, e Minday DP 20 (B e C), com probe linear de 7,5 MHz.

**Tabela 1.** Avaliação da população folicular por ultrassonografia ou por exame *post mortem*.

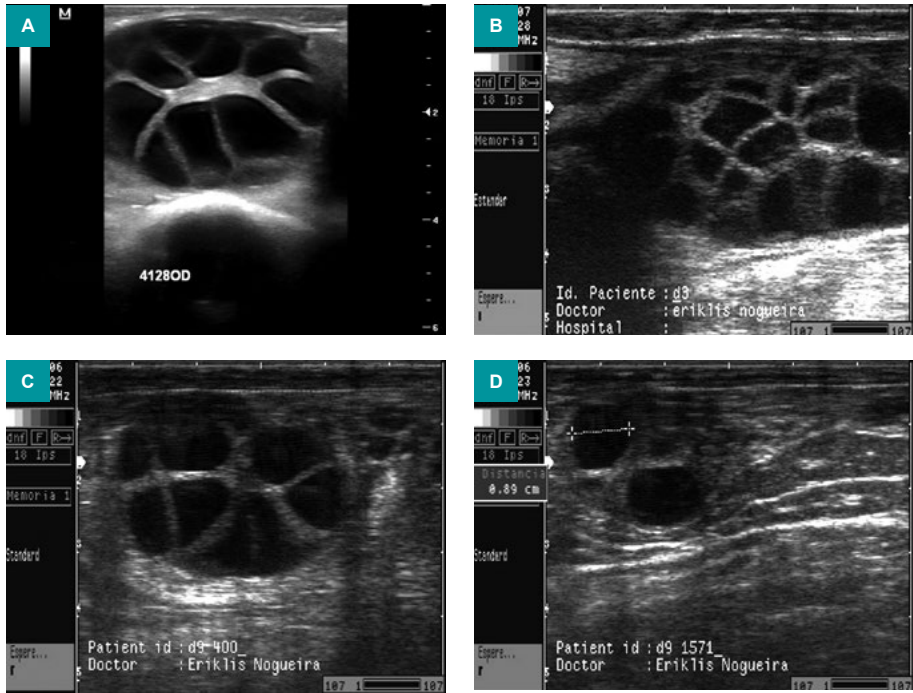
Tamanho de folículos	Ultrassom	Histologia	Correlação
De 2 mm a 3,9 mm	16,4 ± 0,7	15,5 ± 0,8	0,90
De 4 mm a 6,9 mm	5,4 ± 0,4	5,4 ± 0,4	0,80
De 7 mm a 10,9 mm	1,6 ± 0,2	1,6 ± 0,2	0,89
≥ 11 mm	0,6 ± 0,1	0,7 ± 0,1	0,85
Total de folículos ≥ 2 mm	21,8 ± 0,9	20,8 ± 0,4	0,92
Maior folículo	10,6 ± 0,6	10,6 ± 0,6	0,97

Fonte: Pierson e Ginther (1987).



**Figura 15.** Vasos sanguíneos próximos ao ovário (setas). Imagem gerada por aparelho Minday DP 20, com probe linear de 7,5 MHz.

Recentemente, alguns estudos têm avaliado a contagem folicular antral (CFA) e suas relações com a fertilidade de vacas. Mesmo considerando que o número de folículos antrais é altamente variável entre fêmeas bovinas, existe alta repetibilidade no mesmo animal. A seleção de doadoras baseada na CFA tem sido considerada uma importante estratégia graças à alta correlação entre o número de folículos antrais e a produção de embriões (in vivo e in vitro), que tem sido observada (IRELAND et al., 2011). A CFA, utilizando-se a ultrassonografia, pode ser feita em qualquer estágio do ciclo estral das fêmeas bovinas adultas (BURNS et al., 2005; SILVA-SANTOS et al., 2014). E a mensuração de apenas um dos ovários parece ser suficiente



**Figura 16.** Ovários de vacas superovuladas com FSH, apresentando múltiplos folículos e diferentes populações foliculares. Imagens geradas pelos aparelhos Mindray M5 (A), com probe linear de 5,0 MHz, e Pie Medical-Falcon 100 (B, C e D), com probe linear de 8,0 MHz.

para classificar doadoras com alta, média ou baixa população folicular (OLIVEIRA JUNIOR et al., 2015). No entanto, apesar de ser um forte critério para a seleção reprodutiva de fêmeas *Bos taurus*, resultados contraditórios foram observados sobre a CFA em *Bos indicus*. Existem resultados que indicam melhor eficiência reprodutiva de animais com baixa CFA, e outros que indicam que as fêmeas com média CFA são mais eficazes, e também que maior eficiência reprodutiva pode ser observada em fêmeas Zebu de alta CFA (MOROTTI et al., 2015). Em outro estudo com *Bos indicus* (Nelore), observou-se correlação positiva com a produção de embriões in vitro, mas não com a taxa de concepção em fêmeas submetidas à inseminação artificial em tempo fixo (MOROTTI et al., 2017).

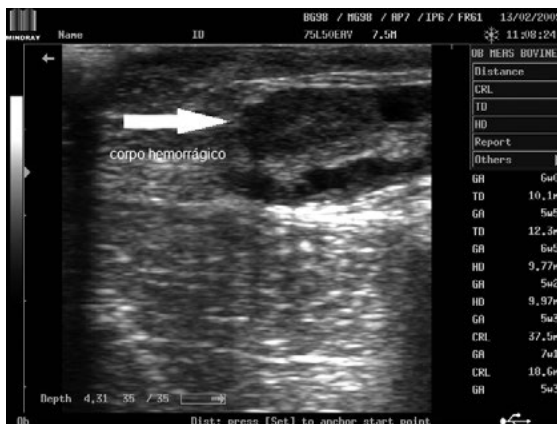
Além disso, a determinação dos níveis de hormônio antimullerino (AMH) circulante e CFA em bovinos pode ser útil para identificar animais que provavelmente teriam respostas superovulatórias superiores aos tratamentos com gonadotrofinas ou que seriam os melhores doadores de oócitos para a produção *in vitro* de embriões (Pive), mas não se pode afirmar que esses parâmetros possam prever maior eficiência reprodutiva (BARUSELLI et al., 2015).

Especial atenção deve ser dada aos vasos sanguíneos ováricos (artérias e veias), pois eles podem ser confundidos com folículos pequenos ou medianos. As veias são vistas entrando caudalmente no ovário, sendo visualizadas como duas ou três estruturas redondas anecoicas, com 2 mm a 5 mm de diâmetro (Figura 15). Alterando-se o plano de avaliação, a forma da imagem dessas estruturas pode ser modificada (de redondas a alongadas), o que ajuda a diferenciar os folículos, que continuam relativamente arredondados em todos os planos. As artérias aparecem isoladas ou como um agrupamento de áreas redondas anecoicas, menores que 2 mm de diâmetro, ao redor das veias. São visualizadas em corte transversal, sempre aparecendo em formato redondo.

A palpação retal permite a identificação e a avaliação subjetiva do corpo lúteo e, por sua praticidade e facilidade de execução, ainda é o método mais utilizado na sua avaliação. Contudo, essa técnica apresenta algumas limitações – que se devem à sua baixa precisão e consequente possibilidade de erros – tanto no estabelecimento da presença quanto do estágio funcional do corpo lúteo. Os erros na avaliação morfológica do corpo lúteo estão associados à grande variação na forma e no tamanho do ovário, à sua área de projeção na superfície ovariana e à presença de corpos lúteos císticos. Erros de diagnóstico são mais frequentemente associados à palpação de ovários grandes, com morfologia compatível com a presença de um corpo lúteo, em animais em anestro, ou à palpação de ovários pequenos e sem evidência de atividade luteal, mas com corpos lúteos inclusos. A ultrassonografia demonstrou ser uma ferramenta importante na avaliação

da função luteal, permitindo a completa visualização do tecido luteal, o que possibilita maior precisão na identificação e na mensuração do corpo lúteo, sem, contudo, eliminar completamente os erros de avaliação dessa estrutura, particularmente no final do ciclo, quando sua ecogenicidade se aproxima daquela observada no restante do estroma ovariano. A evolução dos equipamentos de ultrassonografia, contudo, tem levado à obtenção de imagens com definição cada vez maior.

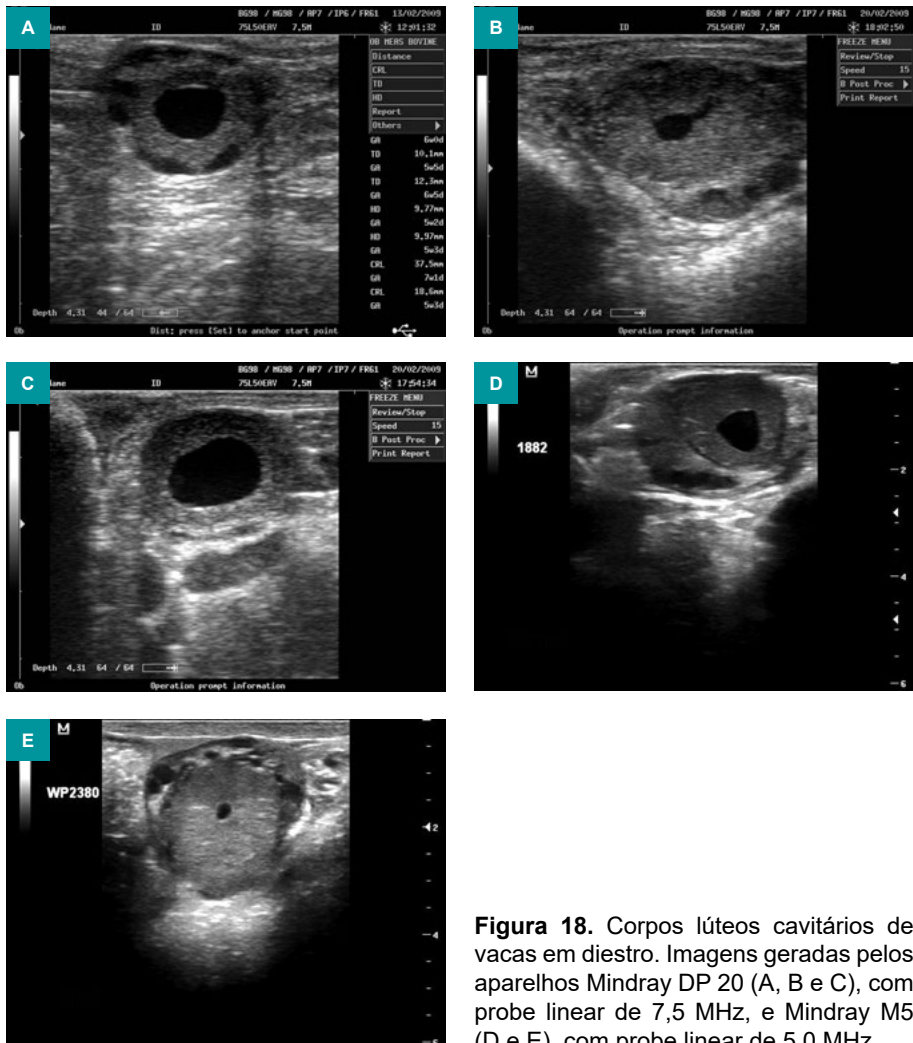
A identificação do corpo lúteo pode ser difícil quando feita imediatamente após a ovulação, mas, em geral, é detectável 1 ou 2 dias depois, como corpo hemorrágico (Figura 17). Na fêmea cíclica, o corpo lúteo regride alguns dias antes do estro, mas costuma ser visível, até a ovulação subsequente (às vezes, até 2 ou 3 dias após a próxima ovulação). Daí em diante, o corpo lúteo não pode ser distinguido do estroma ovariano (KASTELIC et al., 1990). Uma cavidade central forma-se em cerca de 70% das estruturas, sendo um achado não patológico, que recebe a denominação de “corpos lúteos cavitários”. Essas cavidades variam em tamanho (de 2 mm até mais que 20 mm) e, independentemente do tamanho, são detectadas pela primeira vez após a ovulação, obtendo seu tamanho máximo 5 a 7 dias após a ovulação; em seguida, desaparecem. A cavidade central costuma ser arredondada e anecoica (em preto), tem áreas ecodensas irregulares e pode



**Figura 17.** Avaliação ultrassonográfica com visualização de corpo lúteo hemorrágico. Imagem gerada por aparelho Mindray DP 20, com probe linear de 7,5 MHz.

ter aparência multilocular em variados tamanhos (Figura 18) (MARQUES et al., 2002; SPELL et al., 2001).

O intervalo no qual a cavidade é visível está diretamente relacionado ao seu tamanho. Pequenas cavidades podem ser detectadas por apenas 2 ou 3 dias, enquanto cavidades muito grandes podem ser detectadas por



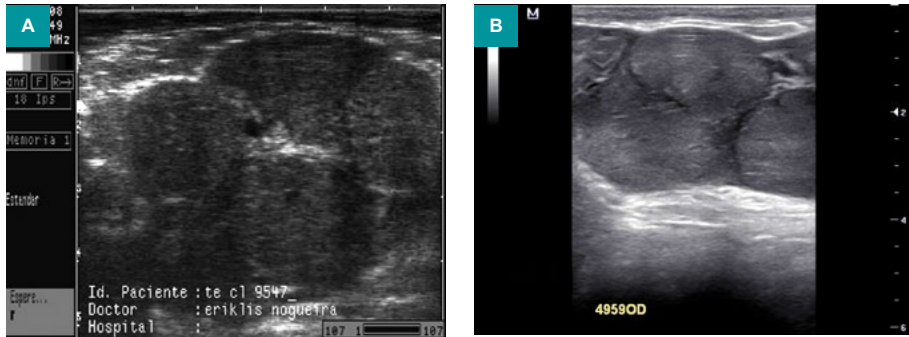
**Figura 18.** Corpos lúteos cavitários de vacas em diestro. Imagens geradas pelos aparelhos Mindray DP 20 (A, B e C), com probe linear de 7,5 MHz, e Mindray M5 (D e E), com probe linear de 5,0 MHz.



15 dias ou mais. As cavidades centrais são gradualmente substituídas por tecido sólido, de ecotextura similar ou maior que do resto do corpo lúteo. Também é comum encontrar corpos lúteos compactos durante o diestro, sem a cavidade central (Figura 19). A avaliação do número de corpos lúteos depois da superovulação em vacas pode ser feita no dia da coleta dos embriões. Essa informação pode, aliás, ajudar a estimar a resposta ovulatória (Figura 20). A despeito dessas variações de formas, não foram encontradas diferenças nas taxas de prenhez e concentração de progesterona circulante em animais com corpos lúteos cavitários ou compactos, avaliados em receptoras de embrião (NOGUEIRA et al., 2012) (Tabela 2).



**Figura 19.** Avaliação ultrassonográfica de ovários durante o diestro, com visualização de corpos lúteos compactos. Imagens geradas pelos aparelhos Pie Medical-Falcon 100 (A e B), utilizando probe linear de 8,0 MHz, e Mindray M5 (C e D), com probe linear de 5,0 MHz.



**Figura 20.** Imagens de avaliação ultrassonográfica de ovários de doadoras de embriões após tratamento de superovulação, com visualização de múltiplos corpos lúteos. Imagens geradas pelos aparelhos Pie Medical-Falcon 100 (A), com probe linear de 8,0 MHz, e Mindray M5 (B), com probe linear de 5,0 MHz (B).

**Tabela 2.** Concentração plasmática de progesterona (P4), diâmetro do corpo lúteo (CL) e porcentagem de prenhez em receptoras, de acordo com a classificação do corpo lúteo.

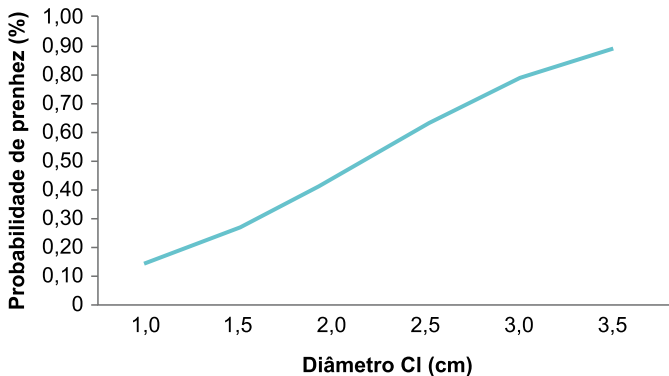
Dados	Corpo lúteo compacto	Corpo lúteo cavitário	Valor P
Número de animais	110	42	
Progesterona (P4) <sup>(1)</sup> (ng mL <sup>-1</sup> )	1,58 ± 1,23a	1,43 ± 0,96a	0,602
Diâmetro do corpo lúteo <sup>(1)</sup> (cm)	2,00 ± 0,29a	2,04 ± 0,34a	0,380
Prenhez <sup>(2)</sup> (%)	45,4a	42,9a	0,254

<sup>(1)</sup>Valores não diferem (P > 0,05) pelo teste de Tukey. <sup>(2)</sup>Valores não diferem (P > 0,05) pelo teste de Qui-quadrado.

Fonte: Nogueira et al. (2012).

O corpo lúteo alcança aproximadamente entre 400 mm<sup>2</sup> e 700 mm<sup>2</sup> de área de seção transversal, ou entre 20 mm e 30 mm de diâmetro durante o diestro. Como essa estrutura apresenta formato irregular, a medida de área é mais utilizada do que a de diâmetro. A área ou volume de tecido luteinizado determina a capacidade de produção e, conseqüentemente, a concentração circulante de progesterona. Observa-se correlação

significativa (entre 0,68 e 0,85) da concentração de progesterona ao longo do ciclo estral com o número de células luteais e com o tamanho do corpo lúteo. Todavia, é importante salientar que a concentração circulante de progesterona depende do balanço entre sua síntese e o metabolismo hepático, de forma que certos fatores – como tipo e frequência de ingestão de alimentos, tamanho corporal e percentual de gordura na carcaça – podem limitar parcialmente a relação entre tamanho do corpo lúteo e concentração circulante de progesterona. Valores entre  $2 \text{ ng mL}^{-1}$  e  $5 \text{ ng mL}^{-1}$  são normalmente considerados suficientes para o estabelecimento de uma gestação e estão associados a corpos lúteos com padrão ecogênico e tamanho considerados normais para o diestro (VIANA et al., 2004). Ressalte-se que quanto maior a área do tecido luteal, maior a probabilidade de prenhez em receptoras de embrião bovino, em programas de TE, como pode ser observado na Figura 21.



**Figura 21.** Probabilidade de prenhez em receptoras de embrião em função do diâmetro do corpo lúteo (cm), avaliado no dia da TE (dia 7 pós-ovulação) ( $P = 0,006$ ).

Fonte: Nogueira et al. (2012).

## Diagnóstico de gestação

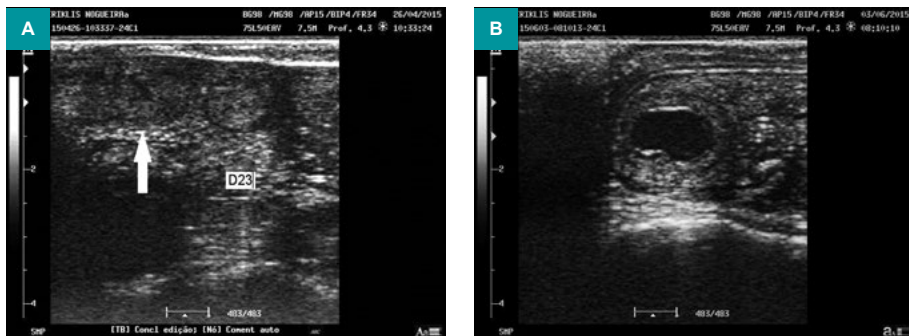
O interesse no diagnóstico de prenhez estimula a procura de métodos que propiciem maior precocidade, acurácia, agilidade e viabilidade aos

exames, sendo uma das aplicações mais rotineiras da ultrassonografia na reprodução de bovinos. A ultrassonografia reúne praticamente todos os requisitos técnicos básicos de um bom método para diagnóstico de gestação. É segura, fornece resultados rápidos, é precoce e não é lesiva para a mãe, feto ou operador.

Existe certa controvérsia em relação à identificação da idade mais precoce para a realização do diagnóstico de prenhez com ultrassom, a ser executado de forma segura e rápida, por técnicos, em campo. Alguns trabalhos, sobretudo em vacas *Bos taurus*, sugerem que o diagnóstico precoce de prenhez por ultrassonografia poderia ser executado a partir dos 10 dias de gestação, com a primeira detecção de vesículas embrionárias, embora tenham salientado que o período ótimo seja a partir de 25 dias (BOYD et al., 1988; CHAFFAUX et al., 1988; KASTELIC et al., 1989, 1991). Em torno do 18º dia pós-cio, vacas com um grande corpo lúteo e útero relacionado à fase de diestro têm probabilidade maior do que 80% de estarem prenhes. Aquelas que aparentam retorno ao estro (corpo lúteo em regressão e útero com ecotextura heterogênea) têm probabilidade maior do que 90% de não estarem prenhes. Antes do 20º dia, é difícil detectar conteúdo característico de gestação no interior do útero; depois desse dia, porém, o volume do fluido intrauterino aumenta.

De acordo com a literatura (CURRAN et al., 1986; KASTELIC et al., 1988), em condições ótimas, o próprio embrião pode ser detectado, e o batimento cardíaco visualizado ao redor do 20º dia de gestação. Entre o 20º e o 22º dia, o embrião está em íntima aposição ao endométrio e envolto por uma pequena área circular de fluido (aproximadamente 3 mm a 5 mm) em animais taurinos. Porém, como resultados práticos de um estudo realizado no Brasil (BARROS, 1997; BARROS; VISINTIN, 2001) com vacas *Bos indicus* e ½ sangue *Bos taurus* x *Bos indicus*, só foi possível visualizar o concepto bovino aos 21 dias em apenas um de 23 exames, e nenhum diagnóstico foi possível antes dos 21 dias de gestação (com a visualização do concepto).

Ressalta-se que, neste estudo, os exames para diagnóstico de gestação antes do 25º dia de prenhez apresentaram excesso de manipulação, além de muitas dificuldades, tendo aumentado em até cinco vezes o tempo necessário para a realização de cada exame. Segundo Chaffaux et al. (1988) e Pieterse et al. (1990), a ecografia é menos precisa quando aplicada entre o 21º e o 25º dia, do que entre o 26º e o 33º dia de gestação em bovinos, aumentando a frequência de diagnósticos falsos positivos. A Figura 22 demonstra imagens de útero de novilhas zebuínas avaliadas entre o 23º e o 24º dia de gestação, que foram confirmadas como prenhes aos 30 dias, nas quais se verifica pequena quantidade de líquido no útero.



**Figura 22.** Avaliação ultrassonográfica de útero bovino (novilha Nelore) em fases precoces de gestação: útero com pequena quantidade de líquido aos 23 dias de gestação (seta) (A); útero com pequena quantidade de líquido aos 24 dias de gestação (B). Imagens geradas por aparelho Mindray DP 20, com probe linear de 7,5 MHz.

Depois do 24º dia de gestação, o aumento na área de seção transversal se torna evidente ao longo do corno uterino que contém o embrião e, logo a seguir, se estende ao outro corno uterino. Em condições de campo, um operador experiente e de posse de um bom equipamento deve ser capaz de detectar o embrião no 25º dia (embora isso possa ser constatado antes, aumentando a manipulação e o tempo de exame). É por isso que, na maioria das vacas zebuínas, essa é a idade mínima sugerida para a realização do exame, com segurança. O embrião localiza-se consistentemente na base do corno

uterino (região mais próxima ao ovário) ou entre a base e a segunda curvatura. Nesse período, o embrião está acoplado à face dorsal do lume uterino.

Depois do 25º dia, aproximadamente, a detecção do fluido corioalantoico e a visualização da vesícula embrionária (Figura 23A) são fortemente sugestivas de prenhez, como preconizam Perry et al. (1990), segundo os quais o tempo mínimo para alcançar eficiência no diagnóstico é de 25 dias, pois é difícil estabelecer a diferença entre o fluido fisiológico intraluminal do estro e do proestro e o córion alantoide entre 18 e 21 dias. No entanto, a detecção do próprio embrião com batimento cardíaco é o método mais confiável de diagnóstico de prenhez e viabilidade do feto em fases precoces de gestação (Figuras 23C a 23H).

Acima do 30º ou do 32º dia de gestação, é possível visualizar claramente o embrião, que, nessa fase, se encontra mais distante (solto) do endométrio, sendo, aliás, um ótimo período para a realização de diagnóstico de gestação, com tempo de exame adequado. Com aparelhos de boa resolução, torna-se fácil a percepção dos batimentos cardíacos e, com isso, a identificação da viabilidade fetal.

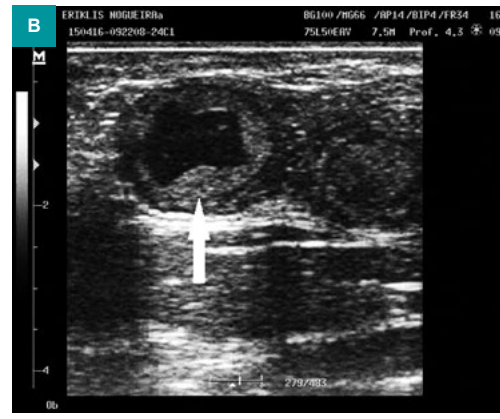
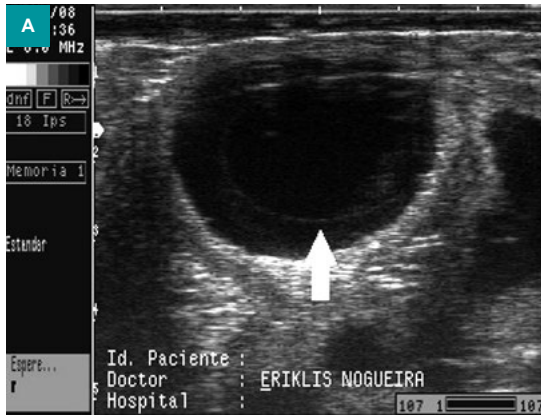
Em um trabalho clássico da literatura sobre o desenvolvimento do conceito bovino entre o 20º e o 60º dia de prenhez em vacas *Bos taurus* (CURRAN et al., 1986), foi detectado o batimento cardíaco aos 21 dias, os membros anteriores aos 29, e os posteriores aos 31 dias. O saco alantoide foi evidenciado entre o 23º e o 27º dia em alguns animais, estando na porção média ventral do embrião por 1 ou 2 dias. Em estudos com a remoção do conceito, o saco alantoide tornou-se proeminente entre o 22º e o 23º dia, preenchendo o corno *ipsi* lateral entre os dias 32 e 33, e o contralateral entre os dias 35 e 37. No intervalo de tempo entre os dias 22 e 30 de gestação, o embrião apresenta a forma de C e, entre os dias 29 a 39, apresenta a forma de L. A fenda nos cascos torna-se visível entre o 42º e o 49º dia; do 42º ao 50º dia, iniciam-se os movimentos dos membros e da cabeça; e do 51º ao 55º dia, aparecem as costelas. De 29 a 33 dias, as áreas

esféricas e não ecogênicas vistas de cada lado do crânio representam as cavidades oculares. O âmnio, que aparece como uma fina linha ecogênica circundando o embrião aos 30 dias, já o envolve aos 17 ou 18 dias, mas não é visível ao ultrassom. Elevações semicirculares – os placentomas – são observadas próximas ao embrião, entre o 33º e o 38º dia, sendo vistas aos 60 dias de gestação em toda a extensão do útero, mas sempre menores do que os placentomas próximos ao embrião. Esses dados estão sumarizados na Tabela 3. Na Figura 24, são apresentadas gestações de várias idades (de 36 a 55 dias), com alguns achados citados na Tabela 3.

Entre as possíveis fontes de erro no diagnóstico precoce de gestação, a mais importante decorre da dificuldade de distinguir certos conteúdos uterinos, particularmente no caso de acúmulo de muco na luz uterina. Por isso, a confirmação do diagnóstico depende da identificação clara do feto e, preferencialmente, do batimento cardíaco (VIANA et al., 2004).

A morte embrionária pode ocorrer em qualquer época, durante a prenhez. Quando a morte embrionária ocorre após o 25º dia, o corpo lúteo persiste por um intervalo variável de tempo e os tecidos do concepto e os fluidos parecem não ser reabsorvidos; todavia, é possível ocorrer alguma deterioração, que resulta em “membranas flutuantes” e quantidades variadas de resíduos ecogênicos. Vacas nessas condições poderão ser diagnosticadas como prenhes se o embrião/feto não for visualizado. Quando o corpo lúteo regride, a cérvix abre-se, e a maioria do tecido do concepto e dos fluidos é perdida por expulsão.

A mensuração do feto (morfometria fetal) permite determinar sua idade e avaliar se o seu desenvolvimento é normal. Normalmente, são realizadas medidas predefinidas do feto ou de suas partes, cujos resultados devem ser comparados com tabelas de crescimento. Nos aparelhos mais modernos, as tabelas fetais permitem, a partir de uma determinada medida, calcular a idade fetal, a data provável da cobertura e a do parto. As medidas mais utilizadas são o comprimento fetal (CRL) (Figuras 24B, 24D e 24E), o diâmetro







**Figura 23.** Avaliação ultrassonográfica de útero bovino em fases precoces de gestação: vesícula embrionária (A); útero com visualização de líquido aos 25 dias de prenhez (seta) (B); embrião aos 25 dias de prenhez (C); embrião aos 27 dias de prenhez (D); embrião aos 28 dias de prenhez (E); embrião aos 29 dias de prenhez (F); embrião aos 30 dias de prenhez (G); embrião aos 32 dias de prenhez (H). Imagens geradas pelos aparelhos Pie Medical-Falcon 100 (A), com probe linear de 8,0 MHz, e Mindray DP 20 (B a G), com probe linear de 7,5 MHz.

**Tabela 3.** Características encontradas em bovinos, de acordo com a idade gestacional.

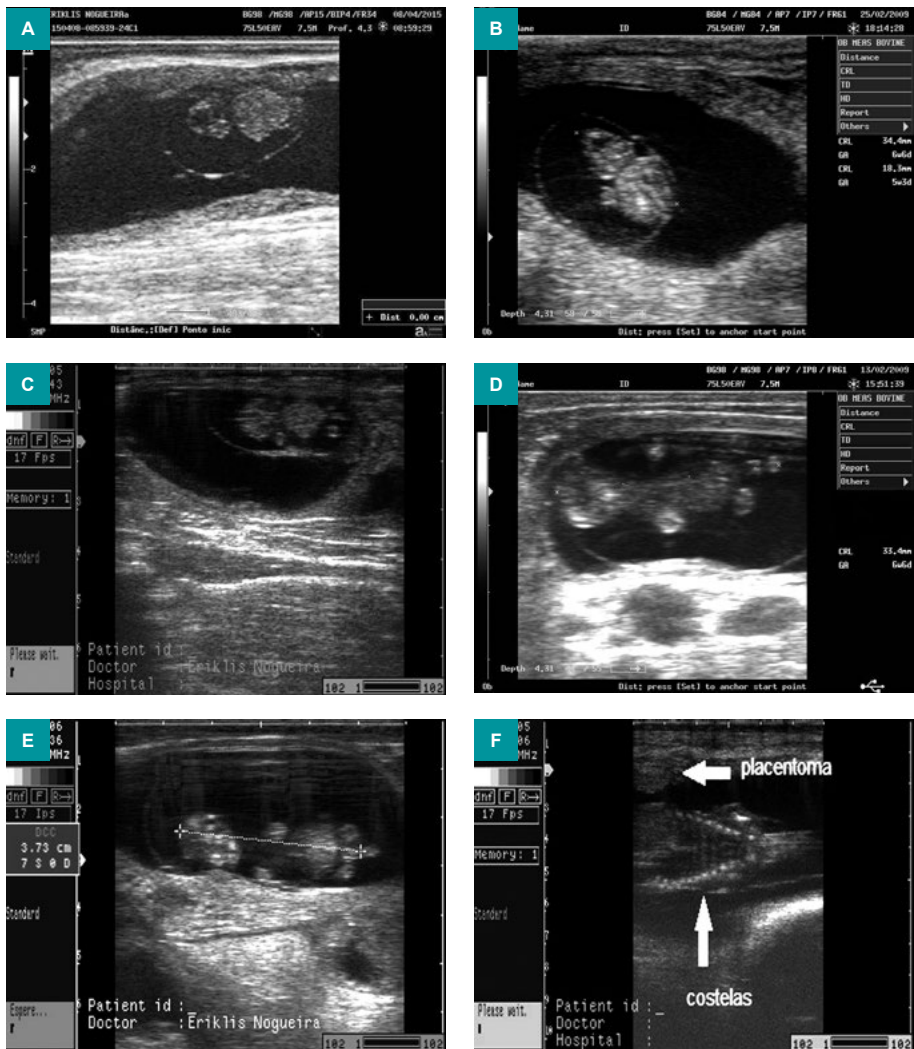
Estrutura/evento	Idade (dias)
Batimento cardíaco	21º
Membros anteriores	29º
Membros posteriores	31º
Alantoide	Entre o 23º e o 27º
Preenchimento do <i>cornu ipsi lateral</i>	No 32º ou 33º
Preenchimento do cornu contralateral	Entre o 35º e o 37º
Na forma de “C”	Entre o 22º e o 30º
Na forma de “L”	Entre o 29º e o 39º
Fenda nos cascos	Entre o 42º e o 49º
Início dos movimentos dos membros	Entre o 42º e o 50º
Aparecimento das costelas	Entre o 51º e o 55º
Aparecimento do âmnion circundando o embrião	No 30º
Placentomas	Entre o 33º e o 38º
Placentomas em toda a extensão do útero	No 60º

Fonte: Curran et al. (1986).

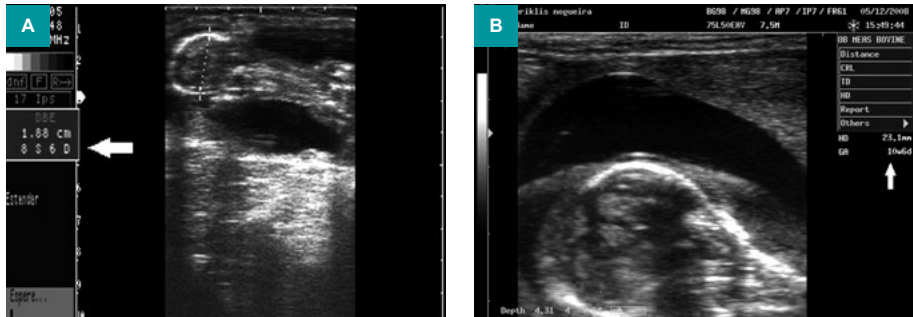
biparietal (BPD) (Figura 25) e o diâmetro do tronco (TD). Também é possível, em idades mais avançadas, avaliar partes do feto e realizar a mensuração de estruturas como os placentomas (Figura 26).

## Sexagem fetal

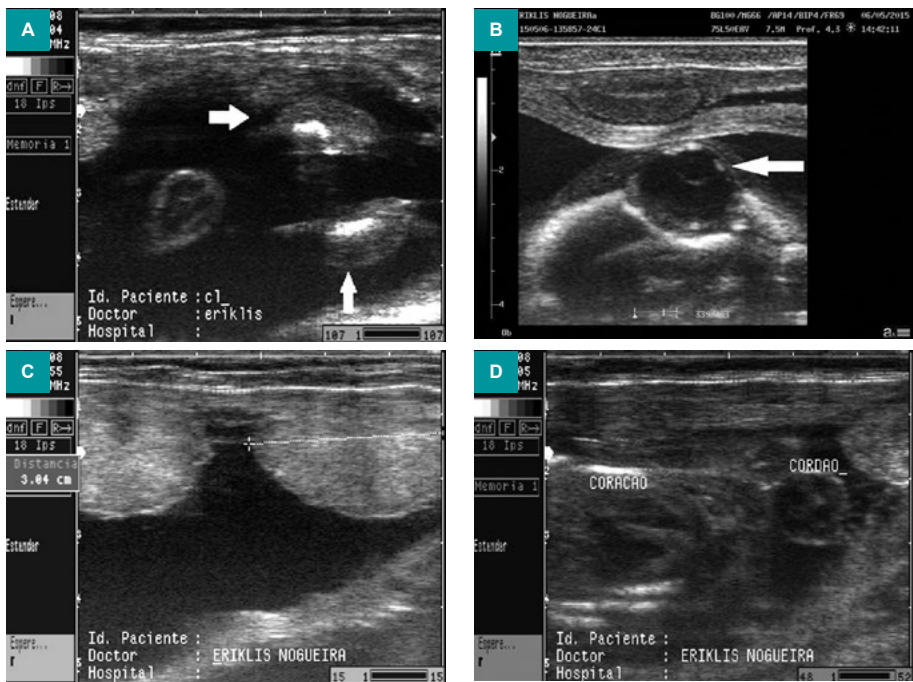
Com o desenvolvimento da técnica de ultrassonografia em bovinos, aumentou a demanda por diagnóstico do sexo fetal, pois essa técnica trouxe nova perspectiva de planejamento dos rebanhos, ao propiciar a escolha, de acordo com o sexo, de maior concentração de machos em rebanhos produtores de carne ou de venda de reprodutores e fêmeas em rebanhos leiteiros. A tecnologia também se mostrou muito útil na comercialização de receptoras de embrião com prenhez de determinado sexo, na programação de formação de plantéis, entre outras utilidades.



**Figura 24.** Gestação com várias idades: 36 dias (A); 38 dias (B); 42 dias (C); 48 dias (D); 49 dias (E); 55 dias, com visualização das costelas do feto e placentoma no útero (setas) (F). Imagens geradas pelos aparelhos Mindray DP 20 (A, B e D), com probe linear de 7,5 MHz, e Pie Medical-Falcon 100 (C, E e F), com probe linear de 8,0 MHz.

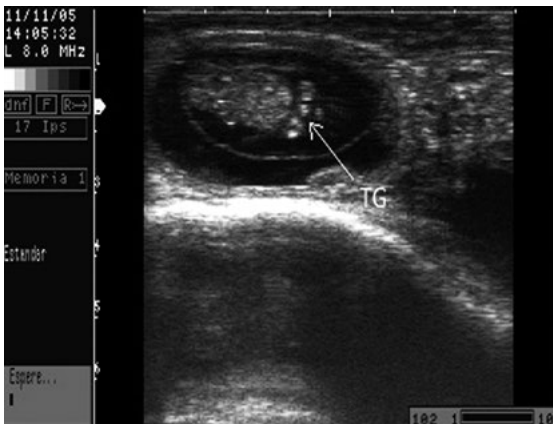


**Figura 25.** Avaliação da idade gestacional pelo diâmetro biparietal, conforme indicação de seta (A = 62 dias; B = 76 dias). Imagens geradas pelos aparelhos Pie Medical-Falcon 100 (A), com probe linear de 8,0 MHz e Mindray DP 20 (B), com probe linear de 7,5 MHz.



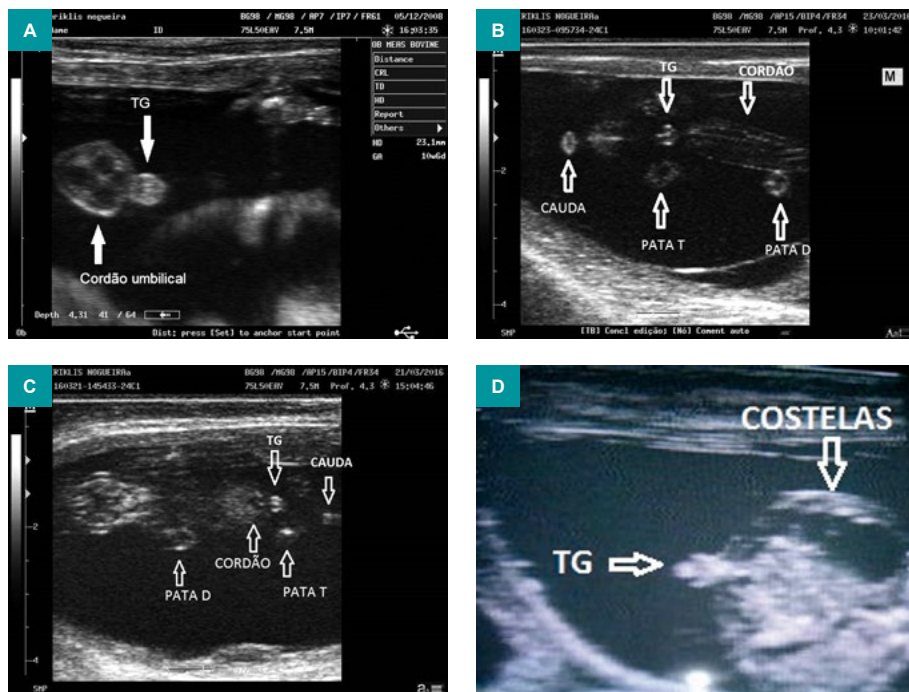
**Figura 26.** Estruturas em fetos em estágios avançados de gestação: cascos (A); globo ocular (B); placentomas (C); costelas, coração e cordão umbilical (D). Imagens geradas pelos aparelhos Pie Medical-Falcon 100 (A, C e D), com probe linear de 8,0 MHz, e Mindray DP 20 (B), com probe linear de 7,5 MHz.

O diagnóstico do gênero fetal é baseado na determinação da localização do tubérculo genital (TG) ou da identificação da bolsa escrotal, ou da glândula mamária, em fetos entre 55 e 120 dias de gestação (CURRAN et al., 1989). No caso do TG, essa estrutura existe nos fetos de ambos os sexos e diferencia-se em clitóris e glândula do pênis nas fêmeas e nos machos, respectivamente. Nos machos, o TG é brilhante, bilobulado ao início (podendo se apresentar trilobulado ou como “tridente”, posteriormente), enquanto nas fêmeas é bi- ou trilobulado, e localiza-se ventralmente à cauda, que é monolobulada. Em ambos, é uma estrutura ecodensa e tem aparência bem particular. No início da gestação, detectada a partir do 48º dia, localiza-se sobre a linha média, entre os membros posteriores (Figura 27). Até essa idade, não é possível detectar diferenças entre fetos masculinos e femininos. A partir daí, tem início a migração do tubérculo: na fêmea, o TG migra a uma pequena distância, em sentido posterior (ventralmente à base da cauda), e, no macho, o TG migra a uma distância maior, em sentido anterior, até uma posição imediatamente posterior ao cordão umbilical (Figura 28), sendo acurada a identificação do sexo fetal com a observação do TG aos 56 dias de gestação, nos machos, e um pouco antes, nas fêmeas (CURRAN et al., 1986). Utilizando-se dessas avaliações de identificação de TG, Barros e Visintin (2001) conseguiram taxas de acertos do diagnóstico precoce dos sexos de 90,7% aos 60 dias de gestação.



**Figura 27.** Feto com idade inadequada para a sexagem, já que a migração do tubérculo genital (TG) ainda não está completa, apresentando-se entre os membros posteriores (seta). Imagem gerada por aparelho Pie Medical-Falcon 100, com probe linear de 8,0 MHz.

No plano lateral do feto, a observação de estruturas é mais fácil que nos planos frontal ou transversal. O diagnóstico do sexo de fêmeas não deve ser baseado na ausência do tubérculo em posição caudal ao umbigo, local característico do tubérculo nos machos, pois, dependendo de alguns ângulos, o TG pode não ser visto. Ademais, a cauda pode ser confundida com o TG nas fêmeas. O diagnóstico com maior acuidade do sexo fetal pode ser realizado aproximadamente entre o 55º e o 90º dia da gestação, ou mais tarde (desde que se tenha acesso ao feto para a visualização das estruturas corretas).



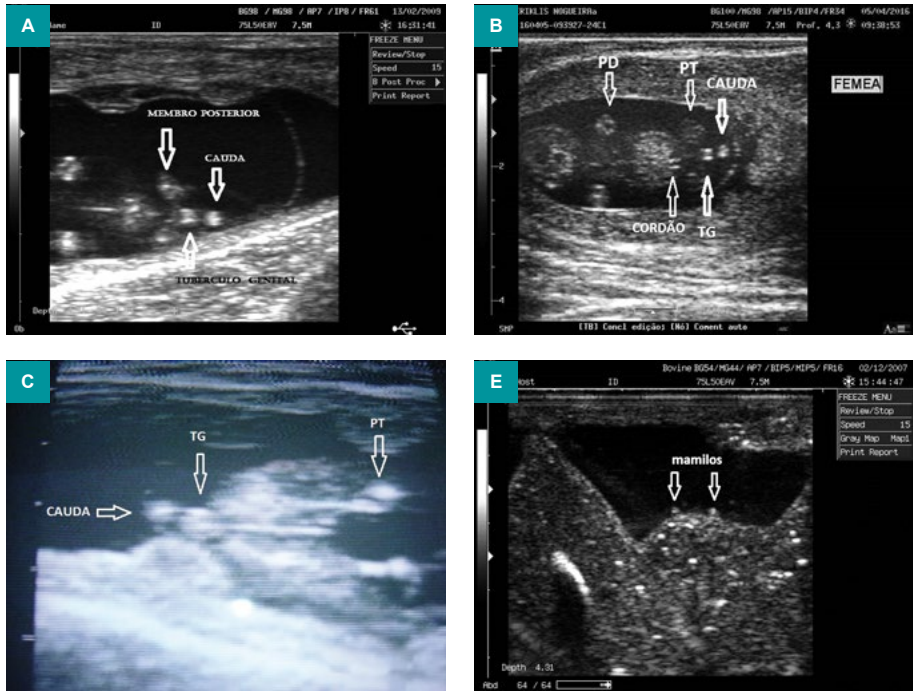
**Figura 28.** Sexagem de fetos machos: cordão umbilical e presença do tubérculo genital posteriormente (A, B e C); tubérculo genital (D). Imagens geradas pelos aparelhos Mindray DP 20 (A, B e C), com probe linear de 7,5 MHz e Aloka 500 (D), com probe linear de 5,0 MHz. PATA D = pata dianteira; PATA T = pata traseira; cordão = cordão umbilical; TG = tubérculo genital.

Em explorações mais tardias, as estruturas visualizadas são o saco escrotal e as glândulas mamárias. No macho, pode ser reconhecido um esboço escrotal presente na região inguinal a partir do 75º dia de gestação; as gônadas estão presentes dentro do saco escrotal entre o 90º e o 130º dia. Nas fêmeas, pode-se observar a imagem das glândulas mamárias e os mamilos (Figura 29D), na mesma localização e durante o mesmo estágio de observação. Durante o último período de gestação, a exploração apresenta maior dificuldade de acesso ao feto, já que o útero se desloca mais profundamente na cavidade abdominal com o avançar da gestação.

## Aspiração folicular (*ovum pick up* – OPU)

Entre as primeiras biotecnologias estudadas e utilizadas para o incremento da produtividade animal está a congelação de sêmen aliada à inseminação artificial (IA), técnica que exerceu grande pressão de seleção de animais machos. Posteriormente, a utilização das técnicas de múltiplas ovulações (Moet) e de transferência de embrião (TE) permitiu aumentar a exploração do potencial reprodutivo das fêmeas. Mais tarde, com o advento da produção *in vitro* (PIV) de embriões, elevou-se ao nível máximo a pressão de seleção de fêmeas. Para a realização da PIV, é preciso obter oócitos de boa qualidade, os quais devem estar em condições de ser fertilizados e prosseguirem o desenvolvimento embrionário.

O acesso aos ovários para a obtenção dos oócitos é feito com o auxílio de ultrassonografia transvaginal, técnica conhecida como “aspiração folicular guiada por ultrassonografia” (do inglês *ovum pick-up*, ou, de forma abreviada, OPU). Essa técnica tem inúmeras vantagens: é menos invasiva e menos traumática para os animais, além de ter alto grau de repetição, sendo que, em animais adultos, a aspiração folicular apresenta eficiência de cerca de 70% ou superior a isso (capacidade de recuperação de oócitos a partir dos folículos visualizados). Em trabalho publicado sobre OPU e PIV de embriões em vacas Nelore no Brasil (PONTES et al., 2011), foi relatada uma média de



**Figura 29.** Sexagem de fetos fêmeas: tubérculo genital na base da cauda (seta) (A, B e C); glândula mamária e dos mamilos (D). Imagens geradas pelos aparelhos Mindray DP 20 (A, B e D), com probe linear de 7,5 MHz, e Aloka 500 (C), com probe linear de 5,0 MHz. PD = pata dianteira; PT = pata traseira; cordão = cordão umbilical; TG = tubérculo genital.

30,84 ovócitos por vaca aspirada, sendo 23,23 ovócitos viáveis, 8,13 embriões viáveis, produzidos por sessão de aspiração, e 3,03 prenhez, perfazendo um total de 37,26% de prenhez no dia 30, e 35,79% de prenhez no dia 60, pós-transferência. Os dados são de 656 procedimentos de aspiração folicular e dão uma boa dimensão dos resultados da técnica no País (Tabela 4).

A técnica de OPU é bastante versátil, podendo ser aplicada a animais em vários estados fisiológicos. Assim, animais cíclicos, em anestro, no início de gestação, animais que não respondem aos tratamentos hormonais para superovulação (MOET) e animais considerados velhos, com algum tipo de desordem reprodutiva que os impeçam de ser utilizados em programas



**Tabela 4.** Média de dados de desempenho reprodutivo, seguida de procedimentos de OPU/PIV (n = 656), realizados em doadoras Nelore (n = 317) e distribuídos de acordo com a produção de oócitos (classificados em grupos de acordo com a produção: G1 = maior produção e G4 = menor produção).

Grupo (n)	Total de oócitos	Oócitos viáveis	Embriões viáveis	Gestação no dia 30	Gestação no dia 60	Perda embrionária
G1 n = 78	58,94 ± 2,04a	47,06 ± 1,6a	15,06 ± 0,86a	5,62 ± 0,54a	5,52 ± 0,81a	0,5 ± 0,08a
G2 n = 80	32,61 ± 0,50b	24,95 ± 0,33b	9,17 ± 0,63b	3,63 ± 0,36b	3,32 ± 0,33b	0,3 ± 0,06b
G3 n = 79	22,13 ± 0,50c	15,57 ± 0,26c	6,00 ± 0,39c	2,10 ± 0,21c	1,92 ± 0,20b	0,2 ± 0,04b
G4 n = 80	10,26 ± 0,57d	6,31 ± 0,38d	2,42 ± 0,25d	0,92 ± 0,13d	0,85 ± 0,13b	0,1 ± 0,03b
Total n = 317	30,84 ± 0,88	23,35 ± 0,72	8,13 ± 0,30	3,03 ± 0,15	2,91 ± 0,013	0,28 ± 0,02

Médias na coluna, seguidas de letras diferentes, diferem (P < 0,05).

Fonte: Pontes et al. (2011).

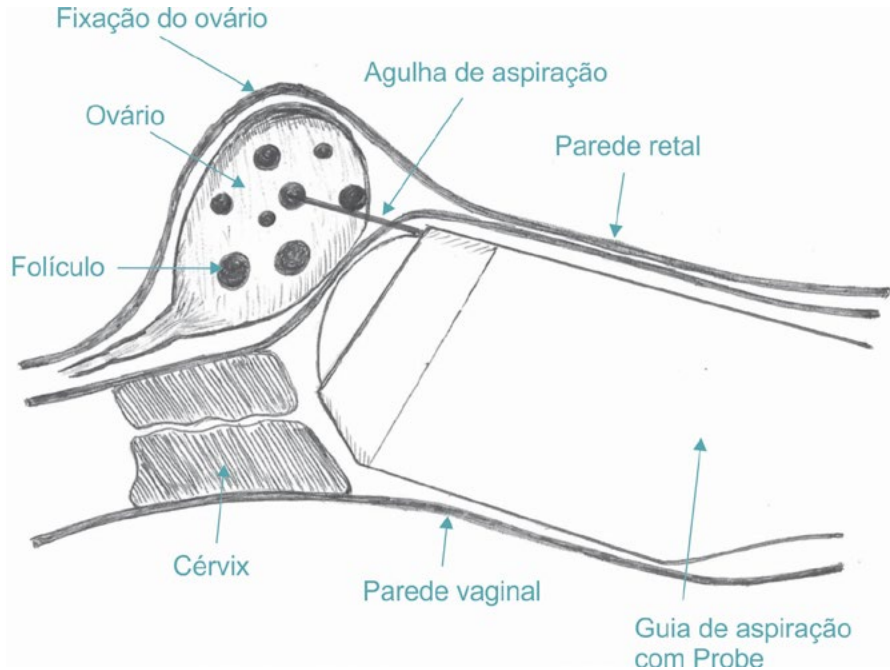
reprodutivos convencionais, e até mesmo animais ainda jovens e pré-púberes, passaram a ser utilizados para produzir embriões in vitro (BROGLIATTI et al., 1997). A técnica de aspiração folicular pode exercer efeito terapêutico em alguns casos de infertilidade, além de dispensar o uso de gonadotrofinas exógenas nos animais. Aspirações repetidas também são possíveis em animais gestantes durante o primeiro trimestre de gestação, pois aqueles animais também apresentam ondas de crescimento folicular semelhantes às observadas em animais não gestantes. Porém, depois do primeiro trimestre de prenhez, o acesso é dificultado, pois os ovários ficam situados na cavidade abdominal, por causa do peso do feto e das estruturas anexas.

Para a utilização da técnica de OPU, a qualidade da imagem produzida pelo transdutor é de suma importância, pois ela é utilizada para guiar a agulha de aspiração dentro do ovário até o folículo a ser aspirado. Os transdutores mais frequentemente utilizados são os setoriais e os convexos de 5,0 MHz ou 7,5 MHz, pois permitem a visualização de folículos de 2 mm

de diâmetro. Transdutores lineares também podem ser adaptados para uso transvaginal. Para tanto, coloca-se uma guia para a agulha de punção na parte superior do transdutor. Todavia, sua eficiência é menor do que a dos transdutores convexos (BOLS et al., 2004; SENEDA et al., 2003). Nos procedimentos de rotina, utilizam-se agulhas de 60 cm de comprimento, com lúmen de 17 G, 18 G ou 20 G, e ângulo curto, mas há equipamentos que também permitem o uso de agulhas descartáveis de 17 G ou 18 G. O uso de agulhas descartáveis facilita a reposição ou troca de agulha durante os procedimentos. Além disso, as agulhas descartáveis são de baixo custo e têm um volume morto reduzido, o que favorece a aspiração de pequenos volumes de fluido folicular, principalmente quando são aspirados folículos pequenos. Qualquer que seja o tipo de agulha utilizado, ela deve ser a mais fina possível, para atravessar a parede vaginal e minimizar danos aos ovários.

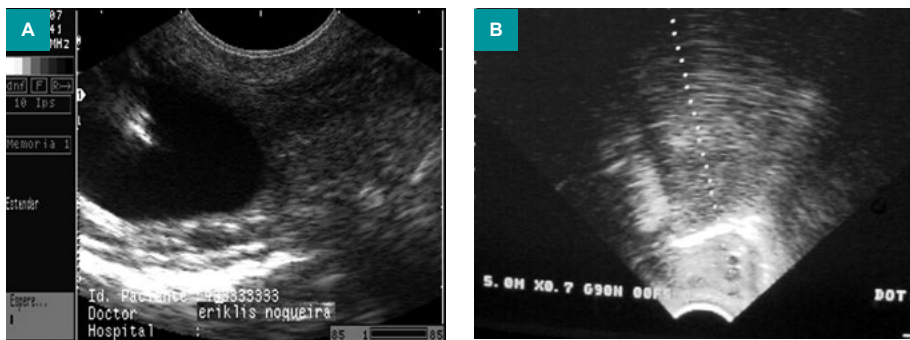
Para que a técnica da OPU seja eficiente, é preciso que os operadores sejam muito bem treinados, diminuindo, assim, a possibilidade de causar lesão ao animal. Depois que o animal foi selecionado, contido e anestesiado (o bloqueio regional epidural baixo é suficiente), deve-se proceder ao esvaziamento do conteúdo retal; nesse momento, o ovário deve ser palpado por via transretal. Na sequência, o transdutor deve ser introduzido através da vulva – previamente lavada e higienizada – e empurrado cranialmente até próximo ao óstio cervical externo. O ovário, segurado através da parede retal, deve, então, ser pressionado junto à parede vaginal, dentro da área de visualização do ultrassom. As estruturas ovarianas serão, então, visualizadas, com detalhes consideráveis. O ovário deve ser manipulado de forma que os folículos sejam levados até a área do campo de escaneamento pelo ultrassom, onde está posicionado o cursor para a biópsia. Uma agulha vai ser, então, introduzida no canal da biópsia, que passa acima do transdutor e avança cranialmente até se chocar com a parede vaginal (BOLS et al., 1995) (Figura 30).

A extremidade da agulha aparece na tela como uma área hiperecoica, que produz alguma reverberação (Figura 31). A imagem da ponta da agulha pode ser vista avançando para além do transdutor, quando é empurrada



**Figura 30.** Fixação do ovário para aspiração folicular (OPU).

Ilustração: Neimar Correa Severo



**Figura 31.** Cisto folicular sendo aspirado, com visualização da agulha (A). Ovário com folículos na linha de aspiração (onde a agulha se movimentará) (B). Imagens geradas pelos aparelhos Pie Medical-Falcon 100 (A), com probe convexa de 7,5 MHz, e Aloka 500 (B), com probe convexa de 5,0 MHz.

através da parede vaginal. Se o alinhamento do ovário estiver correto, a agulha perfurará o folículo visualizado. Ao perfurar o folículo, aplica-se uma pressão negativa no sistema de aspiração e o conteúdo do folículo é aspirado até o tubo coletor. Usando essa técnica, podem ser realizadas múltiplas aspirações nos dois ovários.

A combinação entre pressão de vácuo e o diâmetro e o comprimento da agulha pode exercer inúmeros efeitos, tanto sobre o índice de recuperação quanto sobre a morfologia dos oócitos recuperados, e, consequentemente, pode afetar a sua capacidade de desenvolvimento (BOLS et al., 1996). O impacto mais facilmente percebido é seu efeito sobre a camada de células do *cumulus* que recobre os oócitos. Pressão moderada de aspiração (de 80 mmHg a 100 mmHg) com agulhas finas resulta na recuperação de maior proporção de complexos *cumulus*-oócitos, com mais camadas intactas de células rodeando os oócitos (BOLS et al., 1997); já pressão intensa de aspiração resulta em maior proporção de oócitos desnudos.

Em relação à frequência de aspiração, existem inúmeros e controversos trabalhos. Alguns autores preconizam que as aspirações foliculares podem ser feitas duas vezes por semana, para se obter um maior número de oócitos (CHAUBAL et al., 2006; DING et al., 2008); ademais, os índices de desenvolvimento embrionário não se alteram quando é feita uma ou duas aspirações por semana (CHAUBAL et al., 2006). No entanto, há quem sugira intervalos maiores – por exemplo, 15 dias – para as sessões de aspiração.

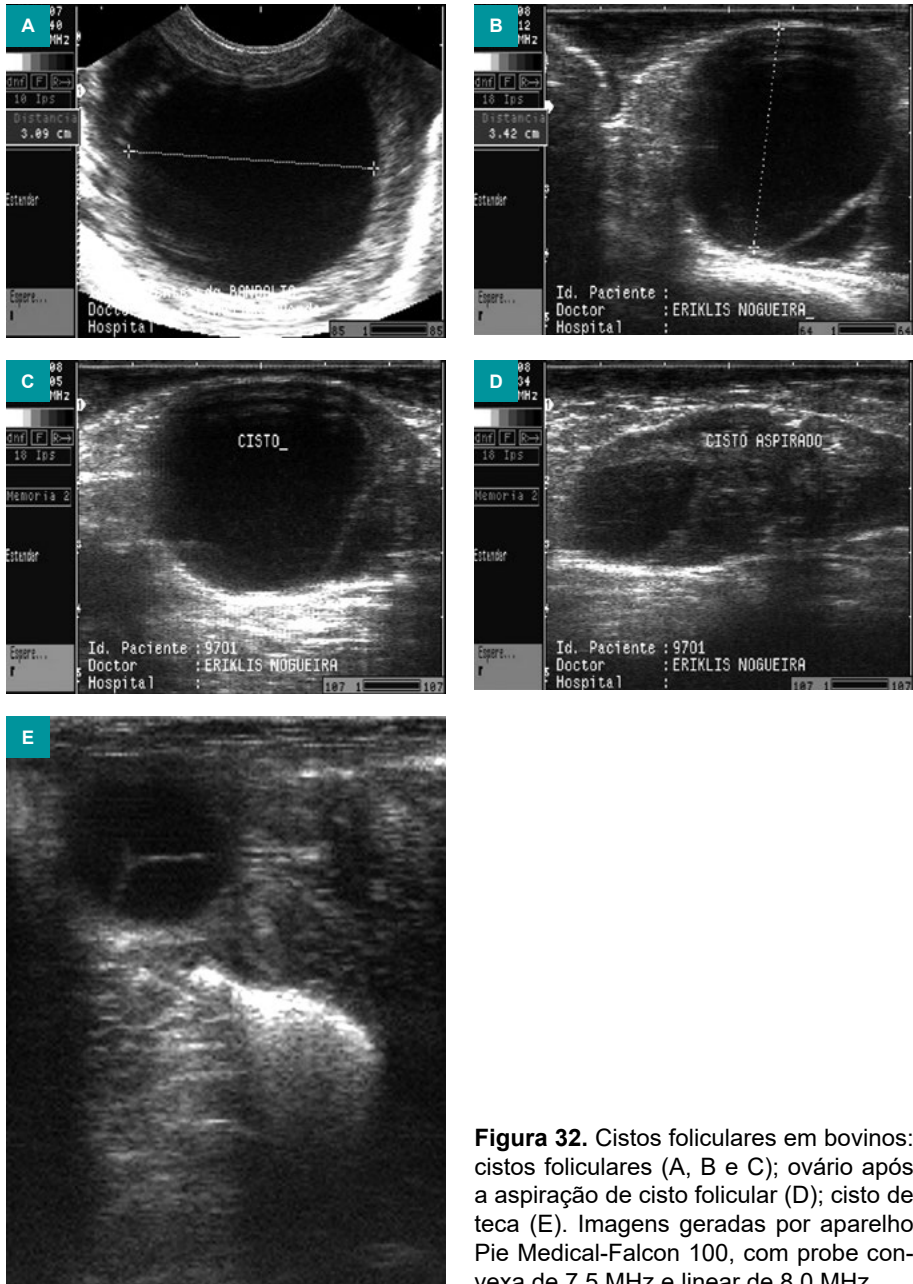
## Caracterização ultrassonográfica de patologias de ovários

A ultrassonografia fornece uma imagem correspondente ao “corte” do órgão avaliado, possibilitando caracterizar estruturas internas no ovário. Isso torna possível diagnosticar várias patologias de ovário, mesmo em situações nas quais não há alteração de forma ou consistência do órgão.

## Cistos

Segundo Nascimento e Santos (2003), dez tipos de cistos podem ser encontrados nos ovários ou a seu redor, porém o cisto folicular (ou doença ovariana cística) representa a patologia ovariana mais comum em bovinos. Tem maior prevalência no período pós-parto e em vacas de leite, mas também é bastante comum em vacas “falhadas”, ou seja, aquelas que passam mais de uma estação de monta vazias e apresentam elevação demasiada no escore de condição corporal. De acordo com a definição clássica, cisto é uma estrutura folicular anovulatória, com diâmetro superior a 25 mm, que persiste nos ovários por mais de 10 dias sem a presença de um corpo lúteo funcional, enquanto o folículo pré-ovulatório na vaca dificilmente ultrapassa os 20 mm de diâmetro (HAFEZ; HAFEZ, 2004). A etiogenia dos cistos foliculares envolve alterações no padrão de liberação de LH, que impedem a ovulação. Cistos são estruturas dinâmicas, e animais que apresentam essa patologia podem apresentar crescimento folicular e uma sucessão de folículos anovulatórios que assumem a característica cística. O tamanho do cisto é um critério que deve ser avaliado com cautela, pois animais de raças zebuínas apresentam menor diâmetro final dos folículos ovulatórios e podem apresentar cistos com diâmetro semelhante a folículos normais de raças europeias (VIANA et al., 2004).

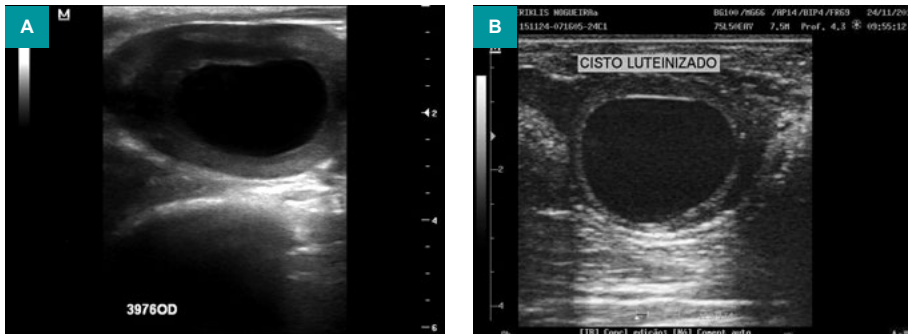
Podem ocorrer variações na maneira como o padrão normal de desenvolvimento folicular é afetado, de forma que o aspecto ultrassonográfico dos cistos possa ser semelhante ao de folículos normais ou, ainda, apresentar graus variados de luteinização da parede (Figuras 32A a 32D), o que pode dificultar uma clara distinção entre o cisto folicular e o cisto luteínico. Como os cistos entram em atresia após um período variado de tempo, é comum que sejam observados *debris* celulares ou grumos de fibrina em seu interior, caracterizados ultrassonograficamente pelo aspecto turvo e pela presença de pontos ecogênicos no interior do folículo. Quando uma vaca tem cisto folicular por um longo período e durante esse período ocorre hiperestrogenismo, e, conseqüentemente, ninfomania, o útero é geralmente



**Figura 32.** Cistos foliculares em bovinos: cistos foliculares (A, B e C); ovário após a aspiração de cisto folicular (D); cisto de teca (E). Imagens geradas por aparelho Pie Medical-Falcon 100, com probe convexa de 7,5 MHz e linear de 8,0 MHz.

estimulado e, numa fase avançada, ocorre fadiga do miométrio e hipotrofia, desenvolvendo-se mucometra ou hidrometra.

Outro tipo de cisto, o cisto luteínico ou luteinizado (Figura 33), ocorre quando um folículo cresce, não ovula e ocorre luteinização das células da teca interna. Pode ser confundido com corpos lúteos, que apresentam cavidades grandes. Vacas que apresentam cistos luteinizados têm falha na ovulação; normalmente, o animal entra em anestro e, nesses casos, não há hiperestrogenismo (NASCIMENTO; SANTOS, 2003).



**Figura 33.** Cistos foliculares luteinizados. Imagens geradas pelos aparelhos Mindray M5 (A), com probe linear de 5 MHz, e Mindray DP 20 (B), com probe linear de 7,5 MHz.

## Calcificação

Regiões de calcificação aparecem na imagem ultrassonográfica como pontos hiperecoicos (brancos), dispersos no parênquima do órgão (Figura 34). Quando presentes em grande quantidade, podem até comprometer a visualização de outras estruturas, principalmente folículos em início de crescimento. Pontos de calcificação são comuns em ovários e testículos de animais velhos, mas também podem aparecer como sequelas de traumas, como no caso de animais submetidos a várias sessões de punção folicular.



**Figura 34.** Calcificação em ovário de doadora em idade avançada. Imagem gerada por aparelho Pie Medical-Falcon 100, com probe linear de 8,0 MHz.

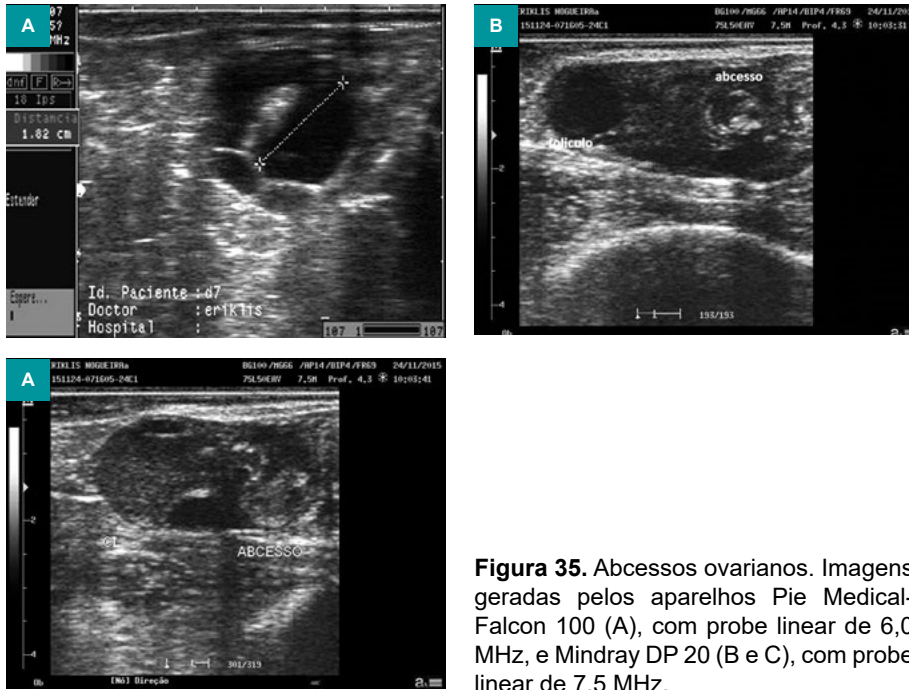
## Abcessos

Abcessos ováricos em vacas são geralmente precedidos de piometras por via ascendente, especialmente nos casos de extirpação do corpo lúteo, mas são raros, e podem também resultar da contaminação do órgão por via sistêmica. Nas áreas onde a tuberculose é doença comum, os ovários e as vias genitais são frequentemente afetados, sendo, por isso, uma doença a ser considerada no diagnóstico (NASCIMENTO; SANTOS, 2003). Na imagem ultrassonográfica, os abcessos aparecem como áreas circunscritas, de tamanho variado, e apresentam conteúdo com aspecto não homogêneo, geralmente com pontos ecogênicos em meio ao conteúdo hipocogênico (Figura 35). Não existe um padrão por causa da variação da viscosidade do conteúdo, mas é possível observar a fluidez do conteúdo quando submetido a pressão.

## Patologias do útero, gestação e puerpério

Além de caracterizar os ovários, a ultrassonografia permite evidenciar as estruturas internas dos demais órgãos reprodutivos, sendo bastante útil no diagnóstico de patologias. No caso do útero, esse atributo é





**Figura 35.** Abscessos ovarianos. Imagens geradas pelos aparelhos Pie Medical-Falcon 100 (A), com probe linear de 6,0 MHz, e Mindray DP 20 (B e C), com probe linear de 7,5 MHz.

especialmente importante, pois a maior parte das alterações patológicas envolve o endométrio ou a presença de algum tipo de conteúdo na luz uterina. Ademais, as características do útero permitem que seja feita a infusão de meios anecoicos para a criação de contrastes, o que permite diferenciar estruturas com ecogenicidade semelhante à da parede uterina.

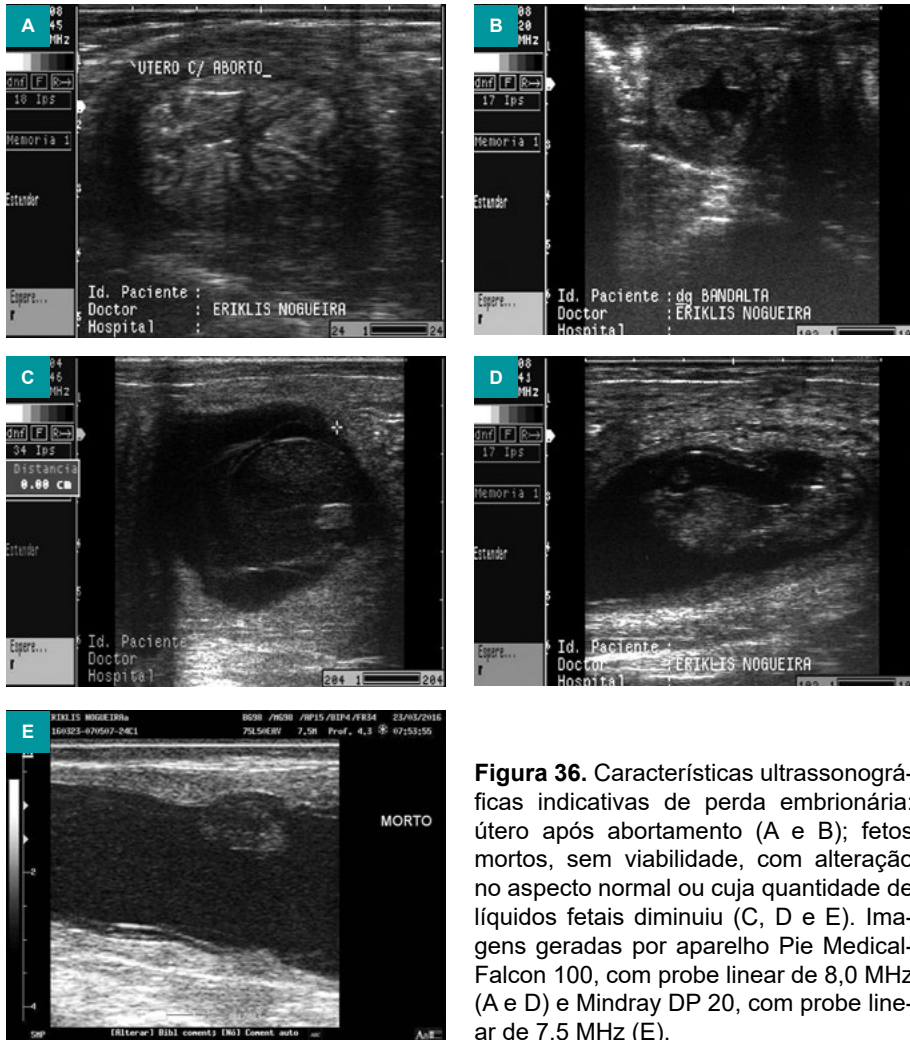
## Características ultrassonográficas indicativas de perda embrionária

Segundo Forar et al. (1995), o conceito abrange: o embrião, nome dado ao conceito até 45 dias de gestação; feto, a partir de 45 dias; feto abortado, quando é expulso sem vida antes da data prevista para o parto; e natimorto, quando morre no momento do parto. Considerando que a morte embrionária ou fetal pode ocorrer em qualquer época da gestação,

para se obter um diagnóstico seguro, é preciso que o técnico tenha uma certa experiência em exame ultrassonográfico. A morte embrionária ocorre quando a pulsação cardíaca do embrião não é mais viável; o momento da morte embrionária será, então, confirmado com a realização do exame. No decurso da perda embrionária, a quantidade de líquido diminui constantemente. Graças ao monitoramento ultrassonográfico é possível acompanhar o batimento cardíaco, constatar a ausência de desenvolvimento e a perda de integridade do feto (Figura 36) e das estruturas anexas, e também avaliar o estado do corpo lúteo, do útero e da cérvix.

A chamada morte embrionária precoce ocorre antes do período mínimo para a realização do diagnóstico de gestação, sendo, portanto, de difícil caracterização. Nesse caso, os animais repetemaios em intervalos irregulares e não são eliminados os restos embrionários, que são reabsorvidos. Quando a morte embrionária ocorre após o período de reconhecimento da gestação, o corpo lúteo persiste por um intervalo variável de tempo (de 5 a 30 dias) e pode ocorrer a repetição deaios em intervalos irregulares, conforme relatado por Kastelic et al. (1988). Os autores observaram que vacas que perderam um embrião demoraram mais a retornar ao cio do que vacas que receberam luteolíticos. Já Kassam et al. (1987) realizaram o esmagamento das vesículas gestacionais ao redor de 43 dias de gestação em quatro animais, tendo sido observados sinais de cio em apenas uma fêmea.

No exame ultrassonográfico, os principais indicativos de morte embrionária podem ser relativos ao feto (ausência de batimento cardíaco, anormalidades morfológicas e desenvolvimento retardado) ou aos anexos fetais (perda de volume e “enrugamento” da parede uterina, fragmentação da vesícula amniótica e presença de pontos ecogênicos indicando turvação e *debris* celulares) (Figura 36). A quantidade de estruturas ecogênicas e flocos observada no líquido fetal vai aumentando por processos de dissolução do embrião e de suas membranas fetais. Em caso de dúvidas, recomenda-se proceder à reavaliação uma semana após a primeira suspeita diagnóstica, devendo-se observar, por exemplo, se a quantidade de líquido no interior



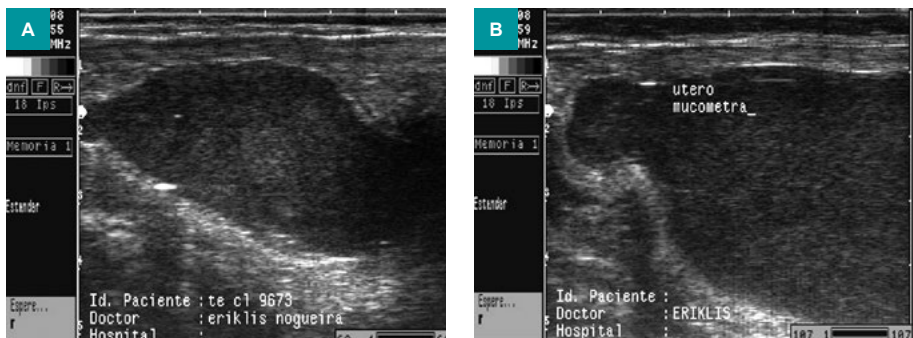
**Figura 36.** Características ultrassonográficas indicativas de perda embrionária: útero após abortamento (A e B); fetos mortos, sem viabilidade, com alteração no aspecto normal ou cuja quantidade de líquidos fetais diminuiu (C, D e E). Imagens geradas por aparelho Pie Medical-Falcon 100, com probe linear de 8,0 MHz (A e D) e Mindray DP 20, com probe linear de 7,5 MHz (E).

do útero diminuiu, se a ecogenicidade aumentou, se há um feto presente e, em caso positivo, se ele está vivo, por meio da observação da pulsação cardíaca. Reconhece-se como aborto a ocorrência de morte fetal após o período embrionário. O aborto é mais fácil de ser reconhecido quando a avaliação é feita logo após a sua ocorrência (THURMOND; PICANSO, 1990).

A ultrassonografia ajuda a diagnosticar a maceração e a mumificação fetais. A presença de estruturas ósseas pode ser facilmente caracterizada pelo seu aspecto hiperecoico, aparecendo na imagem como regiões brancas e intensamente brilhantes. A maceração fetal apresenta aspecto típico de conteúdo uterino contaminado, característica que permite diferenciar a maceração da mumificação fetal, que não apresenta essa condição.

## Mucometra e hidrometra

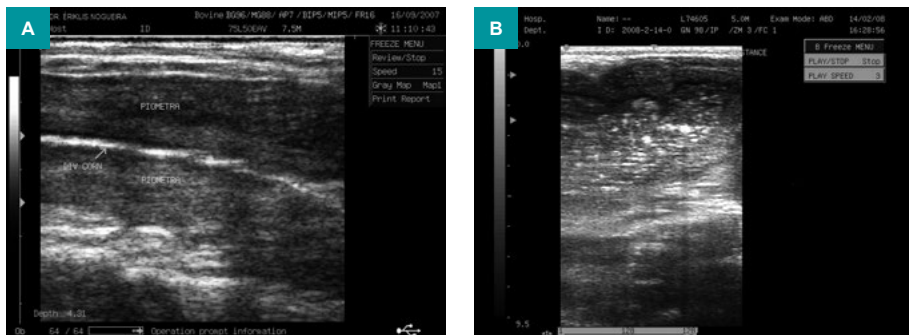
A mucometra e a hidrometra são alterações estudadas conjuntamente, já que se diferenciam apenas pelas características físicas do material acumulado. A diferença entre elas está basicamente no grau de hidratação da mucina. Caracterizam-se pelo acúmulo de líquido ou muco dentro do útero e, em ambas, pode haver contaminação bacteriana e evolução para endometrite (NASCIMENTO; SANTOS, 2003). A retenção de muco é fato relativamente frequente e está geralmente associada à presença de cistos ovarianos ou a outras situações de desequilíbrio endócrino. É comum ser encontrada em vacas submetidas à superovulação com gonadotrofinas para a coleta de embriões. O muco é anecoico e aparece na imagem como um conteúdo de volume variável, mas completamente escuro e distribuído em todo o órgão (Figura 37). Dependendo da quantidade de muco retido e do seu aspecto, a mucometra pode ser confundida com uma gestação inicial.



**Figura 37.** Mucometra. Imagens geradas por aparelho Pie Medical-Falcon 100, com probe linear de 8,0 MHz.

## Infecções uterinas

Infecções uterinas leves (de primeiro e segundo grau), caracterizadas clinicamente apenas pela presença de pontos ou estrias de pus no muco, geralmente não causam alterações morfológicas que permitam seu diagnóstico pela ultrassonografia. Já infecções graves são normalmente associadas à presença de maior quantidade de conteúdo na luz uterina e alterações na parede do órgão. No caso da piometra, o útero encontra-se distendido, apresenta parede fina e há grande quantidade de conteúdo (Figura 38). Nesse caso, um corpo lúteo persistente pode estar presente em um dos ovários.



**Figura 38.** Piometra em vacas. Imagem gerada com aparelho Chison vet, com probe linear de 7,5 MHz (A). Imagem gerada por aparelho Mindray DP 20, com probe linear de 5,0 MHz (B).

A ecotextura do conteúdo uterino pode variar, a depender de sua densidade, mas sempre apresenta aspecto turvo, com pontos ecogênicos dispersos e que se movimentam quando o órgão é comprimido, o que cria um aspecto de flutuação (VIANA et al., 2004).

## Referências

BARROS, B. J. P. **Diagnóstico precoce de gestação, perdas embrionária e fetal e sexagem de fetos pela técnica da ultra-sonografia em bovinos Zebus.** 1997. 98 f. Dissertação (Mestrado em Reprodução Animal) – Universidade de São Paulo, São Paulo.

BARROS, B. J. P.; VISINTIN, J. A. Controle ultra-sonográfico de gestações, de mortalidades embrionárias e fetais e do sexo de fetos bovinos zebuínos. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 38, n. 2, p. 74-79, 2001.

BARUSELLI, P. S.; BATISTA, E. O. S.; VIEIRA, L. M.; SOUZA, A. H. Relationship between follicle population, AMH concentration and fertility in cattle. **Animal Reproduction**, v. 12, n. 3, p. 487-497, 2015.

BOLS, P. E. J.; LEROY, J. L. M. R.; VANHOLDER, T.; VAN SOOM, A. A comparison of a mechanical sector and a linear array transducer for ultrasound-guided transvaginal oocyte retrieval (OPU) in the cow. **Theriogenology**, v. 62, n. 5, p. 906-914, 2004.

BOLS, P. E. J.; VAN SOOM, A.; YSEBAERT, M. T.; VANDENHEEDE, J. M. M.; KRUIF, A. de. Effects of aspiration vacuum and needle diameter on cumulus oocyte complex morphology and developmental capacity of bovine oocytes. **Theriogenology**, v. 45, n. 5, p. 1001-1014, 1996.

BOLS, P. E. J.; VANDENHEEDE, J. M. M.; VAN SOOM, A.; KRUIF, A. de. Transvaginal ovum pick-up (OPU) in the cow: a new disposable needle guidance system. **Theriogenology**, v. 43, n. 3, p. 677-687, 1995.

BOLS, P. E. J.; YSEBAERT, M. T.; VAN SOOM, A.; KRUIF, A. de. Effects of needle tip bevel and aspiration procedure on the morphology and developmental capacity of bovine compact cumulus oocyte complexes. **Theriogenology**, v. 47, n. 6, p. 1221-1236, 1997.

BOYD, J. S.; OMRAN, S. N.; AYLIFFE, T. R. Use of a high frequency transducer with real time B-mode ultrasound scanning to identify early pregnancy in cows. **The Veterinary Record**, v. 123, n. 1, p. 8-11, 1988.

BROGLIATTI, G. M.; SALAMONE, D. F.; ADAMS, G. P. Ovarian follicular wave synchronization and superstimulation in prepubertal calves. **Theriogenology**, v. 47, n. 6, p. 1253-1264, 1997.

BURNS, D. S.; JIMENEZ-KRASSEL, F.; IRELAND, J. L. H.; KNIGHT, P. G.; IRELAND, J. J. Numbers of antral follicles during follicular waves in cattle: evidence for high variation among animals, very high repeatability in individuals, and an inverse association with serum follicle-stimulating hormone concentrations. **Biology of Reproduction**, v. 73, n. 1, p. 54-62, 2005.

CHAFFAUX, S. T.; BIANCHI, M.; BHAT, P.; HEDGE, G. V.; REDDY, G. N. J.; THIBIER, M. L'échographie en temps réel par voie transrectale: intérêt pour le diagnostic de gestation chez la vache. **Recueil de Médecine Vétérinaire**, v. 164, n. 2, p. 101-108, 1988.

CHAUBAL, S. A.; MOLINA, J. A.; OHLRICH, C. L.; FERRE, L. B.; FABER, D. C.; BOLS, P. E. J.; RIESEN, J. W.; TIAN, X.; YANG, X. Comparison of different transvaginal ovum pick-up protocols to optimise oocyte retrieval and embryo production over a 10-week period in cows. **Theriogenology**, v. 65, n. 8, p. 1631-1648, 2006.

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, n. 3-4, p. 217-227, 1989.

CURRAN, S.; PIERSON, R. A.; GINTHER, O. J. Ultrasonic anatomy of the bovine conceptus on days 20 to 60. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 189, p. 1295-1302, 1986.

DING, L. J.; TIAN, H. B.; WANG, J. J.; CHEN, J.; SHA, H. Y.; CHEN, J. Q.; CHENG, G. X. Different intervals of ovum pick-up affect the competence of oocytes to support the preimplantation development of cloned bovine embryos. **Molecular Reproduction and Development**, v. 75, n. 12, p. 1710-1715, 2008.

FISSORE, R. A.; EDMONDSON, A. J.; PASHEN, R. L.; BONDURANT, P. H. The use of ultrasonography for the study of the bovine reproductive tract: II. Non-pregnant, pregnant and pathological conditions of the uterus. **Animal Reproduction Science**, v. 12, p. 167-1-177, 1986.

FORAR, A. L.; GAY, J. M.; HANCOCK, D. D. The frequency of endemic fetal loss in dairy cattle: a review. **Theriogenology**, v. 43, n. 6, p. 989-1000, 1995.

GINTHER, O. J. How ultrasound technologies have expanded and revolutionized research in reproduction in large animals. **Theriogenology**, v. 81, n. 1, p. 112-125, 2014.

GINTHER, O. J. **Ultrasonic imaging and animal reproduction**: cattle. Cross Plains: Equiservices, 1998. 304 p.

GINTHER, O. J. **Ultrasonic imaging and animal reproduction**: fundamentals, book 1. Cross Plains: Equiservices, 1995. 225 p.

GINTHER, O. J. **Ultrasonic imaging and animal reproductive events in the mare**. Cross Plains: Equiservices, 1986. 377 p.

HAFEZ, B.; HAFEZ, E. S. E. **Reprodução animal**. 7. ed. São Paulo: Manole, 2004. 513 p.

IRELAND, J. J.; SMITH, G. W.; SCHEETZ, D.; JIMENEZ-KRASSEL, F.; FOLGER, J. K.; IRELAND, J. L.; MOSSA, F.; LONERGAN, P.; EVANS, A. C. Does size matter in females? An overview of the impact of the high variation in the ovarian reserve on ovarian function and fertility, utility of anti-Mullerian hormone as a diagnostic marker for fertility and causes of variation in the ovarian reserve in cattle. **Reproduction, Fertility, and Development**, v. 23, n. 1, p. 1-14, 2011.

KASSAM, A.; BONDURANT, R. H.; BASU, S.; KINDAHL, H.; STABENFELDT, G. H. Clinical and endocrine responses to embryonic and fetal death induced by manual rupture of the amniotic vesicle during early pregnancy in cows. **Journal American Veterinary Medical Association**, v. 191, n. 4, p. 417-420, 1987.

- KASTELIC, J. P.; BERGFELT, D. R.; GINTHER, O. J. Relationship between ultrasonic assessment of the corpus luteum and plasma progesterone concentration in heifers. **Theriogenology**, v. 33, n. 6, p. 1269-1278, 1990.
- KASTELIC, J. P.; BERGFELT, D. R.; GINTHER, O. J. Ultrasonic detection of the conceptus and characterization of intrauterine fluid on days 10 to 22 in heifers. **Theriogenology**, v. 35, n. 3, p. 569-581, 1991.
- KASTELIC, J. P.; CURRAN, S.; GINTHER, O. J. Accuracy of ultrasonography for pregnancy diagnosis on days 10 to 22 in heifers. **Theriogenology**, v. 31, n. 4, p. 813-820, 1989.
- KASTELIC, J. P.; CURRAN, S.; PIERSON, R. A.; GINTHER, O. J. Ultrasonic evaluation of the bovine conceptus. **Theriogenology**, v. 29, n. 1, p. 39-54, 1988.
- MARQUES, M. O.; ARRUDA, R. P.; MADUREIRA, E. H.; OLIVEIRA, C. A.; BARUSELLI, P. S. Efeito da cavidade do corpo lúteo na concentração plasmática de progesterona em novilhas *Bos taurus* x *Bos indicus* receptoras de embrião. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 26, p. 238-240, 2002.
- MOROTTI, F.; BARREIROS, T. R. R.; MACHADO, F. Z.; GONZÁLEZ, S. M.; MARINHO, L. S. R.; SENEDA, M. M. Is the number of antral follicles an interesting selection criterium for fertility in cattle? **Animal Reproduction**, v. 12, n. 3, p. 479-486, 2015.
- MOROTTI, F.; SANTOS, G. M. G.; KOETZ JÚNIOR, C.; SILVA-SANTOS, K. C.; ROSO, V. M.; SENEDA, M. M. Correlation between phenotype, genotype and antral follicle population in beef heifers. **Theriogenology**, v. 91, p. 21-26, 2017.
- NASCIMENTO, E. F.; SANTOS, R. L. **Patologia da reprodução dos animais domésticos**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara, 2003.
- NOGUEIRA, E.; CARDOSO, G. S.; MARQUES JUNIOR, H. R.; DIAS, A. M.; ÍTAVO, L. C. V.; BORGES, J. C. Effect of breed and corpus luteum on pregnancy rate of bovine embryo recipients. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 41, n. 9, p. 2129-2133, 2012.
- OLIVEIRA JUNIOR, J. S.; CARDOSO, C. J. T.; SILVA, W. A. L.; KISCHEL, H.; SOUZA, M. B.; ANDRADE, E. R.; NOGUEIRA, E.; SILVA-SANTOS, K. C.; SENEDA, M. M.; MELO-STERZA, F. A. Antral follicles population in heifers and cows of Nelore and Girolando breeds. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 36, n. 6, p. 3741-3750, 2015.
- PERRY, R. C.; BEAL, W. E.; CORAH, L. R. Monitoring uterine characteristics and pregnancy. **Agri-Practice**, v. 11, n. 6, p. 31-35, 1990.
- PIERSON, R. A.; GINTHER, J. O. Realiability of diagnostic ultrasonography for identification and mensurement of follicles and detecting the corpus luteum in heifers. **Theriogenology**, v. 28, n. 6, p. 929-936, 1987.
- PIERSON, R. A.; GINTHER, O. J. Ultrasonic imaging of the ovaries and uterus in cattle. **Theriogenology**, v. 29, n. 1, p. 21-37, 1988a.



PIERSON, R. A.; KASTELIC, J. P.; GINTHER, O. J. Basic principles and techniques for transrectal ultrasonography in cattle and horses. **Theriogenology**, v. 29, n. 1, p. 3-20, 1988b.

PIETERSE, M. C.; SZENCI, O.; WILLEMSE, A. H.; BAJCSY, C. S. A.; DIELEMAN, S. J.; TAVERNE, M. A. M. Early pregnancy diagnosis in cattle by means of linear-array real-time ultrasound scanning of the uterus and a qualitative and quantitative milk progesterone test. **Theriogenology**, v. 33, n. 3, p. 697-707, 1990.

PONTES, J. H. F.; MELO STERZA, F. A.; BASSO, A. C.; FERREIRA, C. R.; SANCHES, B. V.; RUBIN, K. C. P.; SENEDA, M. M. Ovum pick up, *in vitro* embryo production, and pregnancy rates from a large-scale commercial program using Nelore cattle (*Bos indicus*) donors. **Theriogenology**, v. 75, n. 9, p. 1640-1646, 2011.

SENEDA, M. M.; ESPER, C. R.; GARCIA, J. M.; ANDRADE, E. R.; BINELLI, M.; OLIVEIRA, J. A.; NASCIMENTO, A. B. Efficacy of linear and convex transducers for ultrasound-guided transvaginal follicle aspiration. **Theriogenology**, v. 59, n. 5-6, p. 1435-1440, 2003.

SILVA-SANTOS, K. C.; SANTOS, G. M.; KOETZ JÚNIOR, C.; MOROTTI, F.; SILOTO, L. S.; MARCANTONIO, T. N.; URBANO, M. R.; OLIVEIRA, R. L.; LIMA, D. C.; SENEDA, M. M. Antral follicle populations and embryo production-in vitro and in vivo--of *Bos indicus-taurus* donors from weaning to yearling ages. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 49, n. 2, p. 228-232, 2014.

SPELL, A. R.; BEAL, W. E.; CORAH, L. R.; LAMB, G. C. Evaluating recipient and embryo factors that affect pregnancy rates of embryo transfer in beef cattle. **Theriogenology**, v. 56, n. 2, p. 287-297, 2001.

THURMOND, M. C.; PICANSO, J. P. A surveillance for bovine abortion. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 8, n. 1, p. 41-53, 1990.

VIANA, J. H. M.; BARRETO FILHO, J. B.; ALBUQUERQUE, F. T. Ultrassom: ferramenta para melhorar a eficiência reprodutiva. In: LOPES, M. A. (Ed.). **Curso de manipulação do ciclo estral em bovinos de corte**. Lavras: Ed. UFLA/FAEPE, 2004. p. 1-33.