

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ**  
**SETOR DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS**

**GESTAÇÃO EM CADELAS: NOVOS CONCEITOS NA ULTRASSONOGRAFIA**

**CURITIBA - PR**

**2015**

**ELAINE MAYUMI UENO GIL**

**GESTAÇÃO EM CADELAS: NOVOS CONCEITOS NA ULTRASSONOGRAFIA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias da Universidade Federal do Paraná para obtenção do título de Mestre.  
Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Tilde Rodrigues Froes

**CURITIBA - PR**

**2015**

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS



PARECER

A Comissão Examinadora da Defesa da Dissertação intitulada **“GESTAÇÃO EM CADELAS: NOVOS CONCEITOS NA ULTRASSONOGRAFIA”** apresentada pela Mestranda **ELAINE MAYUMI UENO GIL** declara ante os méritos demonstrados pela Candidata, e de acordo com o Art. 79 da Resolução nº 65/09–CEPE/UFPR, que considerou a candidata APROVADA para receber o Título de Mestre em Ciências Veterinárias, na Área de Concentração em Ciências Veterinárias.

Curitiba, 31 de março de 2015

  
Professora Dra. Tilde Rodrigues Fróes  
Presidente/Orientadora

  
Dr. Marcus Antonio Rossi Feliciano  
Membro

  
Professor Dr. Rogério Ribas Lange  
Membro

*À minha mãe, por ser essa pessoa  
forte, lutadora, determinada e  
fantástica.*

## AGRADECIMENTOS

À CAPES, pelo apoio financeiro na forma de bolsa durante todo o período do mestrado.

À minha orientadora, prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Tilde Rodrigues Froes pelo apoio, confiança e paciência nestes anos de convívio. Obrigada pelo tempo, dedicação e importantes ensinamentos compartilhados nesta orientação!

Às parceiras de toda hora Daniela Aparecida Ayres Garcia e Amália Turner Giannico pela paciência, ensinamentos, orientações e principalmente a nossa amizade. Obrigada!

Aos meus pais Donato Parra Gil e Kazue Regina Ueno Gil, principalmente a minha mãe, meus irmãos Fernando Seiji Ueno Gil e Fábio Kenji Ueno Gil, pelo apoio e amor incondicional, força e incentivo.

Às gestantes que participaram dessa pesquisa e a seus proprietários que acreditaram no estudo e demonstraram todo o amor pelos seus cães.

À Gisele (minha Pug), um dos frutos desta pesquisa, e agora minha companheira em todas as horas!

Aos residentes Giovana Paladino e Marco Antônio Ferreira pela confiança e amizade, mas acima de tudo por me suportarem durante esse tempo.

Às minhas companheiras de quatro patas que estão longe, e ao mesmo tempo tão perto do meu coração: Maggie e Lara.

À todos o meu profundo agradecimento.

“A alegria que se tem em pensar e aprender faz-nos pensar e aprender ainda mais.” – *Aristóteles*

## RESUMO

A presente pesquisa buscou contribuir com informações sobre avaliação ultrassonográfica pré-natal no terço final da gestação em cadelas, particularmente às características fetais que devem ser ponderadas rotineiramente pelo médico veterinário imagiologista nesse período. Para tanto, o trabalho foi subdividido em três capítulos independentes. No primeiro capítulo o enfoque da pesquisa foi avaliar e descrever as acelerações e desacelerações transitórias na frequência cardíaca fetal, acompanhadas pela ultrassonografia e provocadas pelas contrações uterinas; à semelhança do que ocorre em fetos humanos, proporcionando o planejamento da cesariana. Esse trabalho demonstrou que tais oscilações na frequência cardíaca fetal pré-parto acontecem em fetos caninos e devem ser utilizadas para prever com precisão o momento do parto iminente. Em cães a identificação do sexo fetal pode estar relacionada ao fator econômico, no entanto, para os proprietários esse fato pode estar correlacionado a questões emocionais. Por esse motivo, o segundo capítulo discorre sobre a descrição do método que determina o sexo fetal canino intrauterino pelo exame ultrassonográfico, indicando a melhor idade gestacional e definindo a acurácia do exame ultrassonográfico para esse fim, de acordo com o tamanho da ninhada. O terceiro capítulo refere-se ao acompanhamento na visualização das alças intestinais fetais pelo exame ultrassonográfico, pois acreditamos que com a evolução dos aparelhos de ultrassonografia agora com alta resolução, esse órgão é observado antes da idade gestacional descrita previamente na literatura. Descrevemos nesse capítulo o desenvolvimento ultrassonográfico das alças intestinais fetais, relacionada a idade gestacional, associado a avaliação da presença de peristaltismo intestinal e se essa característica tem importância no planejamento da cesariana. Conseguimos provar que a visualização do peristaltismo intestinal fetal não deve ser utilizada como parâmetro ultrassonográfico único para programar uma cesariana. Portanto, apresento três estudos inéditos cujos achados e conclusões são de grande importância para a reprodução e o diagnóstico por imagem veterinário.

**Palavras-chaves:** cão, gestação, ultrassonografia fetal, sexagem fetal, ultrassonografia intestinal fetal, maturação fetal

## ABSTRACT

The main of this research was to contribute with information about prenatal evaluation at the end of gestation in dogs, particularly the foetal characteristics that should be considered routinely by veterinary radiologist in this period. Therefore, the study was divided into three independent chapters. In the first chapter, the focus of the research was to assess and describe the transient accelerations and decelerations in the foetal heart rate monitored by ultrasound and caused by uterine contractions; similar to what occurs in the human foetus, providing planning caesarean section. In dogs, identification of foetal sex could be related to economic factor, however, for owners this fact probably is correlated to emotional issues. For this reason, the second chapter discusses description of method that determines foetal sex canine intrauterine by ultrasonography, indicating the best gestational age and setting accuracy of ultrasonography for this purpose, according to size of litter. The third chapter deals with visualization of foetal bowel by ultrasonography, because we believe that, with evolution of ultrasound equipment with high resolution, this organ is observed before the gestational age previously described in literature. Herein we describe the development of ultrasound foetal bowel, related to gestational age, combined with evaluation of the presence of intestinal peristalsis and if its importance in planning of caesarean section. We managed to prove that visualization of fetal intestinal peristalsis should not be used alone as sufficient ultrasound parameter to schedule a caesarean section. Therefore, present three unpublished studies whose findings and conclusions are great importance for the veterinary reproduction.

**Keywords:** dog, pregnancy, foetal ultrasound, foetal sex determination, foetal intestinal ultrasound, foetal maturation

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1.1: Diagrama de fluxo da população do estudo que mostra a distribuição dos grupos e subgrupos de acordo com o tipo de parto e a presença ou ausência de sofrimento fetal.....	16
Figura 1.2: Imagem ultrassonográfica modo B (porção superior) e M (porção inferior) do coração fetal canino, ilustrando aceleração e desaceleração da frequência cardíaca. Um período de 4 segundos é mostrado, e a frequência cardíaca oscila entre 143 e 205 batimentos por minuto. LV, ventrículo esquerdo; RV, ventrículo direito.....	17
Figura 1.3: Ilustração gráfica do comportamento dos batimentos cardíacos fetais individuais (batimentos por minuto) por cadela 6 a 1 hora antes do parto. Grupo 1: parto normal, cadelas 1-3; Grupo 2: cesariana, um ou mais (não todos) os fetos em sofrimento, cadelas 4 a 12; Grupo 3: cesariana, todos os fetos em sofrimento, cadelas 13 a 15.....	18
Figura 1.4: Gráfico de dispersão da frequência cardíaca fetal (batimentos por minuto) nas cadelas de 1 a 12 que compreendem tanto parto normal e cesariana com um ou mais fetos (não todos) em sofrimento, de acordo com o período pré parto (horas).....	19
Figura 1.5: Ilustração gráfica de dispersão da frequência cardíaca fetal (batimentos por minuto) ao longo do tempo (horas) no grupo 1 (parto normal).....	20
Figura 1.6: Ilustração gráfica de dispersão da frequência cardíaca fetal canina (batimentos por minuto) ao longo do tempo (horas) no grupo 2 (cesariana, um ou alguns fetos em sofrimento).....	22
Figura 1.7: Ilustração gráfica de dispersão da frequência cardíaca fetal canina (batimentos por minuto) ao longo do tempo (horas) no grupo 3 (cesariana, todos os fetos em sofrimento).....	23
Figura 2.1: Ilustração gráfica das frequências absolutas dos fetos de acordo com o sexo conforme visualizado por ultrassom.....	38
Figura 2.2: Imagem ultrassonográfica de feto canino no plano longitudinal, desenho esquemático do posicionamento fetal intrauterino e fotografia do filhote fêmea, com o foco na análise da área perineal. (A) Presença de linhas hiperecóticas com forma piriforme e uma linha central, que representa os grandes lábios (seta); (B) Desenho esquemático da posição dos membros fetais, que permite uma janela ecográfica para análise; (C) Fotografia das pregas labiais vulvares do filhote fêmea logo após o nascimento.....	39
Figura 2.3: Imagem ultrassonográfica de feto canino no plano longitudinal, desenho esquemático do posicionamento fetal intrauterino e fotografia do	39

filhote macho, com foco na análise da área perineal. (A) Presença apenas uma linha medial (seta); (B) Desenho esquemático da posição dos membros fetais que permite que a janela ecográfica para análise; (C) Fotografia da linha medial no filhote macho logo após o nascimento.....

Figura 2.4: Ilustração gráfica mostrando a quantidade de fetos e classificados como do sexo feminino (F), masculino (M) e inconclusivos (I) identificados por ultrassonografia e avaliados individualmente nas vinte e seis cadelas gestantes.....

41

Figura 3.1: Imagens ultrassonográficas mostrando (A) Fase 1: presença de áreas ecogênicas e uniformes na região caudal ao fígado fetal. (B) Fase 2: início da diferenciação das camadas da parede do intestino fetal, com áreas anecóicas entremeadas. Ausência de peristaltismo intestinal. (C) Fase 3: identificação de segmento de parede intestinal misturados com menos áreas anecóicas, quando comparado com a fase 2. Os segmentos definidos mostraram conteúdo intraluminal mucoso e há uma melhor definição da superfície da mucosa *versus* a parede do intestino. Peristaltismo identificado em alguns segmentos do intestino. (D) Fase 4: parede intestinal bem definida, mucosa *versus* a parede intestinal claramente definida, definição ultrassonográfica das camadas da parede do intestino em superfície da mucosa - hiperecólica; mucosa, submucosa, muscular - hipoecóico; serosa - hiperecólica; dilatação segmentar do intestino por muco intraluminal. Peristaltismo em todos os segmentos do intestino.....

57

Figura 3.2. Ilustração da curva de Kaplan-Maier mostrando a probabilidade de sobrevivência fetal se tivesse nascido em qualquer dia durante a fase 4....

59

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1.1: Características das cadelas e seus sinais de parto, tipo de parto e tamanho da ninhada.....	16
Tabela 1.2: Cadelas dos grupos 2 e 3: causas de distocia e/ou indicação para uma cesariana.....	21
Tabela 1.3: Valores para as estimativas dos parâmetros do modelo Poisson ajustadas para os dados da frequência cardíaca fetal canina.....	24
Tabela 2.1: Descrição das raças, idade das gestantes e tamanho de ninhada das cadelas utilizadas neste estudo.....	37
Tabela 2.2: Valores para a acurácia da ultrassonografia de acordo com o tamanho da ninhada.....	40
Tabela 2.3: Valores para a acurácia da ultrassonografia na determinação do sexo com um intervalo de confiança de 95% em vinte e seis cadelas gestantes.....	40
Tabela 3.1: Descrição das raças, idade e tamanho da ninhada de cadelas classificadas de acordo com o tipo de parto em maio/ 2013 a abril/ 2014.....	55
Tabela 3.2: Dados descritivos e valores de mediana, média e desvio-padrão das quatro fases de visualização ultrassonográfica do desenvolvimento intestinal fetal intrauterino correlacionado com a idade fetal determinado retroativamente considerando o dia do parto como zero, categorizados de acordo com o tipo de parto (parto normal ou cesariana), de maio/ 2013 a abril/ 2014.....	58
Tabela 3.3: Valores obtidos no teste t de Student em que o tempo (em dias) de visualização do desenvolvimento intestinal é analisado nas quatro fases de desenvolvimento, comparando as cadelas que tiveram parto normal <i>versus</i> cesariana.....	58

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

bpm	batimentos por minuto
CAPES	Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal do nível Superior
Dr.	Doutor
et al.	e colaboradores
FCF	frequência cardíaca fetal
°C	graus Celsius
HR	heart rate
IVI	Instituto Veterinário de Imagem
Ltda	Limitada
MHz	Mega-hertz
modo-M	modo de movimento
%	por cento
SP	São Paulo

## SUMÁRIO

<b>CAPÍTULO 1: Frequência cardíaca fetal: acelerações ou desacelerações podem prever o dia do parto em cadelas?</b> .....	12
Resumo.....	12
Abstract.....	12
1.1 Introdução.....	13
1.2 Materiais e métodos.....	13
1.3 Resultados.....	15
1.4 Discussão.....	24
1.4.1 Conclusões.....	28
1.5 Agradecimentos.....	28
1.6 Referências .....	28
<b>CAPÍTULO 2: Determinação ultrassonográfica do sexo fetal em cães</b> .....	32
Resumo.....	32
Abstract.....	32
2.1 Introdução.....	33
2.2 Materiais e métodos.....	34
2.2.1 Seleção dos pacientes.....	34
2.2.2 Desenvolvimento do experimento.....	34
2.2.3 Equipamento ultrassonográfico e técnica.....	35
2.2.4 Determinação sexual do feto.....	35
2.2.5 Análise estatística.....	36
2.3 Resultados.....	36
2.4 Discussão.....	41
2.4.1 Conclusão.....	44
2.5 Agradecimentos.....	44
2.6 Referências.....	45
<b>CAPÍTULO 3: Desenvolvimento do intestino fetal <i>in utero</i> - avaliação ultrassonográfica e correlação com a idade gestacional e a maturidade fetal em cães</b> .....	49
Resumo.....	49
Abstract.....	50
3.1 Introdução.....	51
3.2 Materiais e métodos.....	52
3.2.1 Seleção dos pacientes.....	52
3.2.2 Equipamento ultrassonográfico e técnica.....	52
3.2.3 Projeto experimental.....	53
3.3 Resultados.....	55
3.4 Discussão.....	60
3.4.1 Conclusões.....	64
3.5 Agradecimentos.....	64
3.6 Referências.....	64

<b>ANEXOS E APÊNDICES.....</b>	<b>68</b>
4.1 Aprovação no Comitê de Ética do Setor de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Paraná.....	68
4.2 Artigo científico publicado na revista <i>Clinica Veterinária: Limitações e indicações clínicas da ultrassonografia gestacional em cadelas: revisão de literatura</i> .....	69
4.3 Artigo científico publicado na revista <i>Theriogenology: Canine fetal heart rate: Do accelerations or decelerations predict the parturition day in bitches?</i> .....	70
4.4 VITA.....	71

## CAPÍTULO 1

### **Frequência cardíaca fetal: acelerações ou desacelerações preveem a data do parto em cadelas?**

#### **Resumo**

A ultrassonografia é uma técnica segura e eficiente para o monitoramento do desenvolvimento e da viabilidade fetal. Um dos parâmetros mais importantes e amplamente utilizados para verificar a viabilidade fetal é a frequência cardíaca fetal (FCF). Em fetos humanos, a FCF oscila normalmente durante o trabalho de parto com acelerações e desacelerações transitórias associadas às contrações uterinas. O presente estudo investigou se essas variações também ocorrem em fetos caninos e a sua relação com a proximidade do parto ou nascimento. Um estudo prospectivo e observacional foi realizado em quinze cadelas gestantes utilizando-se exames ultrassonográficos bidimensionais de alta resolução entre a 8ª e 9ª semana de gestação. FCF foi avaliada pelo modo-M, observando-se durante cinco minutos cada feto de todas as cadelas. Além disso, as cadelas foram monitoradas quanto aos sinais obstétricos de parto iminente. As associações entre a FCF, o tempo pré-parto e as características do parto foram avaliados pelo modelo de regressão de Poisson. Aceleração e desaceleração da FCF ocorreram em fetos de cães e mostraram-se ser parâmetro seguro para prever o momento ideal de parto. Estes achados irão contribuir na compreensão deste fenômeno em fetos caninos, impactando na segurança e nos resultados dos trabalhos de clínicos obstetras e ultrassonografistas veterinários.

**Palavras-chave:** Caninos, ultrassonografia fetal, gestação, ultrassom gestacional.

#### **Abstract**

Ultrasonography is a safe and efficient technique for monitoring fetal development and viability. One of the most important and widely used parameters to verify fetal viability is the fetal heart rate (HR). In human fetuses, the fetal HR normally oscillates during labor in transient accelerations and decelerations associated with uterine contractions. The present study investigated whether these variations also occur in canine fetuses and its relationship to parturition. A cohort study was conducted in fifteen pregnant bitches undergoing two-dimensional high-resolution ultrasonographic examination during the 8<sup>th</sup> and 9<sup>th</sup> week of gestation. Fetal HR was assessed in M-mode for five minutes in each fetus in all bitches. In addition, the bitches were monitored for obstetrics signs of imminent parturition. Associations between the HR, antepartum time, and delivery characteristics were evaluated with a Poisson regression model. Fetal HR acceleration and deceleration occurred in canine fetuses and predicted the optimal time of parturition. These findings can help veterinarians and sonographers better understand this phenomenon in canine fetuses.

**Keywords:** canine, fetal ultrasonography, pregnancy, gestational ultrasound

## 1.1 Introdução

A gestação canina dura entre 64 a 66 dias baseando-se no pico pré-ovulatório do hormônio luteinizante (Root, 2005). No entanto, a gestação a termo pode variar de 57 a 72 dias após a cópula, dependendo da raça, tamanho da ninhada e a duração do pro-estro e do estro individual (Concannon et al., 1983; Johnston et al., 2001; Okkens et al., 2001; Root, 2003). É difícil prever o dia exato do parto em cadelas e um método acurado que pudesse prever o momento exato do parto em cadelas seria útil, permitindo uma intervenção oportuna minimizando ou prevenindo possíveis perdas reprodutivas.

A ultrassonografia é um método seguro e eficaz para acompanhamento do desenvolvimento e da viabilidade fetal em cadelas (Lamm & Makloski, 2012). Um dos parâmetros mais importantes e amplamente utilizados para verificar a viabilidade fetal é a frequência cardíaca fetal (FCF). O stresse resultante da hipóxia fetal pode ocorrer durante a distocia e manifestar-se como uma diminuição da frequência cardíaca (Kutzler et al., 2003). FCF normal deve ser superior a 220 batimentos por minuto (bpm); frequências entre 180 e 220 bpm indicam sofrimento fetal moderado, enquanto que valores menores que 180 bpm indicam sofrimento fetal grave (Zone & Wanke, 2001).

Na medicina, Hon (1958) e Caldeyro-Barcia et al. (1957) relataram que a FCF oscilava durante a fase I do parto. Eles estudaram as acelerações e desacelerações transitórias na atividade cardíaca fetal, caracterizaram-nas como normal e resultante de contrações uterinas. Tais eventos não foram descritos em medicina veterinária. Portanto, o presente estudo avaliou se essas mudanças ocorrem em cães, a sua relação com a aproximação do parto, e sua utilidade na previsão do momento adequado para uma cesariana.

## 1.2 Materiais e métodos

Um estudo prospectivo e observacional foi realizado em 15 cadelas gestantes que foram submetidas a um exame ultrassonográfico durante a 8<sup>a</sup> e 9<sup>a</sup> semana de gestação. Todos os procedimentos foram realizados de acordo com as diretrizes do Comitê de Ética de Uso Animal. Em todas as cadelas, o exame foi

realizado com equipamento ultrassonográfico e imagens de alta resolução Ultrasonix (SONIX OP, Ultrasonix Ltda., Richmond, BC, Canadá), Esaote (MyLab 30, Genova, Itália), e General Electric (Logic 3 Expert, GE Healthcare, Wauwatosa, WI, EUA). Transdutores eletrônicos multifrequenciais convexos e lineares com frequências variando de 2,5 a 14,0 MHz foram selecionados de acordo com o tamanho do animal. O pêlo abdominal foi cortado para otimizar a formação da imagem ultrassonográfica.

As fêmeas foram examinadas ultrassonograficamente durante toda a gestação, duas vezes por semana para a determinação do fim da organogênese fetal (Lamm & Makloski, 2012). Os exames ultrassonográficos foram realizados todos os dias para avaliar a FCF até o parto, que aconteceu após a confirmação da presença de peristaltismo intestinal fetal. O período pré-parto foi decretado após a colheita e análise dos dados, por meio de contagem retroativa a partir da data do parto, considerando o dia de nascimento como zero. FCF foi aferida em 72, 48, 24, 12, e entre 6 a 1 hora antes do parto.

A FCF foi avaliada utilizando o modo-M durante 5 minutos em cada feto de todas as cadelas gestantes até no máximo em quatro fetos. Quando mais de quatro fetos estavam presentes, avaliamos pelo menos cinco fetos em posições diferentes. O sofrimento fetal foi definido como uma frequência cardíaca constante entre 160 a 190 bpm. Aferição da FCF durante o período de pré-parto final (6 a 1 hora) variou dependendo do tipo de parto; em cadelas submetidas à cesariana, a FCF foi avaliada uma hora antes da cirurgia, enquanto que naquelas que tiveram parto normal, o exame ultrassonográfico final foi realizado dentro das 6 últimas horas antes do parto.

Os exames ultrassonográficos foram realizados em todos os cães por dois ultrassonografistas, sendo um membro do Colégio Brasileiro de Radiologia Veterinária e o outro um ecocardiografista, que avaliou todos os achados ultrassonográficos relacionadas a frequência cardíaca durante o exame. Além do acompanhamento ultrassonográfico, as gestantes foram monitoradas clinicamente para os sinais de parto, incluindo a diminuição da temperatura retal ( $< 37,2^{\circ}\text{C}$ ), a produção de leite, o comportamento de nidificação e a descarga vulvar.

A tabulação e análise dos dados foram realizados utilizando o Microsoft Office Excel (Microsoft Office 2007 para Windows, Redmond, WA, EUA) e R for

Windows (versão 3.0.1, R Foundation for Statistical Computing, em Viena, Áustria, 2013). Para avaliar a associação entre a FCF e suas oscilações, tempo de ocorrência e características do parto, foi utilizado o modelo de regressão de Poisson. A análise estatística descritiva foi realizada e ajustada no modelo linear generalizado de dados categóricos antes de implementar a regressão de Poisson. As seguintes variáveis foram avaliadas: variável resposta da FCF (bpm), as variáveis explicativas (grupo de animais), bem como o período pré-parto (6 a 1 hora). A distribuição de Poisson foi modelada para as aferições de frequência cardíaca e a análise de regressão de Poisson estimaram o efeito da aceleração e desaceleração da FCF pré-parto. A regressão de Poisson foi ajustada aos dados de FCF nos 15 casos de acordo o grupo experimental e o tempo pré-parto. A estimativa para o grupo 1 (parto normal) foi comparado com as estimativas dos outros grupos. Um *P*-valor de 5% foi considerado significativo e o significado de cada parâmetro foi analisado em relação ao valor definido. Os grupos foram estabelecidos de acordo com os resultados adquiridos e são apresentados a seguir, na seção Resultados.

### **1.3 Resultados**

Quinze cadelas foram incluídas no estudo cujas idades variaram de 1 a 7 anos. Dessas, três tiveram partos normais e doze foram submetidas à cesariana (Tabela 1.1).

Tabela 1.1: Características das cadelas e seus sinais de parto, tipo de parto e tamanho da ninhada.

Cadela	Raça	Idade	Primípara ou plurípara	Sinais de parto iminente	Tipo de parto	Tamanho da ninhada
1	Crista Chinesa	1	Primípara	DTR, LAC, CNI, RCE, CUT, DVU	Parto normal	2
2	SRD	3	Sem histórico	DTR, LAC, CNI, RCE, CUT, DVU	Parto normal	11
3	Pinscher	3	Primípara	DTR, LAC, CNI, RCE, CUT, DVU	Parto normal	6
4	Bulldog Inglês	2	Plurípara	DTR, LAC, CNI, RCE, CUT, DVU	Cesárea	5
5	Bulldog Inglês	3	Primípara	DTR, LAC, CNI, RCE, CUT, DVU	Cesárea	4
6	Pug	3	Plurípara	DTR	Cesárea	6
7	Bulldog Inglês	4	Plurípara	DTR, LAC, CNI	Cesárea	5
8	Bulldog Inglês	3	Plurípara	DTR, LAC, CNI	Cesárea	3
9	Bulldog Inglês	2	Primípara	DTR, LAC, CNI	Cesárea	9
10	Pug	1	Primípara	DTR, DVU	Cesárea	3
11	Schnauzer	6	Plurípara	DTR, LAC, CNI	Cesárea	4
12	SRD	3	Sem histórico	DTR, CNI	Cesárea	6
13	Crista Chinesa	2	Plurípara	DTR	Cesárea – sofrimento fetal*	3
14	Rottweiler	7	Primípara	DTR	Cesárea – sofrimento fetal*	2
15	Schnauzer	4	Plurípara	DTR, LAC	Cesárea – sofrimento fetal*	4

Abreviações: DTR, declínio da temperatura retal; LAC, lactação; CNI, comportamento de nidificação; RCE, relaxamento da cérvix; CUT, contração uterina; DVU, descarga vulvar loquial.

\* Todos os fetos estavam em sofrimento.

As gestantes foram divididas em três grupos: Grupo 1, cadelas que tiveram parto normal (cadelas de 1 a 3); Grupo 2, cadelas que foram submetidas a cesariana, com um ou mais (mas não todos) os fetos em sofrimento (cadelas de 4 a 12); e Grupo 3, formado pelas cadelas que foram submetidas a cesariana, com todos os fetos em sofrimento (cadelas de 13 a 15) (Figura 1.1).

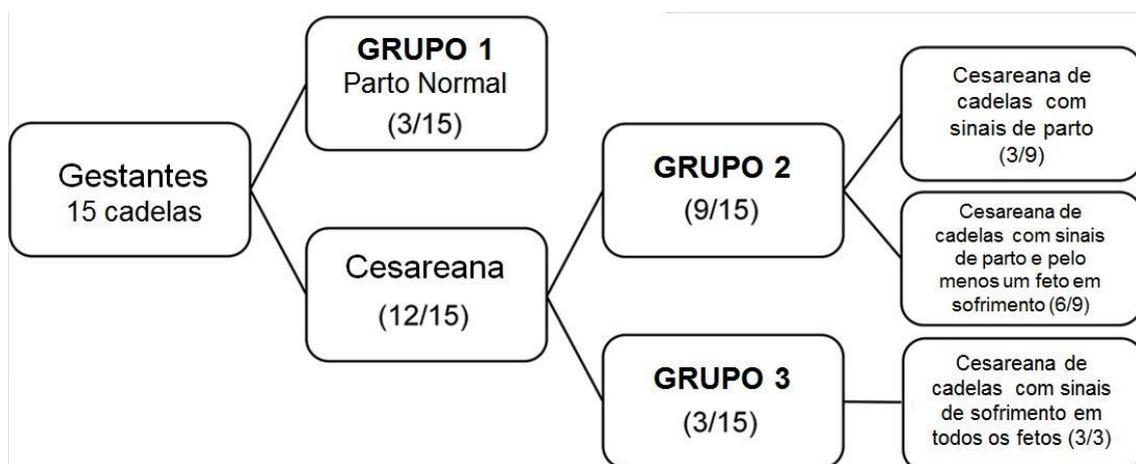


Figura 1.1: Diagrama de fluxo da população do estudo que mostra a distribuição dos grupos e subgrupos de acordo com o tipo de parto e a presença ou ausência de sofrimento fetal.

A variabilidade da FCF foi medida e considerada consistente com acelerações e desacelerações. Estas mudanças ocorreram durante todo o período do estudo de 72 horas até de 6 a 1 hora antes do parto. Inicialmente, as variações da FCF ocorreram apenas em alguns fetos, mas conforme o parto se aproximava, todos os fetos passaram a apresentar essas oscilações. As acelerações e desacelerações na FCF também se alternavam e valores extremos foram observados quando o momento do parto se aproximava. Foram observados valores absolutos extremos da FCF ao longo de um período de 4 segundos, tais como 143-205 bpm, constatados pelo Modo-M, tal como mostrado na Figura 1.2.

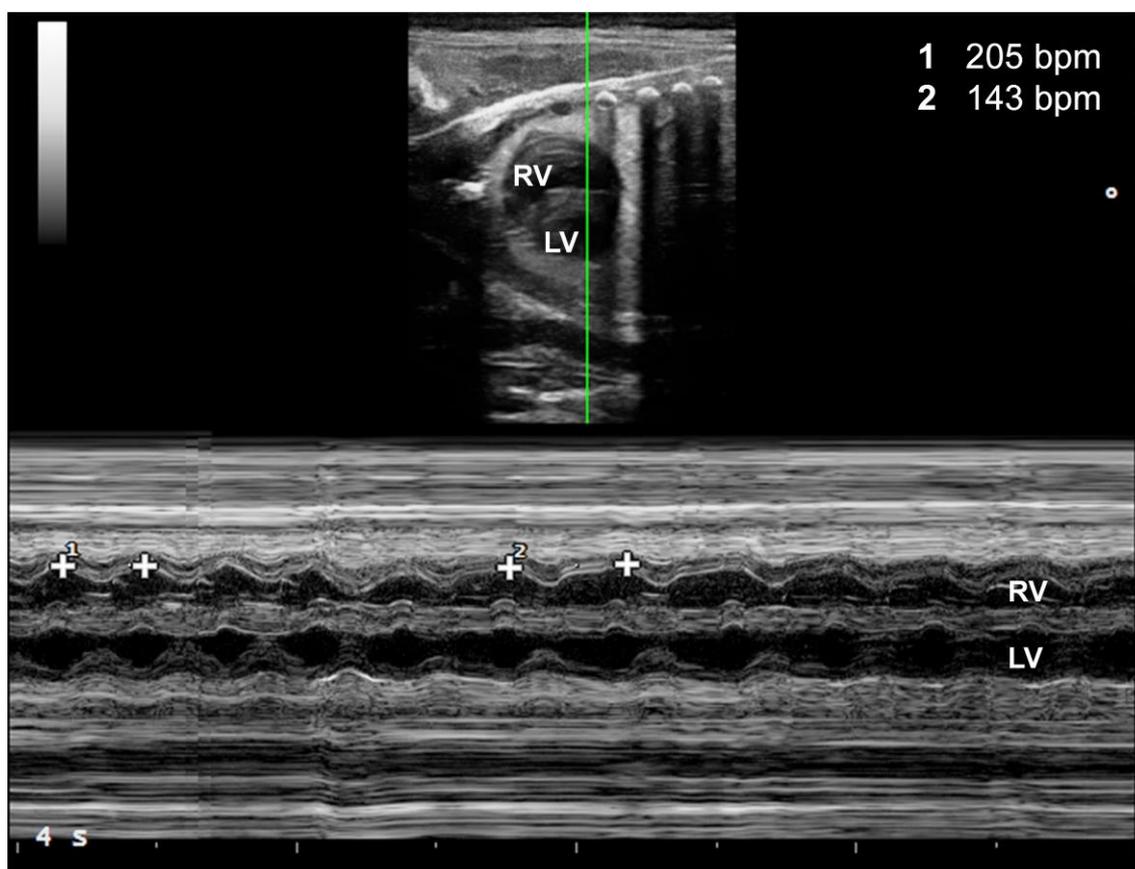


Figura 1.2: Imagem ultrassonográfica modo B (porção superior) e M (porção inferior) do coração fetal canino, ilustrando aceleração e desaceleração da frequência cardíaca. Um período de 4 segundos é mostrado, e a frequência cardíaca oscila entre 143 e 205 batimentos por minuto. LV, ventrículo esquerdo; RV, ventrículo direito.

A Figura 1.3 mostra um gráfico boxplot da distribuição de FCF variável (bpm) por cadela entre 6 e 1 hora antes do parto.

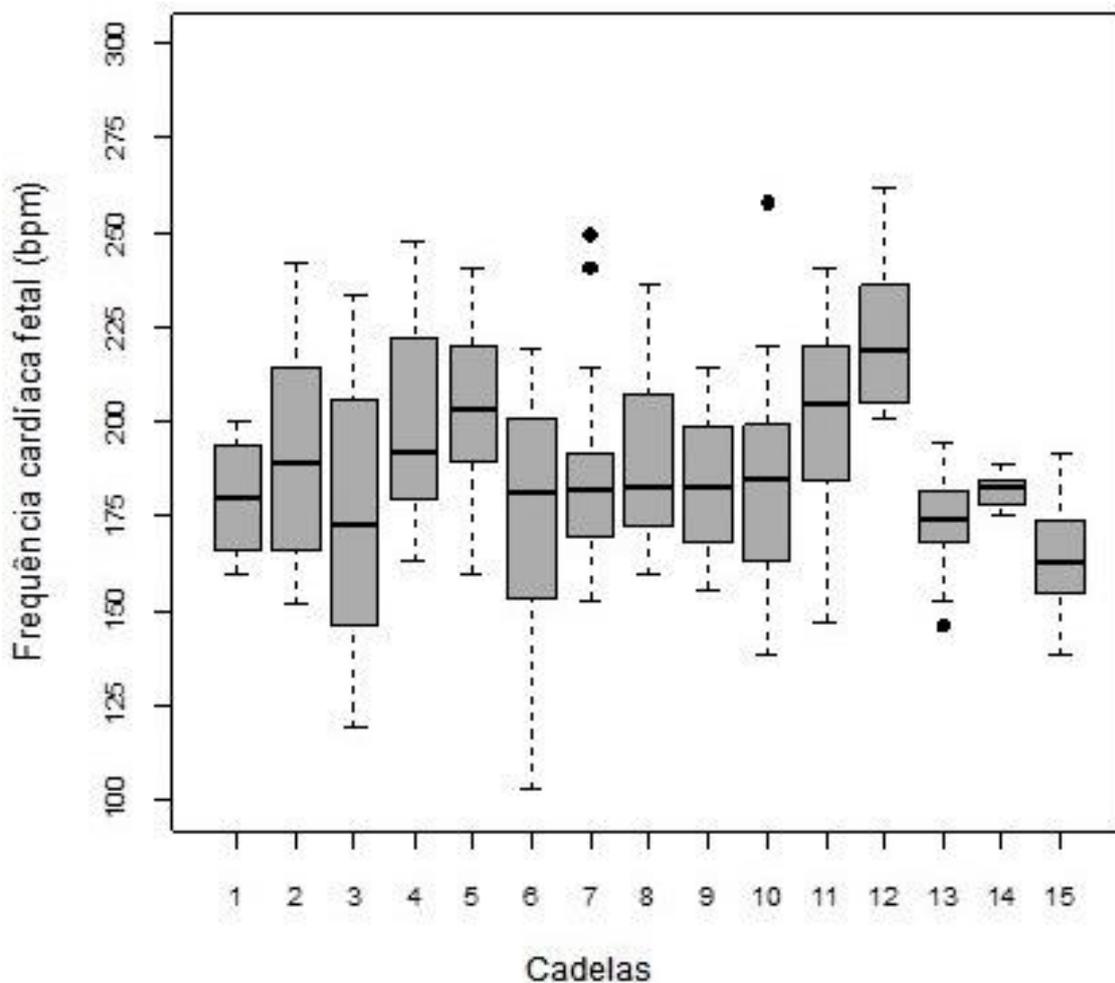


Figura 1.3: Ilustração gráfica do comportamento dos batimentos cardíacos fetais individuais (batimentos por minuto) por cadela 6 a 1 hora antes do parto. Grupo 1: parto normal, cadelas 1-3; Grupo 2: cesariana, um ou mais (não todos) os fetos em sofrimento, cadelas 4 a 12; Grupo 3: cesariana, todos os fetos em sofrimento, cadelas 13 a 15.

O gráfico de dispersão da FCF durante o período pré-parto para cadelas dos grupos 1 e 2 é mostrado na Figura 1.4. Conforme o parto se aproximava, as desacelerações de FCF atingiram um mínimo de 103 bpm e sustentou valores máximos acima de 200 bpm.

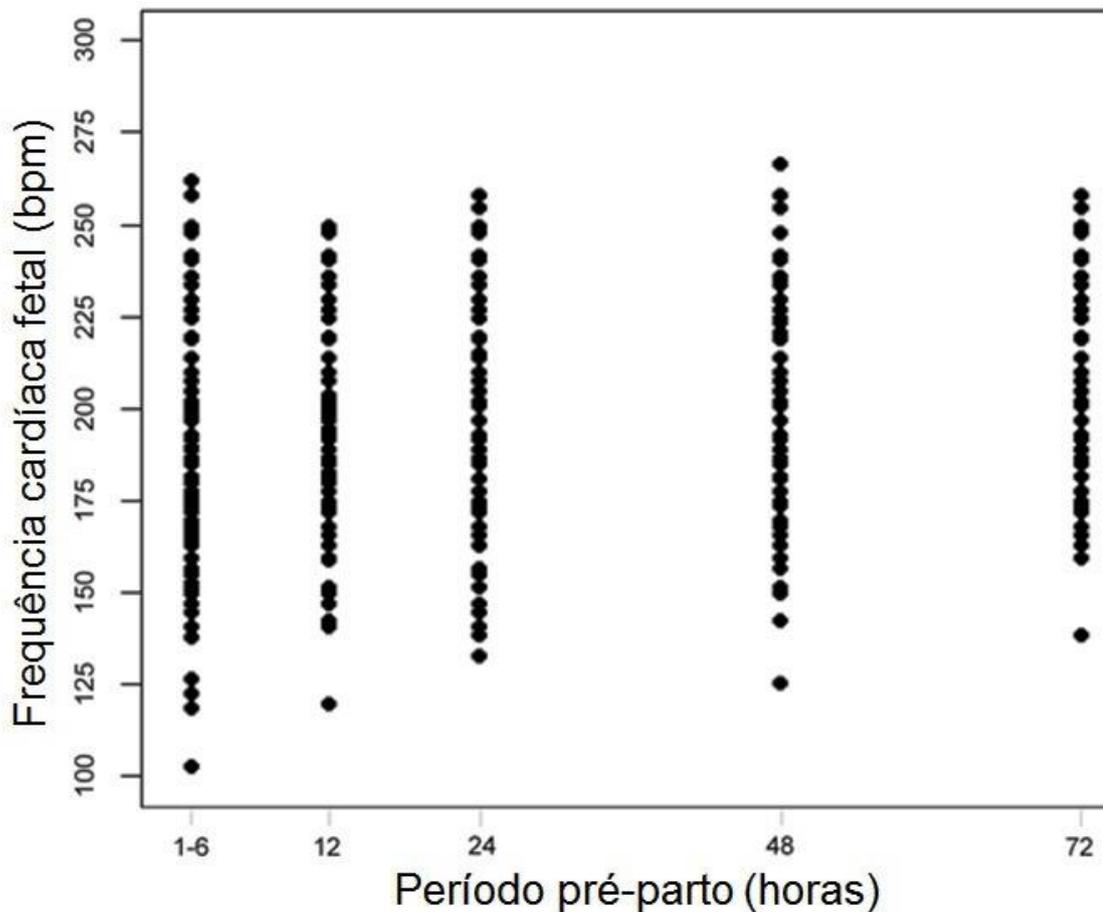


Figura 1.4: Gráfico de dispersão da frequência cardíaca fetal (batimentos por minuto) nas cadelas de 1 a 12 que compreendem tanto parto normal e cesariana com um ou mais fetos (não todos) em sofrimento, de acordo com o período pré parto (horas).

Todos os fetos do grupo 1 (3/3) tiveram a aceleração e desaceleração da frequência cardíaca em 6 a 1 hora antes do parto variando entre 119 a 242 bpm. Na cadela 1, as acelerações e desacelerações da FCF começaram dentro de 12 horas antes do parto em todos os fetos. Na cadela 2, mudanças na FCF foram observados em apenas alguns fetos 48 horas antes do parto. Na cadela 3, a aceleração e desaceleração foi observada em alguns fetos dentro de 72 horas antes do parto, mas conforme a hora do parto se aproximava, todos os fetos apresentaram acelerações e desacelerações da FCF (Figura 1.5).

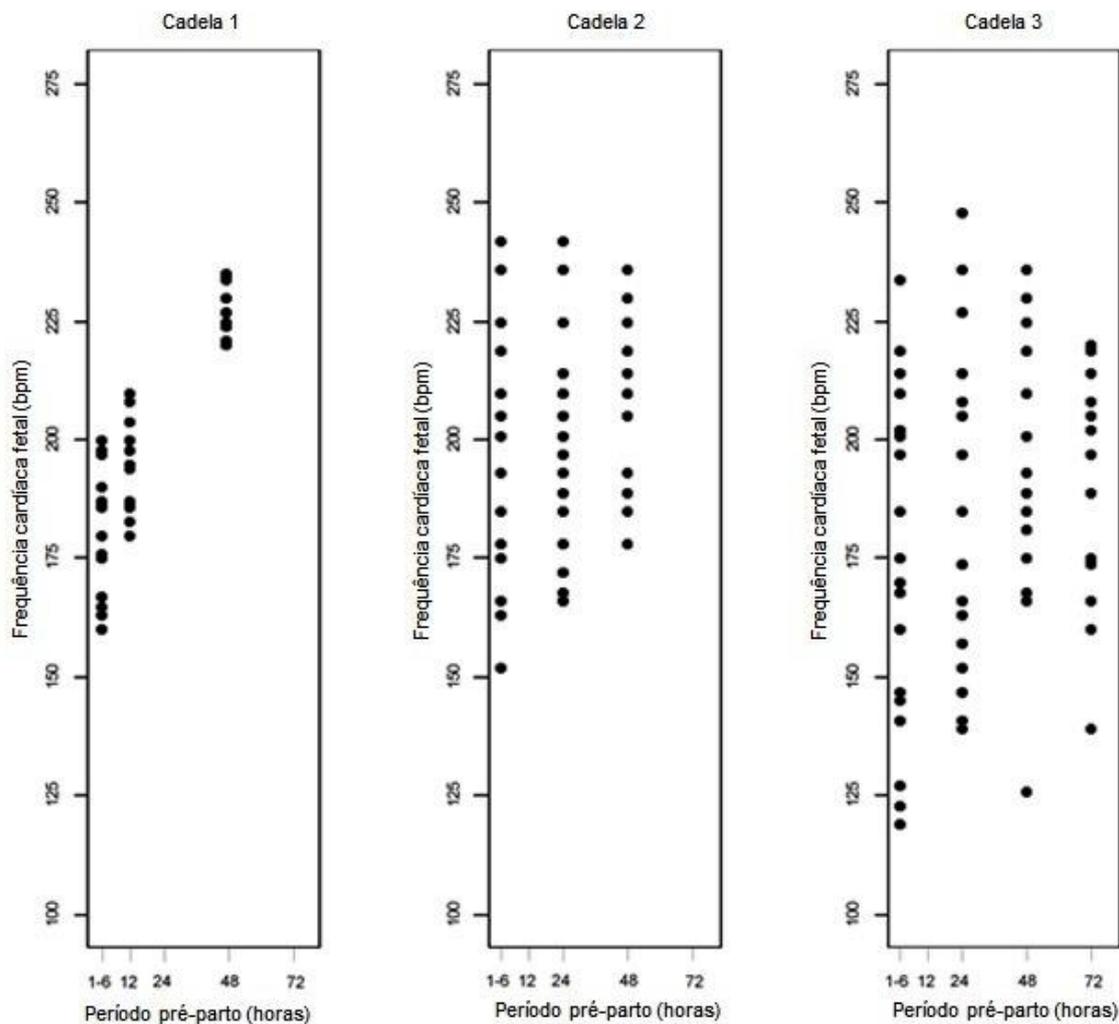


Figura 1.5: Ilustração gráfica de dispersão da frequência cardíaca fetal (batimentos por minuto) ao longo do tempo (horas) no grupo 1 (parto normal).

Os fetos em dois buldogues ingleses do grupo 2 (2/9) (cadelas 4 e 5) apresentaram sofrimento. A aceleração e desaceleração da FCF foram observadas iniciando 12 horas antes da cesariana; esta variação persistiu no período de 6 a 1 hora antes do parto. Com base nas variações das FCF associados aos sinais de parto, as cadelas foram submetidas a cesarianas (Tabelas 1.1 e 1.2).

Tabela 1.2: Cadelas dos grupos 2 e 3: causas de distocia e/ou indicação para uma cesariana.

Grupo	Cadela	Causa da distocia/indicação da cesárea
2	4	Desaceleração e aceleração da frequência cardíaca fetal; sinais do parto
	5	Desaceleração e aceleração da frequência cardíaca fetal; sinais do parto
	6	Fetos com sofrimento, mas não todos; sinais do parto; prolapso vaginal
	7	Fetos com sofrimento, mas não todos; sinais do parto
	8	Fetos com sofrimento, mas não todos; sinais do parto
	9	Fetos com sofrimento, mas não todos; sinais do parto
	10	Fetos com sofrimento, mas não todos; sinais do parto
	11	Fetos com sofrimento, mas não todos; sinais do parto; hiperplasia endometrial cística
	12	Todos fetos sem desaceleração da frequência cardíaca e acima de 200 bpm; sem contrações; respiração ofegante e letargia.
	3	13
14		Todos os fetos em sofrimento; sem sinais do parto
15		Todos os fetos em sofrimento; sinais do parto; um feto macerado

No Grupo 2 (6/9) (cadelas 6 a 11), um ou mais, mas não todos os fetos, apresentaram sinais de sofrimento fetal (FCF persistentemente entre 160 e 190 bpm) de 6 a 1 hora no pré-operatório. Os outros fetos dessas gestantes apresentaram desacelerações e acelerações da FCF (Figura 1.2). Com base nestas observações fetais e outras indicações, a cesariana foi realizada (Tabela 1.2). Em todas as cadelas a diminuição da temperatura retal, lactação e comportamento de nidificação foram detectados sem qualquer outro sinal de parto. Na cadela 6 foi observado prolapso uterino antes do parto. A cadela 10 gestou três fetos que tinham diferentes frequências cardíacas no período de 6 a 1 hora antes do parto. Dos três fetos, um estava em sofrimento fetal com FCF entre 160 e 185 bpm, outro com acelerações e desacelerações da frequência cardíaca entre 185 e 236 bpm, e o terceiro com acelerações e desacelerações de FCF entre 138 e 225 bpm. Na cadela 11 foi diagnosticada hiperplasia endometrial cística ao longo dos cornos uterinos.

Na cadela 12 (grupo 2, 1/9), os períodos de maior aceleração e desaceleração HR foram inicialmente observados nos fetos (48 e 24 horas no pré-operatório, figura 1.6) e vários sinais do parto ocorreram, mas essas mudanças cessaram em 6 a 1 hora pré-parto; as FCF já não desaceleravam e manteve-se acima de 200 bpm (Figura 1.6); além disso, a cadela não apresentou sinais de parto e se tornou letárgica. Por isso, a cesariana foi indicada (Tabela 1.2).

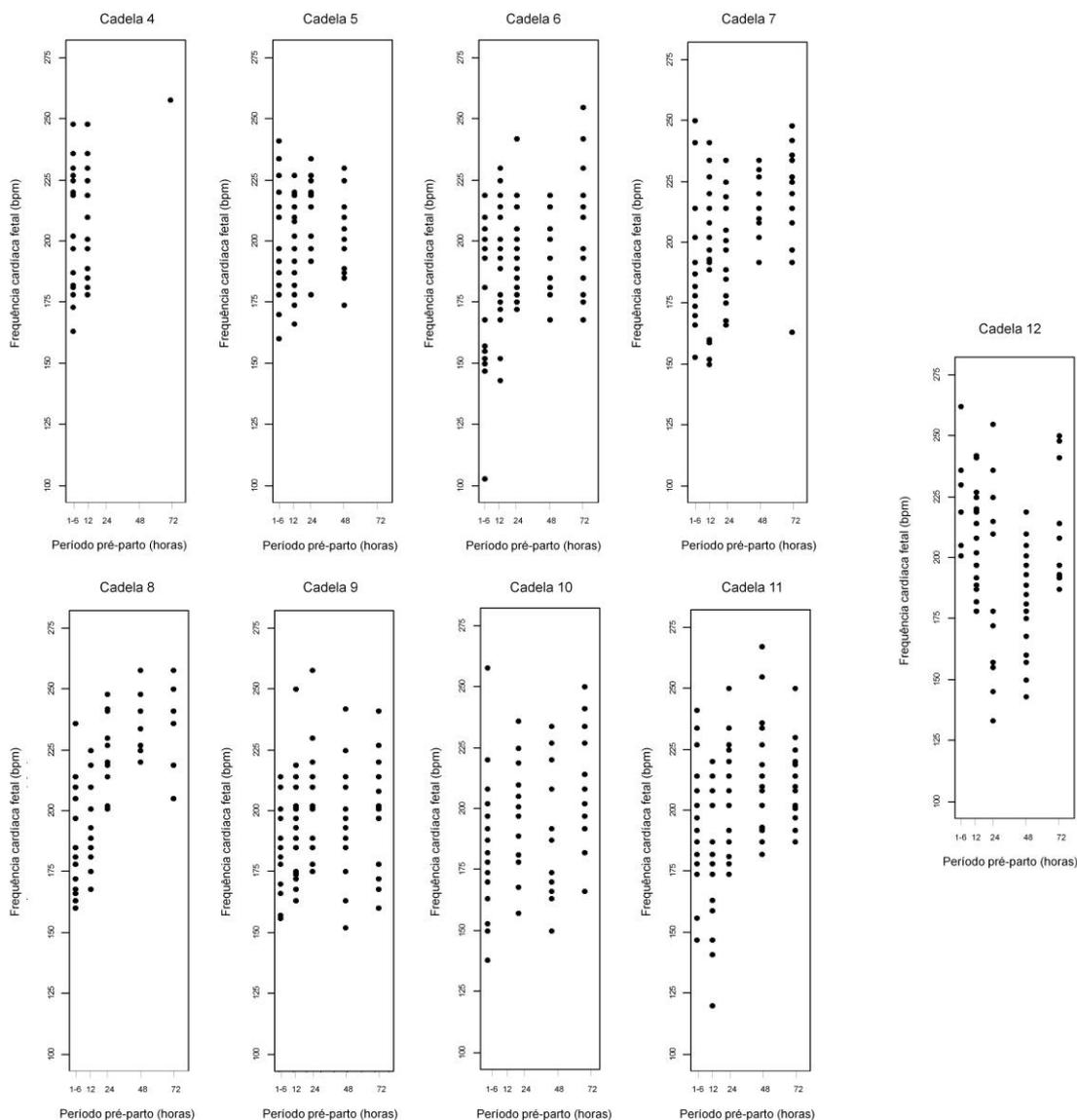


Figura 1.6: Ilustração gráfica de dispersão da frequência cardíaca fetal canina (batimentos por minuto) ao longo do tempo (horas) no grupo 2 (cesariana, um ou alguns fetos em sofrimento).

Durante o período pré-parto, a maior queda na FCF é observada nos fetos do grupo 1 (parto normal – Figura 1.5). A mesma tendência da FCF ocorreu no grupo 2 (cesariana, Figura 1.6), exceto na cadela 12, onde a FCF retornou para um valor superior a 200 bpm durante o período de 6 a 1 hora antes do parto.

No grupo 3 (3/3) (cadelas 13, 14 e 15), todos os fetos estavam em sofrimento no período de 6 a 1 hora antes do parto e cesarianas foram indicadas (Tabela 1.2). As cadelas 13 e 14 (2/3) não tiveram sinais de parto e suas temperaturas retais haviam diminuído ao longo dos últimos 2 dias, mas retornaram ao normal no dia da cesariana. Em uma cadela (cadela 14), sinais de

ruptura uterina foram observados durante a cirurgia. A cadela 15 apresentou apenas lactação como um sinal de pré-parto, e um feto macerado foi observado, o qual foi previamente visualizado e monitorado pelo exame ultrassonográfico durante a gestação.

No grupo 3 (todos os fetos em sofrimento), foram observadas desacelerações da FCF durante o período pré-parto de 12 horas, no entanto, durante o período de pré-parto de 6 a 1 hora, a frequência cardíaca não ultrapassava 200 bpm, não apresentou desacelerações marcadas, e manteve-se em uma faixa consistente (Figura 1.7).

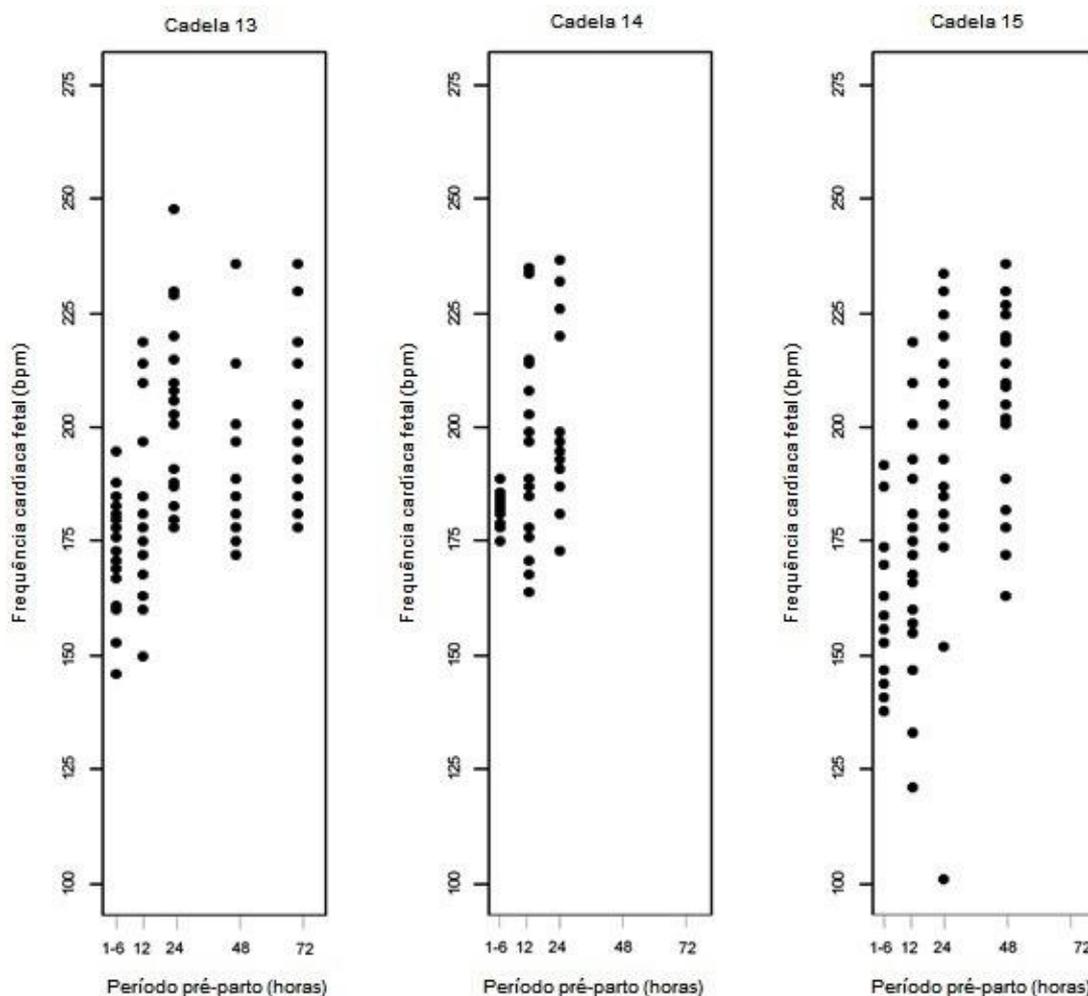


Figura 1.7: Ilustração gráfica de dispersão da frequência cardíaca fetal canina (batimentos por minuto) ao longo do tempo (horas) no grupo 3 (cesariana, todos os fetos em sofrimento).

As estimativas do modelo Poisson são apresentadas na tabela 1.3. O desvio do modelo foi de 3612,40 com 1206 graus de liberdade, mostrando que o

ajuste foi adequado. Além disso, haviam estimativas significativas entre os grupos 2 (cesariana) e 3 (parto cesárea com todos os fetos em sofrimento). Considerando o valor de  $P < 0,05$  e rejeitando a hipótese de que  $\beta_1 = \beta_2 = 0$ , pôde-se concluir que as mudanças na FCF estavam relacionadas ao período pré-parto nestes grupos. Portanto, as cadelas no grupo 3 deveriam ter parido dentro de 12 horas, conforme evidenciado pela estimativa negativa. O grupo 2 é semelhante ao grupo 1, tal como indicado pela estimativa positiva. Os filhotes que vieram a termo nasceram saudáveis; não houve mortalidade, incluindo aqueles que estavam anteriormente em sofrimento.

Tabela 1.3: Valores para as estimativas dos parâmetros do modelo Poisson ajustadas para os dados da frequência cardíaca fetal canina.

Efeitos	Parâmetros	Estimativa	Padrão E/E	Z-value	P-value
Constante	A	5,226	0,00584	894,8100	<2E-16***
Fator Grupo 2	B <sub>1</sub>	0,0403	0,005835	6,9060	4,9800E-12***
Fator Grupo 3	B <sub>2</sub>	-0,01588	0,007166	-2,2160	0,0267*
Periodo	Y	0,001425	0,00008234	17,3110	<2E-16***

\*\*\* 0; \*\* 0,01

## 1.4 Discussão

No presente estudo, mostramos que a aceleração e desaceleração da frequência cardíaca ocorre nos fetos caninos durante o período pré-parto. Este fenômeno foi relatado pela primeira vez em fetos humanos por Hon (1958) e Caldeyro-Barcia et al. (1957); estes relataram que a FCF tem variações normais que ocorrem durante as contrações uterinas e que os fetos humanos sofrem desacelerações, também chamados de "dips ou falls", sendo que essas mudanças estão associadas ao pico da contração uterina. Tais mudanças não foram previamente relatadas em cães ou em outras espécies na medicina veterinária.

As acelerações e desacelerações da FCF nos fetos humanos são caracterizadas como "dips" tipo I ou II, e ambos estão associados a variações na frequência cardíaca e correlacionados a contração uterina. Dips tipo I são mais curtos em duração e amplitude, correspondem ou sucedem o pico de contração, ocorrem em um curto período, e são mais evidentes no início do parto. Suspeita-se que os dips tipo I são causados por estimulação vagal causada pela

compressão do cordão umbilical ou do crânio. Apesar de seu início gradual, os dips tipo II são também relacionados às contrações uterinas e iniciam após o pico da contração. No entanto, o retorno de uma FCF a valores normais nestas circunstâncias ocorre mais tardiamente, geralmente após o fim da contração.

Acreditamos que estas duas variações – dips tipo I e II - podem ser identificadas em fetos caninos. No entanto, a cardiotocografia não estava disponível, o que seria necessário para adequada mensuração da frequência, extensão e duração da contração uterina nas cadelas, portanto, alterações na frequência cardíaca apenas atuaram como indicadores dos dips tipo I e II, foram transitórias acelerações e desacelerações (Dildy, 2005; Graham et al., 2006; Bakker et al., 2007; Tranquilli, 2012; Schenettler et al., 2012).

No grupo 1 (3/15), nas cadelas que tiveram parto normal, as frequências cardíaca de todos os fetos não permaneceu constante durante o período pré-parto imediato (6 a 1 hora); acelerações e desacelerações, oscilações rápidas e intermitentes, atingindo um mínimo de 119 bpm foram observadas (Figura 1.5). No geral, a FCF reduziu conforme o parto se aproximava. Esta tendência também foi observada no grupo 2 (Figura 1.6). Uma redução na frequência cardíaca em todos os fetos pode ser confundida como evidência de sofrimento fetal. Ao invés disto, a redução na FCF deve ser considerada fisiológica e normal quando associada a elevações subsequentes da frequência cardíaca. Isto é evidenciado pelo resultado positivo para os filhotes; todos nasceram vivos e saudáveis. Notavelmente, a mudança na FCF pode ser identificada dentro de 72 horas antes do parto e irá ocorrer em todos os fetos conforme o parto se aproxima.

Além de aceleração e desaceleração da frequência cardíaca, cadelas do grupo 1 também mostraram sinais de parto iminente, tais como diminuição da temperatura retal, a lactação, o comportamento de nidificação e descarga vulvar durante a gestação (Concannon et al., 1977; Johnston et al., 2001). Estes sinais clínicos guiaram nossa interpretação em relação à variação da frequência cardíaca e sua relação com o parto iminente (Tabela 1.1 e Figura 1.4).

No presente estudo, 12 das 15 cadelas foram submetidas à cesariana (grupos 2 e 3) por causa dos sinais obstétricos de parto iminente (2/15), sofrimento fetal em pelo menos um (mas não todos) dos fetos (6/15), ou distocia (12/15) (Figura 1.1). A elevada incidência de distocia provavelmente resultou do

grande número de cadelas braquicéfalas nos grupos experimentais (7/15, Tabela 1.2). As raças braquicéfalas são predispostas a distocia porque são propensas à não passagem do feto pelo canal do parto. Elas são geneticamente selecionadas para apresentarem cabeça larga e uma pelve estreita; portanto, uma cesariana é normalmente necessária (Johnston et al., 2001; Jackson, 1995; Linde-Forsberg, 2005; Bergstrom et al., 2006; Evans & Adams, 2010; Wydooghe et al., 2013).

As oscilações da FCF foram úteis na tomada de decisão para encaminhar as cadelas para a cesariana. Esta estratégia mostrou-se mais eficaz, correlacionando os dados de FCF, os sinais obstétricos e outras características físicas das cadelas do grupo 2 (9/15). Com exceção da cadela 12, em que a FCF retornou a valores superiores a 200 bpm, os fetos do grupo 2 mostraram declínios nas oscilações da frequência cardíaca associados com aceleração e desaceleração, como demonstrado na figura 1.6 e modelo de Poisson.

Presumivelmente, o regresso a uma FCF normal (201-262 bpm) dentro de 6 a 1 hora na cadela 12 foi devido à provável inércia uterina (Johnston, 2001; Linde-Forsberg, 2005; Smith, 2012) após a contração prévia não resultar em expulsão fetal (Figura 1.6). A cadela iniciou o parto com uma redução na temperatura retal e no apetite, no entanto, durante o último exame ultrassonográfico (6 a 1 hora) a FCF voltou ao normal e a cadela apresentava-se dispneica e letárgica. A cesariana foi indicada com base no quadro obstétrico materno. Talvez um protocolo obstétrico adequado pudesse ter facilitado a expulsão fetal sem recorrer à cirurgia, mas independentemente disso, os fetos nasceram saudáveis após a cesariana. Notavelmente, as oscilações da FCF ocorreram nesta cadela entre 72 e 12 horas antes do parto e só retornaram a taxa de base (200-250 bpm), 6 a 1 hora pré-parto, confirmando que esta alteração fisiológica é causada por contrações uterinas.

As cadelas foram categorizadas em grupos 2 e 3 (as que foram submetidas a cesariana), em parte, por meio da mensuração da frequência cardíaca em todos os fetos. Em algumas cadelas do grupo 2 (6/9), a cesariana foi indicada e realizada no momento em algum feto apresentou sinais de sofrimento, enquanto que cadelas do grupo 3 (3/3), todos os fetos apresentaram esses sinais. A aplicabilidade foi confirmada pelo modelo de Poisson e a diferença foi estatisticamente significativa entre FCF nos grupos 2 e 3 ( $P = 0,0267$ ). A análise

estatística indica que os fetos do grupo 3 deveriam ter nascido dentro de 12 horas do parto, evidenciado pela estimativa negativa a partir do modelo de Poisson. Nesse momento (12 horas antes do parto), foi observada idêntica aceleração e desaceleração da FCF entre os grupos, mas o parto não ocorreu no grupo 3, e os fetos entraram em sofrimento, definida como uma FCF constante entre 160 e 180 bpm com nenhum pico de aceleração ou desaceleração clara.

Apesar das várias etiologias de distocia no grupo 3 (3/3), os filhotes que vieram a termo nasceram saudáveis, validando o momento adequado para as intervenções cirúrgicas. Neste estudo, o feto foi considerado em sofrimento com a FCF constante entre 160 e 180 bpm. A definição de sofrimento fetal canino e a associação da FCF indicando este evento merece um estudo mais aprofundado. O principal desafio é evitar a realização de cesarianas prematuras, impedindo a morte resultante de neonatos imaturos. Portanto, as oscilações da frequência cardíaca podem ajudar a prever o momento ideal do parto, assim como sugerir uma hígidez fetal canina. A gestação nestas cadelas pôde ser monitorada por ultrassonografistas e o parto normal previsto com segurança.

Várias limitações devem ser consideradas na interpretação dos resultados do presente estudo. As cadelas gestantes utilizadas neste estudo eram de proprietários privados, o que dificultou a coleta de dados em alguns momentos. A cardiocografia não estava disponível para analisar as contrações uterinas simultaneamente aos exames ultrassonográficos, portanto, não fomos capazes de detectar especificamente os dips tipo I e II. No entanto, a utilização de tal equipamento em mulheres é controverso (Freeman, 2002) e não foi testado em cães.

O momento exato de oscilações da frequência cardíaca nos fetos caninos não pôde ser verificada com total precisão, apesar de se observar altas FCF começando 72 horas em diante e do envolvimento de todos os fetos dentro de 6 a 1 hora pré-parto. Potencialmente, essas oscilações podem ser correlacionadas com a maturidade fetal, já que fetos de diferentes idades podem estar presentes na mesma ninhada (Tsutsui, 1989; Reynaud, et al., 2005; Tsutsui et al., 2006). O estudo também é limitado pelo baixo número de cadelas, especialmente cadelas com parto normal.

Os resultados desse estudo poderão orientar os veterinários e ultrassonografistas na designação de candidatas adequados para cesarianas e determinar o momento ideal para intervenção cirúrgica em cadelas gestantes.

#### *1.4.1 Conclusões*

A aceleração e desaceleração da FCF canina e a interpretação dessas oscilações podem prever com mais precisão o parto iminente. Os sinais obstétricos de parto também devem ser avaliados quando há evidência de aceleração e desaceleração da frequência cardíaca em todos os fetos.

### **1.5 Agradecimentos**

Agradecemos a CAPES pela bolsa concedida e ao Dr. Donato Parra Gil pelas orientações clínicas e obstétricas. Além disso, os autores gostariam de agradecer à estudante de medicina veterinária, Mariana Regina Rompkovski, que ajudou a conter as cadelas gestantes durante o exame ultrassonográfico e Eliane de Fátima Coimbra pela ajuda com a análise estatística. Por último, mas não o menos importante, os nossos principais agradecimentos aos proprietários que concordaram em colaborar neste estudo.

### **1.6 Referências**

BAKKER, P. C; VAN RIJSWIJK, S.; VAN GEIJN, H. P. Uterine activity monitoring during labor. **Journal of Perinatal Medicine**, vol. 35, n. 6, p. 468 - 477, 2007.

BERGSTROM, A.; NODTVEDT, A.; LAGERSTEDT, A. S; EGENVALL, A. Incidence and breed predilection for dystocia and risk factors for cesarean section in a Swedish population of insured dogs. **Veterinary Surgery**, vol. 35, n. 8, p. 786 - 791, 2006.

CALDEYRO-BARCIA, R.; SICA-BLANCO, Y.; POSEIRO, J. J.; GONZALEZ PANIZZA, V.; MENDEZ-BAUER, C.; FIELITZ, C.; et al. A quantitative study of the action of synthetic oxytocin on the pregnant human uterus. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, vol.121, n. 1, p. 18-31, 1957.

CONCANNON, P. W.; POWERS, M. E.; HOLDER, W.; HANSEL, W. Pregnancy and parturition in the bitch. **Biology of Reproduction**, vol. 16, n. 4, p. 517-526, 1977.

CONCANNON, P. W.; WHALEY, S.; LEIN, D.; WISSLER, R. Canine gestation length: variation related to time of mating and fertile life of sperm. **American Journal of Veterinary Research**, vol. 44, n. 10, p. 1819-1821, 1983.

DILDY, G. A. 3<sup>rd</sup> Intrapartum assessment of the fetus: historical and evidence-based practice. **Obstetrics & Gynecology Clinics of North America**, vol. 32, n. 2, p. 255-271, 2005.

EVANS, K. M.; ADAMS, V. J. Proportion of litters of purebred dogs born by Caesarean section. **Journal of Small Animal Practice**, vol. 51, n. 2, p. 113-118, 2010.

FREEMAN, R. K. Problems with intrapartum fetal heart rate monitoring interpretation and patient management. **Obstetrics & Gynecology**, vol. 100, n. 4, p. 813-826, 2002.

GRAHAM, E. M.; PETERSEN, S. M.; CHRISTO, D. K.; FOX, H. E. Intrapartum electronic fetal heart rate monitoring and the prevention of perinatal brain injury. **Obstetrics & Gynecology**, vol. 108, n. 6, p. 656-666, 2006.

HON, E. H. The electronic evaluation of the fetal heart rate; preliminar report. **American Journal of Obstetrics & Gynecology**, vol. 175, n. 3 pt. 1, p. 1215-1230, 1958.

JACKSON, P. G. G. **Handbook of veterinary obstetrics**. 2. ed. Philadelphia: WB Saunders Company, 1995.

JOHNSTON, S. D.; ROOT KUSTRITZ, M. V.; OLSON, P. N. S. **Canine and feline theriogenology**. 1. ed. Philadelphia: WB Saunders Company, 2001.

JOHNSTON, S. D.; ROOT KUSTRITZ, M. V.; OLSON, P. N. S. Canine pregnancy. In: \_\_\_\_\_. **Canine and feline theriogenology**. Philadelphia: WB Saunders Company, 2001. p. 66-104.

KUTZLER, A. M.; YEAGER, A. E.; MOHAMMED, H. O.; MEYERS-WALLEN, V. N. Accuracy of canine parturition date prediction using fetal measurements obtained by ultrasonography. **Theriogenology**, vol. 60, n. 7, p. 1309-1317, 2003.

LAMM, C. G.; MAKLOSKI, C. L. Current advances in gestation and parturition in cats and dogs. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, vol. 42, n. 3, p. 445-456, 2012.

LINDE-FORSBERG, C. Abnormalities in pregnancy, parturition and the periparturient period. In: ETTINGER, S.; FELDMAN, E. **Textbook of veterinary obstetrics**. London: WK Saunders Company; 2005. p. 1655-1667.

OKKENS, A. C.; TEUNISSEN, J. M.; VAN OSCH, W.; VAN DEN BROM, W. E.; DIELEMAN, S. J.; KOOISTRA, H. S. Influence of litter size and breed on the duration of gestation in dogs. **Journal of Reproduction and Fertility. Supplement**, vol. 57, p. 193-197, 2001.

REYNAUD, K.; FONTBONNE, A.; MARSELOO, N.; THOUMIRE, S.; CHEBROUT, M.; DE LESEGNO, C. V.; et al. In vivo meiotic resumption, fertilization, and early embryonic development in the bitch. **Reproduction**, vol. 130, n. 2, p. 193-201, 2005.

ROOT, K. M. V. Pregnancy diagnosis and abnormalities of pregnancy in the dog. **Theriogenology**, vol. 64, n. 3, p. 755-765, 2005.

ROOT, K. M. V. **Small animal theriogenology**. 1. ed. St Louis: Butterworth Heinemann, 2003.

SCHNETTLER, W. T.; ROGERS, J.; BARBER, R. E.; HACKER, M. R. A modified fetal heart rate tracing interpretation system for prediction of Cesarean section. **The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine**, vol. 25, n. 7, p. 1055-1058, 2012.

SMITH, F. O. Guide to emergency interception during parturition in the dog and cat. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, vol. 42, n. 3, p. 489-499, 2012.

TRANQUILLI, A. L. Fetal heart rate in the second stage of labor: recording, reading, interpreting and acting. **The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine**, vol. 25, n. 12, p. 2551-2554, 2012.

TSUTSUI, T. Gamete physiology and timing of ovulation and fertilization in dog. **Journal of Reproduction and Fertility. Supplement**, vol. 39, p. 269-275, 1989.

TSUTSUI, T.; HORI, T.; ENDO, S.; HAYAMA, A.; KAWAKAMI, E. Intrauterine transfer of early canine embryos. **Theriogenology**, vol. 66, n. 6-7, p. 1703-1705, 2006.

WYDOOGHE, E.; BERGHMANS, E.; RIJSSELAERE, T.; VAN SOOM, A. International breeder inquiry into the reproduction of the English bulldog. **In Practice**, vol. 82, p. 38-43, 2013.

ZONE, M. A.; WANKE, M. M. Diagnosis of canine fetal health by ultrasonography. **Journal of Reproduction Fertility. Supplement**, vol. 57, 215-219, 2001.

## CAPÍTULO 2

### Determinação ultrassonográfica do sexo fetal em cães

#### Resumo

A determinação ultrassonográfica do sexo do feto não fora previamente relatada em cães. O objetivo desse estudo foi descrever uma metodologia ultrassonográfica para determinar o sexo do feto canino intrauterino. Um estudo prospectivo e observacional foi conduzido em cadelas gestantes submetidas ao exame de ultrassom, para a visualização da genitália fetal entre a oitava e nona semana de gestação. O sexo do feto intrauterino foi declarado após acordo consensual de dois ultrassonografistas. Vinte e seis cadelas gestantes foram incluídas no estudo e um total de 76 fetos foram avaliados. A acurácia da ultrassonografia e a probabilidade de se determinar o sexo dos fetos foram calculadas. Esse estudo descreve a técnica e o aspecto ultrassonográfico da genitália externa em fetos caninos intrauterinos e demonstra que a determinação do sexo é possível entre 55 e 58 dias de gestação, com 100% de precisão quando há até dois fetos na ninhada, mas a acurácia da análise reduz à medida que o tamanho da ninhada aumenta.

**Palavras-chave:** canino, sexagem fetal, ultrassonografia, gestação, diagnóstico

#### Abstract

Ultrasonographic determination of foetal sex in dogs has not previously been reported. The aim of this study was to describe an ultrasound methodology to determine the sex of the intrauterine foetus canine. A cohort study was conducted in pregnant bitches to perform ultrasound examination of the foetal genitalia between the eighth and ninth week of gestation. Foetal sex was determined *in-utero* by consensus agreement of two sonographers. Twenty-six pregnant bitches were included in this study and a total of 76 foetuses were evaluated. The accuracy of ultrasonography and the probability of determining the sex of foetuses was calculated. This study describes the sonographic appearance of the external genitalia in canine foetuses in utero and demonstrates that sex determination is possible between 55 and 58 days of gestation with 100% accuracy when there are up to two foetuses in the litter, but the accuracy of the analysis reduces the greater litter size in the bitch.

**Keywords:** canine, foetal sex determination, ultrasonography, pregnancy, diagnosis

## 2.1 Introdução

A ultrassonografia obstétrica é a técnica de imagem mais comum na reprodução veterinária, por ser simples, confiável, não-invasiva e de baixo custo (Nyland & Mattoon, 2015). A ultrassonografia gestacional é usada rotineiramente no acompanhamento pré-natal em mulheres e em algumas espécies de animais (Curran, 1992; Meagher & Davison, 1996; Lopate, 2008; Davidson & Baker, 2009; Lamm & Makloski, 2012). É indicada para a confirmação da gestação, identificação de defeitos fetais congênitos, avaliação da morfologia e localização da placenta e do fluxo sanguíneo, avaliar fluido uterino e edema endometrial ou inflamação, identificar a presença de alterações hiperplásicas endometriais císticas, avaliar a viabilidade e o desenvolvimento fetal, e auxiliar na identificação de sofrimento fetal (Kim & Son, 2007; Aissi & Slimani, 2008; Lopate, 2008; Davidson & Baker, 2009; Lamm & Makloski, 2012).

A qualidade dos equipamentos de ultrassom para determinação do sexo no feto humano tem evoluído ao longo do tempo. Na década de 1980, o sexo fetal humano podia ser determinado com precisão moderada em torno de 25 semanas de gestação (Scholly et al., 1980; Weldner, 1981). Atualmente, o sexo do feto humano pode ser visualizado pelo exame ultrassonográfico na 13ª semana de gestação (Meagher & Davison, 1996; Whitlow et al., 1999; Efrat et al., 1999; Benoit, 1999).

O primeiro relato da utilização de ultrassom na medicina veterinária reprodutiva foi para descrever a sua utilização na identificação da prenhez em ovelhas (Lindahl, 1966). Desde então, tornou-se possível a utilização da ultrassonografia para diagnóstico de gestação em todas as espécies domésticas e para identificar o sexo fetal de ovinos, bovinos e equinos (Müller & Wittkowski, 1986; Curran & Ginther, 1991; Curran, 1992; Garcia et al., 1993; Yotov et al., 2011). Para estas espécies existem razões econômicas para a identificação do sexo fetal pré-parto, mas em caninos essa aplicabilidade ainda não fora descrita. Os criadores e proprietários de cães frequentemente desejam saber o sexo dos filhotes por razões emocionais ou comerciais.

A determinação ultrassonográfica do sexo fetal não foi previamente relatada em cães. Nossa hipótese era que poderíamos definir o sexo fetal canino

por meio da ultrassonografia. Os objetivos desse estudo foram: 1. Determinar se a caracterização do sexo pela ultrassonografia é possível em fetos de cães; 2. Descrever o aspecto ultrassonográfico da genitália de fetos femininos e masculinos; 3. Definir a acurácia do exame ultrassonográfico na identificação intrauterina do sexo dos fetos caninos.

## **2.2 Materiais e métodos**

### *2.2.1 Seleção das pacientes*

Um estudo prospectivo e observacional foi realizado em cadelas gestantes para a caracterização do sexo fetal por meio do exame ultrassonográfico entre a oitava e nona semana de gestação. Estes procedimentos foram conduzidos de acordo com as diretrizes do Comitê de Ética Animal da Universidade Federal do Paraná.

Os critérios de inclusão para o estudo foram: cadelas com gestação confirmada e idade gestacional entre 55 e 58 dias. A idade fetal foi determinada usando a história da data de acasalamento e/ou inseminação relatado pelo proprietário e um exame inicial de ultrassom que estimou a idade fetal de acordo com a tabela da organogênese fetal descrita por Yeager et al. (Yeager et al., 1992) e Lamm & Makloski (Lamm & Makloski, 2012).

### *2.2.2 Desenvolvimento do experimento*

O primeiro exame envolveu uma cadela Pug com três fetos. Nesta cadela, o exame ultrassonográfico foi realizado a cada quatro dias ao longo da gestação. Na 8ª semana de gestação a ultrassonografia foi realizada diariamente e, com o auxílio de um médico ultrassonografista experiente, os sexos fetais foram determinados. A genitália feminina foi identificada em dois fetos, e observada durante os quatro exames de ultrassom subsequentes. Obtendo-se a confirmação do sexo fetal destes fetos após o nascimento, deu-se continuidade à pesquisa em outras cadelas gestantes.

Após essa análise inicial, o estudo foi dividido em duas fases. Na primeira fase, a avaliação ultrassonográfica foi realizada em quatro cadelas que gestaram apenas um feto cada. Esta fase inicial foi utilizada para determinar as características das imagens ultrassonográficas dos fetos machos e fêmeas.

Posteriormente, vinte e uma cadelas foram avaliadas e incluídas no estudo. Os aspectos ultrassonográficos fetais observados nesta segunda fase foram comparados com as descrições anatômicas de fetos machos e fêmeas conforme descrito por Evans & Lahunta (Evans & Lahunta, 2013).

### *2.2.3 Equipamento ultrassonográfico e técnica*

Os exames ultrassonográficos foram realizados com equipamento de ultrassonografia MyLab 30 [Esaote, Genova, Itália], com transdutor linear de alta resolução por meio de frequência variando entre 7,5 a 12 MHz. O ganho, foco e outros ajustes foram feitos durante o exame para a obtenção da melhor imagem para cada feto.

Todas as cadelas gestantes foram tricotomizadas na região abdominal antes do exame e gel de ultrassom foi utilizada para otimizar a formação da imagem. Foram, em seguida, posicionadas em decúbito dorsal em uma calha de espuma em forma de “V” e foram rotacionadas cuidadosamente para a direita ou para a esquerda, conforme necessário para otimizar a visualização.

### *2.2.4 Determinação sexual do feto*

A avaliação do sexo fetal foi feita por meio da visualização da região perineal fetal utilizando-se o plano longitudinal para pesquisa de características sexuais do macho ou da fêmea. O sexo do feto pôde ser determinado quando o feto apresentou-se posicionado em decúbito ventral em relação ao transdutor, com os membros pélvicos flexionados e as asas íleo em paralelo.

O mesmo protocolo foi utilizado em todos os exames: a avaliação de todo o abdome foi realizada seguindo um círculo no sentido horário, começando com os fetos do corno uterino esquerdo, de cranial para caudal e, em seguida, o corno uterino direito de caudal para cranial. Cada ultrassonografista fez a imagem de todos os fetos em cada uma das cadelas gestantes. Cada cadela foi examinada de forma independente pelos dois ultrassonografistas experientes em todos os exames. A conclusão sobre a interpretação ultrassonográfica do sexo foi alcançada por meio do acordo consensual entre ambos os ultrassonografistas.

Quando o feto estava posicionado conforme o descrito, o sexo foi determinado como feminino quando se visualizavam duas linhas hiperecóticas que se unem anteriormente adquirindo formato piriforme e outra linha hiperecótica central dividindo a região central hipoecótica ao meio (representando as pregas

labiais vulvares veja a Figura 2.1). Esses resultados são semelhantes aos descritos nos fetos humanos (Scholly et al., 1980; Bimholz, 1983; Ali, 1992; Meagher & Davison, 1996; Whitlow et al., 1999; Efrat et al., 1999; Odeh et al., 2009). A visualização de uma linha hiperecótica central (Figura 2.2) resultou no registro de um feto masculino. A determinação do sexo foi considerada inconclusiva se a janela ultrassonográfica correta para visualizar a região perineal não pode ser alcançada ou quando havia muitos fetos.

A técnica padrão ouro utilizada para confirmar o sexo fetal foi a observação direta durante o parto, natural ou cesariana. Esta informação foi relatada por veterinários e/ou proprietários.

#### *2.2.5 Análise estatística*

A tabulação e análise dos dados foram realizados usando o Microsoft Office Excel (Microsoft® Office 2007 para Windows, Redmond, WA, EUA) e R for Windows (versão 3.0.1, R Foundation for Statistical Computing, Viena, Áustria, 2013). A análise estatística descritiva do número de fetos fêmeas, machos e inconclusivos observados pela ultrassonografia foi realizada, considerando as frequências absolutas (total de fetos em todas as cadelas) e individual (para cada cadela). Após esta análise, a acurácia da ultrassonografia e o intervalo de confiança foram estudados para as seguintes variáveis: fetos do sexo fêmea e do macho; número de fetos por cadela gestante. Esta análise foi realizada utilizando pROC, um pacote do R especificamente dedicado à análise ROC, a função AUC (para a acurácia) e CISP e CISE (para o intervalo de confiança). Os grupos foram estabelecidos de acordo com os achados clínicos.

### **2.3 Resultados**

Vinte e seis cadelas gestantes foram incluídas no estudo. Cadelas de diversas raças foram representadas e as idades variaram de 1 a 8 anos. O tamanho da ninhada em cada gestação variou de 1 a 7 (Tabela 2.1). Setenta e seis fetos foram avaliados, e em dezesseis o plano ultrassonográfico descrito não pôde ser alcançado e as determinações de sexo restaram inconclusivos, como ilustrado na Figura 2.1.

Tabela 2.1: Descrição das raças, idade das gestantes e tamanhos de ninhada das cadelas utilizadas neste estudo.

<b>Identificação</b>	<b>Raça</b>	<b>Idade (anos)</b>	<b>Número de filhotes</b>
<b>Primeiro Exame</b>			
1	Pug	1	3
<b>Fase 1</b>			
2	Pug	3	1
3	Golden Retriever	5	1
4	Shih-tzu	1	1
5	Pug	3	1
<b>Fase 2</b>			
6	Cocker Spainel Americano	2	6
7	Pug	1	2
8	Husky Siberiano	8	1
9	Pug	4	7
10	Chihuahua	2	3
11	Schnauzer Miniatura	5	2
12	Maltês	1	3
13	Yorkshire Terrier	7	4
14	American Staffordshire Terrier	3	3
15	Pequinês	2	5
16	Yorkshire Terrier	3	1
17	Cocker Spainel Inglês	3	1
18	Cocker Spainel Inglês	4	6
19	Schnauzer Miniatura	5	7
20	Schnauzer Miniatura	4	3
21	Yorkshire Terrier	4	2
22	Lulu da Pomerania	4	4
23	Shih-tzu	5	1
24	Schnauzer Miniatura	6	4
25	Spitz Alemão	2	2
26	Spitz Alemão	2	2

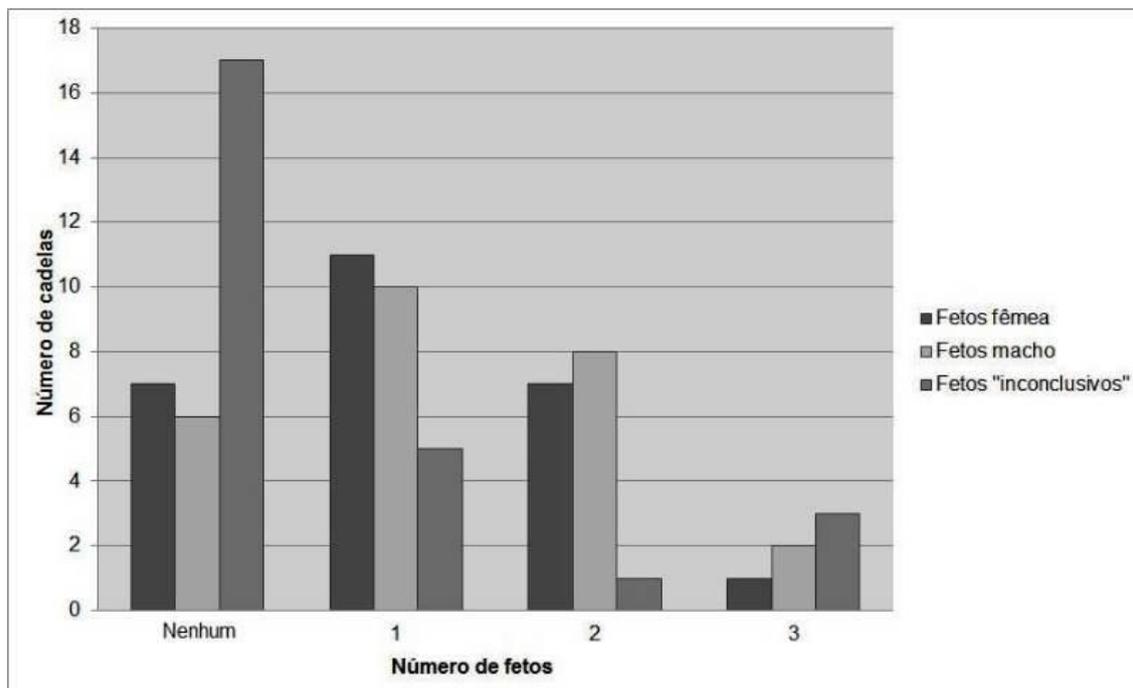


Figura 2.1: Ilustração gráfica das frequências absolutas dos fetos de acordo com o sexo conforme visualizado por ultrassom.

A Figura 2.1 mostra as frequências absolutas do número de fetos por cadela gestante avaliada por ultrassom. Dos vinte e seis cadelas, sete (26,92%) não apresentaram fetos do sexo feminino e seis cadelas (23,08%) não tinham fetos do sexo masculino. Em dezessete das vinte e seis cadelas (65,38%), o sexo foi determinado em todos os fetos.

A imagem característica da genitália da fêmea foi duas linhas hiperecoicas que se unem cranialmente apresentando uma forma piriforme, e uma linha hiperecólica central dividindo ao meio a região hipoecólica delimitada pelas duas primeiras; a imagem característica da genitália do macho foi a presença de uma linha hiperecólica localizada caudalmente na região inguinal, ilustrado nas Figuras 2.2 e 2.3 como descrito anteriormente na metodologia.

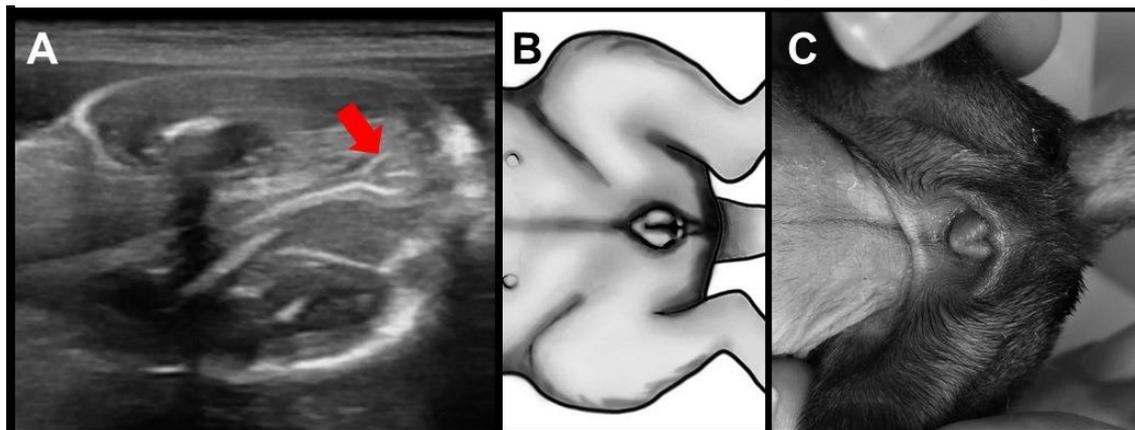


Figura 2.2: Imagem ultrassonográfica de feto canino no plano longitudinal, desenho esquemático do posicionamento fetal intrauterino e fotografia do filhote fêmea, com o foco na análise da área perineal. (A) Presença de linhas hiperecóicas com forma piriforme e uma linha central, que representa os grandes lábios (seta); (B) Desenho esquemático da posição dos membros fetais, que permite uma janela ecográfica para análise; (C) Fotografia das pregas labiais vulvares do filhote fêmea logo após o nascimento.

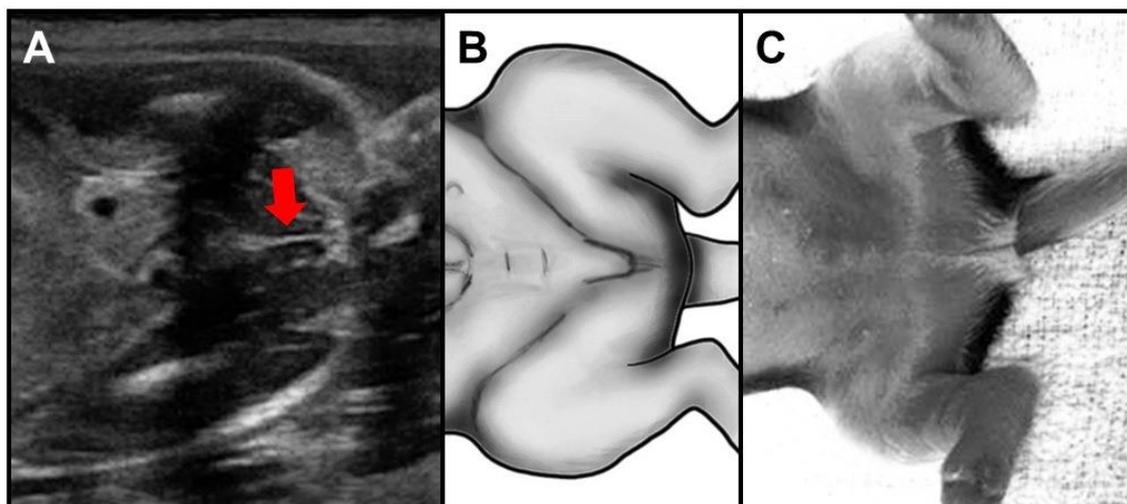


Figura 2.3: Imagem ultrassonográfica de feto canino no plano longitudinal, desenho esquemático do posicionamento fetal intrauterino e fotografia do filhote macho, com foco na análise da área perineal. (A) Presença apenas uma linha medial (seta); (B) Desenho esquemático da posição dos membros fetais que permite que a janela ecográfica para análise; (C) Fotografia da linha medial no filhote macho logo após o nascimento.

A Tabela 2.2 mostra a acurácia do exame ultrassonográfico na determinação do sexo do feto, de acordo com o tamanho da ninhada. A Tabela 2.2 demonstra que, conforme o tamanho da ninhada aumenta, há uma diminuição na confiabilidade do ultrassom na determinação do sexo. A Tabela 2.3 mostra a acurácia da ultrassonografia para sexagem fetal.

Tabela 2.2: Valores para a acurácia da ultrassonografia de acordo com o tamanho da ninhada.

Tamanho da Ninhada	Número de Cadelas	Número de Fêmeas	Número de Machos	Número de fetos Inconclusivos	Total de Filhotes Nascidos	Acurácia do exame ultrassonográfico (%)
1 feto	8	3	5	-	8	100
2 fetos	5	5	5	-	10	100
3 fetos	5	8	6	1	15	93,3
Mais de 3 fetos	8	12	16	15	43	65,1

Tabela 2.3: Valores para a acurácia da ultrassonografia na determinação do sexo com um intervalo de confiança de 95% em vinte e seis cadelas gestantes.

Fetos	Acurácia (%)	Intervalo de Confiança de 95%	
		Limite Inferior (%)	Limite Superior (%)
Macho	65	36,23	93,77
Fêmea	64,94	32,54	97,33

A Figura 2.4 demonstra o número de fetos (machos, fêmeas e inconclusivos) identificados por exames ultrassonográficos em cada cadela gestante. Na Figura 4, podemos observar que as cadelas F2, F3, F4, F5, F7, F8, F11, F16, F17, F21, F23, F25 e F26 tinham um ou dois fetos e em todos os casos o sexo fetal foi determinado corretamente. As cadelas F10, F12, F14 e F20 cada uma tinha três fetos e o sexo de todos os fetos foram identificados por ultrassonografia. O restante das cadelas (F1, F6, F9, F13, F15, F18, F19 e F24) tiveram três ou mais fetos e o sexo fetal foi mais difícil de ser determinado e, em um ou mais fetos o sexo não pôde ser determinado.

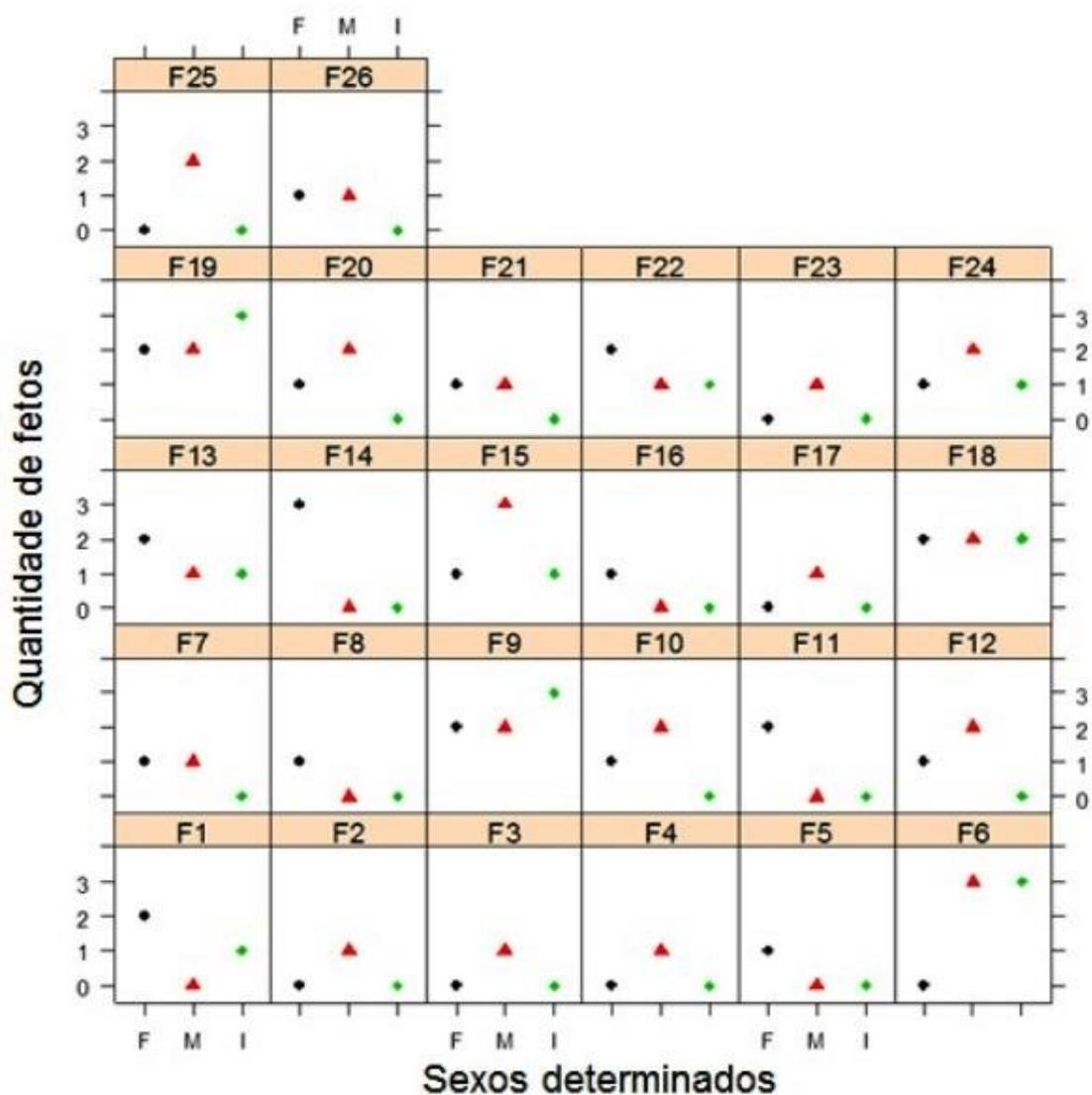


Figura 2.4: Ilustração gráfica mostrando a quantidade de fetos e classificados como do sexo feminino (F), masculino (M) e inconclusivos (I) identificados por ultrassonografia e avaliados individualmente nas vinte e seis cadelas gestantes.

## 2.4 Discussão

Os estudos em reprodução e obstetrícia têm aumentado significativamente desde a introdução da ultrassonografia como método diagnóstico. Em paralelo a isso, tem ocorrido uma constante melhora na qualidade da imagem ultrassonográfica que permite, não só a análise da viabilidade fetal, mas também a avaliação detalhada da morfologia dos conceitos (Ali, 2004; Kim & Son, 2007; Aissi & Slimani, 2008; Davidson & Baker, 2009;). Na medicina, a determinação do sexo do conceito pode ser de importância crucial - permitindo a identificação de doenças intrauterinas relacionadas ao sexo (Scholly et al., 1980; Bimholz, 1983;

Elejalde et al., 1985; Ali, 1992; Meagher & Davison, 1996; Whitlow et al., 1999; Efrat et al., 1999; Odeh et al., 2009;).

Em medicina veterinária, foi demonstrado que a determinação ultrassonográfica do sexo intrauterino é possível em vacas, búfalos, éguas, ovelhas e gata (Bürstel et al., 2002; Mar et al., 2002; Holder, 2003; Tainturier et al., 2004; Zambelli & Prati, 2006; Yotov et al., 2011), e isso tem relevância econômica principalmente nos animais de produção. As informações sobre o sexo do feto também podem ter significativa importância econômica para criadores de cães, já que para alguns filhotes o valor econômico depende do sexo. Além disso, a determinação do sexo dos filhotes está relacionada ao envolvimento emocional dos proprietários.

O estudo iniciou com a avaliação de uma única cadela com três fetos na qual era possível estabelecer com certeza as características ultrassonográficas da genitália feminina. Então, a primeira fase foi a determinação das características ultrassonográficas entre os órgãos genitais de fetos machos e fêmeas. Usamos esse modelo para avaliar a acurácia da técnica ultrassonográfica.

A diferenciação sexual dos conceitos caninos começa a partir do 30º dia de gestação e continua até cerca do 50º dia (Pretzer, 2008; Evans & Lahunta, 2013). Os exames da primeira cadela gestante foram realizados a cada quatro dias e mostraram que entre 55 e 58 dias de gestação os fetos estavam maiores e a organogênese fetal completa, fazendo desta, a idade ideal para a identificação dos órgãos genitais, como ilustrado nas figuras de Evans e Lahunta (Evans & Lahunta, 2013).

A determinação ultrassonográfica do sexo fetal de fêmea canina foi confirmada pela presença de duas linhas hiperecóticas que se unem anteriormente, com uma forma piriforme e uma linha hiperecótica central (pregas labiais, ver Figura 2.2), como as do feto humano do sexo feminino na qual duas ou quatro linhas paralelas que representam os lábios maiores e menores podem ser identificadas (Elejalde et al., 1985; Whitlow et al., 1999). Nesse estudo, obtivemos 100% de acurácia na identificação dessas características em treze cadelas com até dois fetos (Tabela 2.3).

A característica ultrassonográfica da genitália do feto macho canino difere da descrita em seres humanos. O aspecto observado em fetos machos de cães

foi uma linha hiperecótica medial visualizada em região inguinal caudal (Figura 2.3). Os testículos não são visualizados nos fetos caninos masculinos pois estes migram para o escroto depois do nascimento (Baumans et al., 1981; Pretzer, 2008). Embora o pênis se desenvolva na fase fetal, ele não é facilmente visualizado na ultrassonografia gestacional em cães. Esta característica também difere da encontrada em fetos humanos, uma vez que o pênis fetal humano pode ser visto facilmente e os testículos migram para o escroto após a 25ª semana de gestação (Achiron et al., 1998).

Quando o feto não estava devidamente posicionado, o sexo não pôde ser identificado e foi registado como inconclusivo. A incapacidade de se determinar o sexo de alguns fetos (Figura 2.4) mostra a correlação positiva com o tamanho da ninhada (Tabela 2.2).

O posicionamento perfeito do feto durante o exame (a imagem do plano longitudinal da região perineal) é essencial para a identificação precisa do sexo. O feto deve estar em decúbito ventral em relação ao transdutor e com os membros flexionados paralelos à coluna vertebral e às asas do ílio para atingir o ponto de visualização ultrassonográfico desejado. Ao contrário do homem no qual diferentes planos são necessários (Scholly et al., 1980; Whitlow et al., 1999), em cães a aquisição da imagem no plano transversal é mais difícil e as imagens obtidas não são úteis para a visualização da genitália.

Esse método de posicionamento fetal e a utilização do plano longitudinal não foram previamente descritos na medicina veterinária e diferem de exames ultrassonográficos descritos para a determinação do sexo em fetos de gato (Zambelli & Prati, 2006). As características anatômicas de cada espécie, o desenvolvimento e fisiologia do sistema reprodutor tornam impossível de se fazer comparações metodológicas diretas de ultrassom na determinação do sexo para as diferentes espécies. Os imagiologistas veterinários devem ser conhecedores dessas particularidades para a identificação sexual em cães e gatos.

A Tabela 2.2 mostra que a determinação ultrassonográfica do sexo fetal canino é possível, e que uma precisão de 100% pode ser alcançada quando existem até dois fetos na ninhada. No entanto, a precisão da técnica reduz-se (65,1%), quando mais do que três fetos estão presentes. Em ninhadas maiores há menos espaço entre os fetos e a movimentação encontra-se mais limitada. Além

disso, pode ser difícil de visualizar a genitália se o feto movimenta-se demasiadamente durante o exame, como pode ocorrer quando a ninhada é pequena ou em cadelas obesas. No homem, a identificação do sexo fetal pode não ser possível se o posicionamento do feto torna difícil a realização dos planos necessários para o exame de ultrassom, se a mãe for obesa ou se houver excesso de gases intestinais maternos, e movimentação fetal exacerbada (Whitlow et al., 1999).

As diferenças entre os observadores na detecção da genitália fetal não foram avaliadas, o que pode ser uma limitação do presente estudo.

A partir desse estudo foi possível determinar a aparência ultrassonográfica intrauterina da genitália externa em fetos caninos. Nós demonstramos que o sexo fetal pode ser determinado com elevada acurácia entre 55 e 58 dias de gestação, quando há um ou dois fetos na ninhada, mas a precisão da análise reduz quanto maior o tamanho da ninhada na cadela.

Acreditamos que a identificação ecográfica do sexo é possível desde que o exame seja realizado rigorosamente de acordo com o protocolo descrito aqui.

#### *2.4.1 Conclusão*

A identificação ultrassonográfica do sexo fetal canino é possível e a acurácia da técnica está relacionada ao tamanho da ninhada e a habilidade de se realizar o protocolo ultrassonográfico apropriado de exame. Essa técnica pode ser incorporada na rotina clínica obstétrica veterinária.

## **2.5 Agradecimentos**

Nosso especial agradecimento aos proprietários que aceitaram e cooperaram com este estudo e à CAPES pela bolsa de estudos concedida. Além disso, os autores gostariam de agradecer ao Dr. Donato Parra Gil, pelas orientações ultrassonográficas e obstétricas, porque sem ele este estudo não teria sido possível. Agradecemos ao Dr. Leandro Lima pelos desenhos esquemáticos e Eliane de Fátima Coimbra por ajudar com a análise estatística.

## 2.6 Referências

ACHIRON, R.; PINHAS-HAMIEL, O.; ZALEL, Y.; ROTSTEIN, Z.; LIPITZ, S. Development of fetal male gender: Prenatal sonographic measurement of the scrotum and evaluation of testicular descent. **Ultrasound in Obstetrics & Gynecology**, vol. 11, n. 4, p. 242-245, 1998.

AISSI, A.; SLIMANI, C. Time of Initial Detection of Fetal Structures and Anatomic Differentiation by Using B-Mode Ultrasound Examination in Bitches. **Pakistan Journal of Biological Sciences**, vol. 11, n. 13, p. 1750-1753, 2008.

ALI, A. Effect of Gestational Age and Fetal Position on the Possibility and Accuracy of Ultrasonographic Fetal Gender Determination in Dairy Cattle **Reproduction in Domestic Animals**, vol. 39, n. 3, p. 190-194, 2004.

ALI, Q. M. Determination of foetal sex by ultrasound: state of the art. **East African Medical Journal**, vol. 69, n. 12, p. 703-706, 1992.

BAUMANS, V.; DIJKSTRA, G.; WENSING, C. J. Testicular Descent in the dog. **Anatomia, Histologia, Embryologia**, vol. 10, n. 2, p. 97-110, 1981.

BENOIT, B. Early fetal gender determination. **Ultrasound in Obstetrics & Gynecology**, vol. 13, p. 299-300, 1999.

BIMHOLZ, J. C. Determination of fetal sex. **The New England Journal of Medicine**, vol. 309, n. 16, p. 942-944, 1983.

BÜRSTEL, D.; MEINECKE-TILLMAN, S.; MEINECKE, B. Ultrasonographic diagnosis of fetal sex in small ruminants bearing multiple fetuses. **Veterinary Record**, vol. 151, n. 21, p. 635-636, 2002.

CURRAN, S. Fetal sex determination in cattle and horses by ultrasonography. **Theriogenology**, vol. 37, n. 1, p. 17-21, 1992.

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

DAVIDSON, A. P.; BAKER, T. W. Reproductive ultrasound of the Bitch and Queen. **Topics in Companion Animal Medicine**, vol. 24, n. 2, p. 55-63, 2009.

EFRAT, Z.; AKINFENWA, O. O.; NICOLAIDES, K. H. First-trimester determination of fetal gender by ultrasound. **Ultrasound in Obstetrics & Gynecology**, vol. 13, n. 5, p. 305-307, 1999.

ELEJALDE, B. R.; DE ELEJALDE, M. M.; HEITMAN, T. Visualization of the fetal genitalia by ultrasonography: a review of the literature and analysis of its accuracy and ethical implications. **Journal of Ultrasound in Medicine**, vol. 4, n. 12, p. 633-639, 1985.

EVANS, H. E.; LAHUNTA, A. Prenatal Development. In: \_\_\_\_\_. **Miller's Anatomy of the dog**, Missouri: Elsevier Saunders; 2013, p. 13-60.

GARCIA, A.; NEARY, M. K.; KELLY, G. R.; PIERSON, R. A. Accuracy of ultrasonography in early pregnancy diagnosis in the ewe. **Theriogenology**, vol. 39, n. 4, p. 847-861, 1993.

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

KIM, B. S.; SON, C. H. Time of initial detection of fetal and extra-fetal structures by ultrasonographic examination in Miniature Schnauzer bitches. **Journal of Veterinary Science**, vol. 8, n. 3, p. 289-293, 2007.

LAMM, C. G.; MAKLOSKI, C. L. Current advances in gestation and parturition in cats and dogs. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, vol. 42, n. 3, p. 445-456, 2012.

LINDAHL, I. L. Detection of pregnancy in sheep by means of ultrasound. **Nature**, vol. 212, n. 5062, p. 642-643, 1966.

LOPATE, C. Estimation of gestational age and assessment of canine fetal maturation using radiology and ultrasonography: A review. **Theriogenology**, vol. 70, n. 3, 397-402, 2008.

MAR, G.; CASTAGNETTI, C.; BELLUZZI, S. Equine fetal sex determination using a single ultrasonic examination under farm conditions. **Theriogenology**, vol. 58, n. 6, p. 1237-1243, 2002.

MEAGHER, S.; DAVISON, G. Early second-trimester determination of fetal gender by ultrasound. **Ultrasound in Obstetrics & Gynecology**, vol. 8, n. 5, p. 322-324, 1996.

MÜLLER, E.; WITTKOWSKI, G. Visualization of male and female characteristics of bovine fetuses by real-time ultrasonics. **Theriogenology**, vol. 25, n. 4, p. 571-574, 1986.

NYLAND, T. G.; MATTOON, J. S. Ovaries and uterus. In: \_\_\_\_\_. **Small animal diagnostic ultrasound**. 3. ed. Philadelphia: Saunders Company, 2015. p. 634-54.

ODEH, M.; GRANIN, V.; KAIS, M.; OPHIR, E.; BORNSTEIN, J. Sonographic fetal sex determination. **Obstetrical & Gynecological Survey**, vol. 64, n. 1, p. 50-57, 2009.

PRETZER, S. D. Canine embryonic and fetal development: a review. **Theriogenology**, vol. 70, n. 3, p. 300-303, 2008.

SCHOLLY, T. A.; SUTPHEN, J. H.; HITCHCOCK, D. A.; MACKEY, S. C.; LANGSTAFF, L. M. Sonographic Determination of fetal gender. **American Journal of Roentgenology**, vol. 135, n. 6, p. 1161-1165, 1980.

TAINTURIER, B.; TAINTURIER, D.; BENCHARIF, D. Fetal sex determination in cattle by ultrasonography. **Journal of Animal and Veterinary Advances**, vol. 3, n. 3, p. 136-141, 2004.

WELDNER, B. M. Accuracy of fetal sex determination by ultrasound. **Acta Obstetricia et Gynecologica Scandinavica**, vol. 60, n. 3, p. 333-334, 1981.

WHITLOW, B. J.; LAZANAKIS, M. S.; ECONOMIDES, D. L. The sonographic identification of fetal gender from 11 to 14 weeks of gestation. **Ultrasound in Obstetrics & Gynecology**, vol. 13, n. 5, p. 301-304, 1999.

YEAGER, A. E.; MOHAMMED, H. O.; WALLEN, V. M.; VANNERSON, L.; CONCANNON, P. W. Ultrasonographic appearance of the uterus, placenta, fetus, and fetal membranes throughout accurately timed pregnancy in beagles. **American Journal of Veterinary Research**, vol. 53, n. 3, p. 342-351, 1992.

YOTOV, S. A.; ATANASOV, A.; GEORGIEV, P. Determination of foetal sex in buffaloes through a single sonographic examination. **Bulgarian Journal of Veterinary Medicine**, vol. 14, n. 1, p. 39-44, 2011.

ZAMBELLI, D.; PRATI, F. Ultrasonography for pregnancy diagnosis and evaluation in queens. **Theriogenology**, vol. 66, n. 1, p. 135-144, 2006.

## CAPÍTULO 3

### **Desenvolvimento do intestino fetal intrauterino - avaliação ultrassonográfica e correlação com a idade gestacional e a maturidade fetal em cães**

#### **Resumo**

As imagens de aparelhos ultrassonográficos modernos e de alta resolução proporcionam a avaliação antecipada das medidas do desenvolvimento fetal, incluindo a identificação das alças. Os objetivos desse estudo foram descrever o desenvolvimento ultrassonográfico das alças intestinais de fetos caninos e sua correlação com a idade gestacional; definir se a visualização ultrassonográfica do peristaltismo intestinal fetal está associada à maturação fetal e determinar se há diferença no tempo de detecção do peristaltismo intestinal fetal entre os fetos nascidos por cesariana e de parto normal. Um estudo prospectivo e observacional foi realizado em cadelas gestantes que se apresentaram em um hospital veterinário para avaliação do desenvolvimento intestinal fetal. A análise estatística foi usada para estabelecer a correlação entre o estágio de desenvolvimento do intestino fetal, registrado por ultrassom, com os resultados de parto normais e cesarianas. O estudo foi dividido em três etapas: a primeira etapa se referiu à análise descritiva do desenvolvimento do intestino fetal pela ultrassonografia; a segunda etapa comparou o tempo (em dias) do desenvolvimento do intestino entre os grupos (parto normal *versus* cesariana); a terceira etapa correlacionou a probabilidade de sobrevivência se os fetos nascessem em qualquer dia após a detecção do peristaltismo intestinal com a maturidade fetal. Todas as análises estatísticas foram significativas. A avaliação da evolução de uma gestação é possível por meio da monitorização ultrassonográfica do desenvolvimento do intestino e esta pode identificar com segurança o fim da organogênese fetal. No entanto, a detecção ultrassonográfica dos segmentos intestinais com a visualização das camadas da parede associado ao peristaltismo não deve ser utilizado como o único parâmetro para o planejamento de uma cesariana, pois não é possível determinar ultrassonograficamente se o intestino está ou não funcional (maduro).

**Palavras-chave:** cão, gestação, ultrassonografia intestinal fetal, maturação

**Abstract**

Modern high-resolution ultrasound images make earlier assessment of measures of foetal development, including identification of bowel. The aim of this study was to describe the ultrasonographic development of foetal bowel and correlate this with gestational age; define whether ultrasonographic visualization of foetal intestinal peristalsis *in utero* is associated with foetal maturation and determine whether there is a difference in foetal intestinal peristalsis detection time between foetuses born by normal delivery and caesarean. A cohort study was conducted in pregnant bitches presented to a veterinary hospital, to assess foetal bowel development. Statistical analysis was used to establish the correlation of the stage of foetal bowel development, as recorded by ultrasound, with outcomes of normal delivery and caesarean section. The study was broken down into three stages: first stage referred to descriptive analysis of foetal bowel development by ultrasound; second stage was to compare time (in days) of bowel development between groups (normal delivery *versus* caesarean); third stage was to correlate survival probability for foetuses born on any day after detection of intestinal peristalsis with foetal maturity. All statistical analyses were significant. Evaluation of the development of a pregnancy is possible using ultrasonographic monitoring of bowel development and this can reliably identify the end of foetal organogenesis. However, ultrasonographic detection of bowel segments with visualization of wall layers and associated peristalsis should not be used as the sole indicator for caesarean section planning because it is not possible to determine ultrasonographically whether the bowel is or not functional (mature).

**Keywords:** dog, pregnancy, foetal bowel ultrasonography, maturation

### 3.1 Introdução

A ultrassonografia é o método de eleição para o diagnóstico precoce da gestação, a avaliação da viabilidade fetal e para a estimativa da idade gestacional (Nyland & Mattoon, 2015). A determinação precoce e precisa da idade gestacional é útil para prever o momento ideal do parto, bem como a gestão, incluindo o planejamento de uma cesariana (Kutzler et al., 2003). Em algumas raças de cães em que a cesariana é considerada necessária, a avaliação da maturidade fetal e a idade apropriada em que a cesariana seja indicada reduzem a taxa de mortalidade neonatal (Luvoni & Beccaglia, 2006).

Na medicina, há uma variedade de métodos ultrassonográficos que estimam a idade fetal em cadelas gestantes e estes incluem o cálculo de comprimento cabeça-nádega no início da gravidez ou o diâmetro biparietal e avaliação da organogênese fetal por exames seriados (England & Allen, 1990; Yeager et al., 1992; Kutzler et al., 2003; Luvoni & Beccaglia, 2006; Beccaglia & Luvoni, 2006; Lamm & Makloski, 2012). A avaliação da organogênese fetal é um método interessante para a determinação da idade fetal em cães sendo que, a alça intestinal é o último órgão a ser identificado pela ultrassonografia (Yeager et al., 1992; Lamm & Makloski, 2012).

Segundo alguns autores a visualização do intestino e identificação do peristaltismo por ultrassom determina o fim da organogênese fetal, o que indiretamente indica que o feto está a termo. Esta identificação acontece em torno de 57 a 63 dias de gestação (Yeager et al., 1992; Kim & Son, 2007; Levstein-Volanski, 2008). Vários autores (Lamm & Makloski, 2012; Kim & Son, 2007; Levstein-Volanki, 2008; Lopate, 2008) descrevem o intervalo da idade gestacional para detecção do peristaltismo por ultrassonografia a partir 57 dias após o pico do hormônio luteinizante.

No entanto, as imagens modernas e de alta resolução do ultrassom proporcionam a avaliação das medidas de desenvolvimento fetal precoce, incluindo a identificação do intestino. Não há estudos anteriores que descrevem a avaliação ultrassonográfica do desenvolvimento intestinal em fetos caninos. Nossa hipótese é que a visualização ultrassonográfica do intestino fetal é possível em idades fetais anteriores às descritas anteriormente. O propósito deste estudo

foi: 1. Descrever o desenvolvimento ultrassonográfico do intestino fetal e correlacionar com a idade gestacional; 2. Para definir se a visualização ultrassonográfica do peristaltismo intestinal fetal está associada a maturação fetal; 3. Para determinar se há diferença no tempo de detecção do peristaltismo intestinal fetal (dias antes do parto), entre os fetos nascidos por cesariana e parto normal.

## **3.2 Materiais e métodos**

### *3.2.1 Seleção dos pacientes*

Um estudo prospectivo e observacional foi realizado em cadelas gestantes para avaliar o desenvolvimento do intestino fetal. A amostra consistiu de cadelas com gestação confirmada apresentada a um hospital veterinário, entre maio de 2013 e abril 2014. Todos os procedimentos foram realizados de acordo com as diretrizes do Comitê de Ética Animal. Todos os proprietários forneceram o consentimento informado por escrito para ser incluído no estudo. Os critérios de exclusão foram cadelas com gestação positiva indisponível para exames seriados, gestação avançada (mais de 30 dias de gestação) no momento da primeira apresentação, data do parto não relatado pelos proprietários e cadelas que apresentavam uma doença concomitante.

### *3.2.2 Equipamento ultrassonográfico e técnica*

A ultrassonografia foi realizada com um transdutor linear multifrequencial de alta resolução (7,5 a 12 MHz) e aparelho do modelo MyLab 30 [Esaote, Genova, Itália]. O ganho, foco e outros ajustes foram feitos durante o exame para obter a melhor imagem para cada feto que foi avaliado. Todas as cadelas gestantes foram preparadas com tricotomia antes do exame, posicionadas em decúbito dorsal e gel de ultrassom foi utilizado para otimizar a aquisição da imagem.

As cadelas gestantes foram acompanhadas por meio de exames ultrassonográficos à partir do 14<sup>o</sup> dia após o primeiro acasalamento e/ ou inseminação. Os exames ultrassonográficos foram realizados a cada quatro dias até a visualização do peristaltismo intenso (movimento a cada três segundos) do

intestino fetal. A partir deste exame em diante a avaliação foi diária até o momento parto.

A idade gestacional foi confirmada após a parição em *dias para o parto*, por meio de contagem retroativa considerando a data do parto como o dia zero; a duração da gestação normal foi considerada ser de 57 a 63 dias, devido aos períodos de pro-estro e estro variáveis em cães (Concannon et al., 1983). Durante os exames ultrassonográficos a idade gestacional foi estimada em *dias de gestação*, utilizando as descrições de Yeager et al. (1992).

Cada ultrassonografista digitalizado todos os fetos em cada cadela gestante. Cada cadela foi examinada ultrassonograficamente de forma independente por dois ultrassonografista experientes (um deles é membro do Colégio Brasileiro de Radiologia Veterinária) em cada exame. No entanto, os dois ultrassonografistas estavam na sala durante os exames. A interpretação ultrassonográfica foi realizada por meio de acordo consensual entre os dois ultrassonografistas. O método de exame seguiu com um protocolo para examinar todo o abdome da fêmea, fazendo um círculo no sentido horário, começando com fetos no corno uterino esquerdo (cranial para caudal) seguido pelo corno direito (caudal para cranial). Em cadelas com grande número de fetos, pelo menos quatro fetos foram avaliados em todos os exames e em cadelas com quatro ou menos fetos todos os abdoes fetais foram examinados.

Os abdoes fetais intrauterinos foram avaliados nos planos longitudinal e dorsal de cada feto. Toda a organogênese fetal foi monitorada, no entanto, a prioridade consistia na análise do intestino.

Após a coleta de dados, as fêmeas gestantes foram classificadas de acordo com o tipo de parto (normal ou cesariana) e divididas em dois grupos. A decisão de realizar uma cesariana foi baseada em indicações ultrassonográficas de sofrimento fetal (Zone & Wanke, 2001). Os fetos foram considerados em estado de sofrimento se a frequência cardíaca fetal manteve-se baixa (entre 160 e 180 batimentos por minuto), e sem picos de aceleração e desaceleração, conforme descrito por Gil et al. (2014). A frequência cardíaca fetal foi medida utilizando-se o modo-M durante cinco minutos por feto em todas as cadelas gestantes em até no máximo de quatro fetos.

### 3.2.3 Projeto experimental

A análise estatística foi usada para estabelecer a correlação entre o estágio de desenvolvimento do intestino fetal, registrado por ultrassom, com resultados de parto normais e cesarianos. O estudo foi dividido em três etapas.

A primeira etapa refere-se à análise descritiva do desenvolvimento do intestino fetal por ultrassom. Na segunda e terceira etapas, uma classificação de um a quatro foi usada para as várias fases de desenvolvimento do intestino fetal. A fase 1 foi descrita como o primeiro momento em que o intestino pôde ser visualizado e a fase 4 o último, quando o peristaltismo intestinal foi identificado (movimento a cada três segundos). Uma vez que a fase 4 foi identificada, esta foi utilizada para a análise estatística da segunda e terceira etapas do experimento. Para cada fase (1 a 4) de desenvolvimento intestinal, as respectivas faixas etárias fetais foram calculadas.

O objetivo da segunda etapa foi o de comparar o tempo (em dias) do desenvolvimento do intestino entre os grupos (por parto normal *versus* cesariana). Para isso, testes estatísticos foram utilizados: 1. O teste t de Student comparou todas as fases (1/1, 2/2, 3/3 e 4/4) entre os dois grupos; 2. O semi-paramétrico modelo Cox de regressão (Cox, 1972) foi utilizado para avaliar especificamente a Fase 4 de desenvolvimento do intestino, testando se havia diferença no tempo (dias) de visualização ultrassonográfica do intestino entre os dois grupos. No modelo de Cox, o grupo de cadelas com parto normal foram usadas como controle.

O objetivo da terceira etapa do estudo foi correlacionar a probabilidade de sobrevivência dos fetos nascidos em qualquer dia na Fase 4, na qual neste período assumia-se que os fetos estavam maduros, e para isso, a *curva de sobrevivência* foi gerada. A curva de sobrevivência foi construída utilizando o método Kaplan-Meier (Kaplan & Meier, 1958) e a comparação estatística entre os grupos foi realizada pelo teste de Log-Rank que, em seguida, identificou-se que havia diferença entre as probabilidades de sobrevivência dos filhotes nascidos por parto normal e cesariana. Em todas as análises, um *P* valor de  $\alpha = 0,05$  foi considerado significativo e o significado foi analisado em relação ao valor definido.

Todos os testes estatísticos foram selecionados e realizados por um autor (E. G.) e um profissional de estatística (E. C.). Tabulação e análise dos dados foram realizados usando o Microsoft Office Excel (Microsoft ® Office 2007 para

Windows, Redmond, WA, EUA) e R for Windows (versão 3.1.1 Ri386, R Foundation for Statistical Computing, Viena, Áustria, 2014) por meio de pacotes “Survival”, “KMsurv” e “Coin”.

### 3.3 Resultados

Dezoito cadelas gestantes foram incluídas no estudo. Várias raças foram representadas e as idades variaram de 1 a 6 anos. Setenta e cinco fetos foram avaliados e todos nasceram saudáveis, incluindo os que nasceram por cesariana. O tamanho da ninhada de cada cadela foi entre 2 e 9 filhotes (Tabela 3.1).

Tabela 3.1: Descrição das raças, idade e tamanho da ninhada de cadelas classificadas de acordo com o tipo de parto em maio/ 2013 a abril/ 2014.

<b>Tipo de Parto</b>	<b>Idade (anos)</b>	<b>Raça</b>	<b>Tamanho da Ninhada</b>
<b>Normal</b>	2	Crista Chinesa	2
	5	Bulldog Francês	3
	5	Schnauzer Miniatura	3
	1	Husky Siberiano	7
	2	Pug	7
	2	Pequinês	5
	1	Maltês	3
	2	Chihuahua	3
	6	Schnauzer Miniatura	4
<b>Cesariana</b>	2	Crista Chinesa	3
	5	Yorkshire Terrier	4
	3	Staffordshire	3
	2	Bulldog Inglês	9
	2	Bulldog Inglês	3
	1	Bulldog Inglês	5
	2	Pug	3
	6	Schnauzer Miniatura	4
	3	Schnauzer Miniatura	4

Após a monitorização ultrassonográfica da organogênese fetal e a avaliação do desenvolvimento do intestino fetal intrauterino em todas as fêmeas, foram definidas quatro fases diferentes de desenvolvimento. Todos os fetos

avaliados exibiram os mesmos padrões ultrassonográficos de desenvolvimento do intestino. As quatro fases foram:

- **Fase 1:** Uma área uniforme ecogênica caudal ao fígado fetal na região topográfica do intestino (Figura 3.1A);
- **Fase 2:** Na mesma região anterior, algumas porções de segmentos intestinais foram melhor definidos permitindo a visualização da parede do intestino ou seja, misturados com áreas anecoicas, parede intestinal normal e multifocal. Peristaltismo ausente (Figura 3.1B);
- **Fase 3:** Os segmentos intestinais tinham paredes intestinais claramente definidas e as áreas anecóicas são menores quando comparados a fase 2; segmentos definidos tinham conteúdo intraluminal mucoso, com melhor definição da superfície mucosa *versus* parede intestinal. Peristaltismo intestinal em algumas porções (Figura 3.1C);
- **Fase 4:** Identificação da parede intestinal completa, distinção visual entre a superfície da mucosa e da parede intestinal, determinação ultrassonográfica das camadas da parede, superfície mucosa - hiperecólica; mucosa, submucosa, muscular - hipoecólica; serosa - hiperecólica. Dilatação segmentar do intestino por conteúdo mucoso e fluido intraluminal. Peristaltismo em todos os segmentos do intestino (movimento a cada 3 segundos - Figura 3.1D).

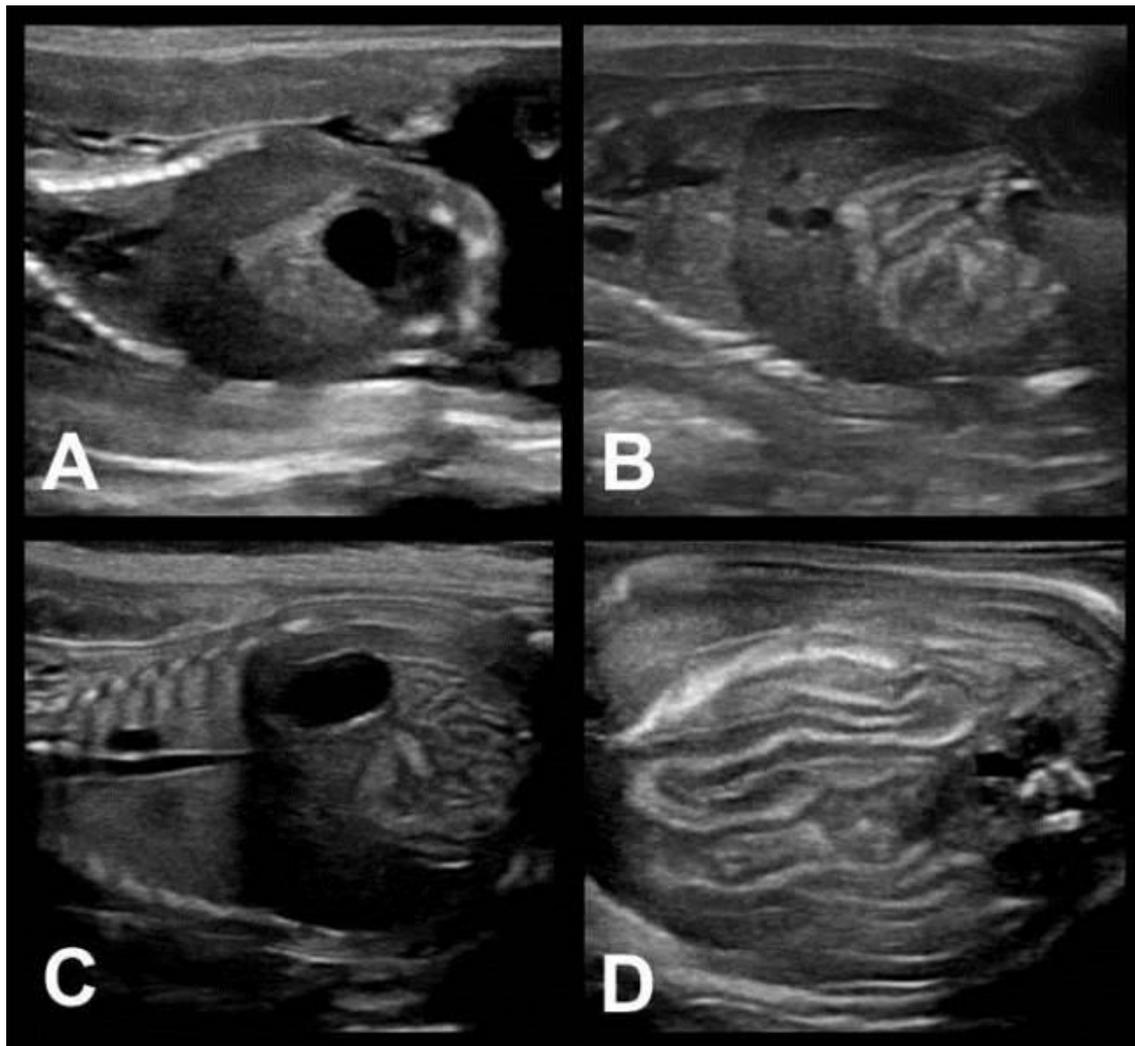


Figura 3.1: Imagens ultrassonográficas mostrando (A) Fase 1: presença de áreas ecogênicas e uniformes na região caudal ao fígado fetal. (B) Fase 2: início da diferenciação das camadas da parede do intestino fetal, com áreas anecóicas entremeadas. Ausência de peristaltismo intestinal. (C) Fase 3: identificação de segmento de parede intestinal misturados com menos áreas anecóicas, quando comparado com a fase 2. Os segmentos definidos mostraram conteúdo intraluminal mucoso e há uma melhor definição da superfície da mucosa *versus* a parede do intestino. Peristaltismo identificado em alguns segmentos do intestino. (D) Fase 4: parede intestinal bem definida, mucosa *versus* a parede intestinal claramente definida, definição ultrassonográfica das camadas da parede do intestino em superfície da mucosa - hiperecótica; mucosa, submucosa, muscular - hipocóico; serosa - hiperecótica; dilatação segmentar do intestino por muco intraluminal. Peristaltismo em todos os segmentos do intestino.

A Tabela 3.2 mostra as idades gestacionais (dias para o parto e dias de gestação estimados), média, desvio padrão e mediana das quatro fases de desenvolvimento do intestino fetal intrauterino por ultrassom de acordo com o tipo de parto.

Tabela 3.2: Dados descritivos e valores de mediana, média e desvio-padrão das quatro fases de visualização ultrassonográfica do desenvolvimento intestinal fetal intrauterino correlacionado com a idade fetal determinado retroativamente considerando o dia do parto como zero, categorizados de acordo com o tipo de parto (parto normal ou cesariana), de maio/ 2013 a abril/ 2014.

<b>Fases (US) de desenvolvimento das alças intestinais fetais</b>	<b>Dias para o Parto</b>	<b>Mediana</b>	<b>Média</b>	<b>Desvio-padrão</b>	<b>Idade gestacional estimada (dias de gestação)</b>
<b>Parto Normal</b>					
Fase 1	19 a 23	21	20,86	1,35	40 a 44
Fase 2	15 a 19	16	16,67	1,22	44 a 48
Fase 3	9 a 13	10	10,67	1,41	50 a 54
Fase 4	1 a 4	2	2,22	1,09	59 a 62
<b>Cesareana</b>					
Fase 1	20 a 24	22	21,44	1,51	39 a 43
Fase 2	14 a 19	16	16,56	1,81	44 a 49
Fase 3	8 a 15	11,5	11,75	2,25	48 a 55
Fase 4	2 a 6	4	4,11	1,36	57 a 61

**Abreviações:** US, ultrassonográficas; Fase 1: visualização de uma área uniforme e ecogênica caudal ao fígado, em região topográfica do intestino; Fase 2: início da visualização de definição parede intestinal sem peristaltismo; Fase 3: visualização peristaltismo em alguns segmentos do intestino; Fase 4: visualização peristaltismo em todos os segmentos (movimento a cada 3 segundos).

A Tabela 3.3 apresenta os resultados do teste t de Student nos períodos (em dias) de identificação ultrassonográfica das quatro fases de desenvolvimento do intestino fetal em comparação com o tipo de parto (normal ou cesariana), mostrando uma diferença significativa ( $\alpha = 0,05$ ) entre os grupos apenas na fase 4 do desenvolvimento do intestino.

Tabela 3.3: Valores obtidos no teste t de Student em que o tempo (em dias) de visualização do desenvolvimento intestinal é analisado nas quatro fases de desenvolvimento, comparando as cadelas que tiveram parto normal *versus* cesariana.

<b>Fases (US) de desenvolvimento das alças intestinais fetais</b>	<b>Intervalo de Confiança de 95%</b>		<b>G. L.</b>	<b>p-valor</b>
	<b>Limite inferior</b>	<b>Limite superior</b>		
Fase 1	-2,1248	0,9502	14	0,4257
Fase 2	-1,451	1,6732	14	0,881
Fase 3	-3,1085	0,9419	12	0,2653
Fase 4	-3,1289	-0,6489	15	0,0054**

**Abreviações:** US, ultrassonográficas; Fase 1: visualização de uma área uniforme e ecogênica caudal ao fígado, em região topográfica do intestino; Fase 2: início da visualização de definição parede intestinal sem peristaltismo; Fase 3: visualização peristaltismo em alguns segmentos do intestino; Fase 4: visualização peristaltismo em todos os segmentos (movimento a cada 3 segundos). \*\* Significativo ao nível de 5%.

No modelo COX semiparamétrico, o valor do coeficiente do grupo de referência (cadelas parto normal) foi -1,316, resultando em  $\exp(-1,316) = 0,268$ . Isto confirma que o tempo de visualização ultrassonográfica do intestino na fase 4 (em que há peristaltismo) é diferente nos fetos nascidos por cesariana dos proferidos naturalmente, em outras palavras, a duração da fase 4 foi maior nos fetos nascidos por cesariana.

A probabilidade de sobrevivência do feto se tivesse nascido em qualquer dia durante a fase 4 foi diferente quando se comparam os filhotes nascidos de parto normal com aqueles por cesariana, resultando em uma curva de Kaplan-Meier com em forma de escada (Figura 3.2). Esta diferença de probabilidade de sobrevivência na fase 4 foi testado pelo teste Log-Rank indicando que a duração da fase 4 foi estatisticamente diferente entre os grupos.

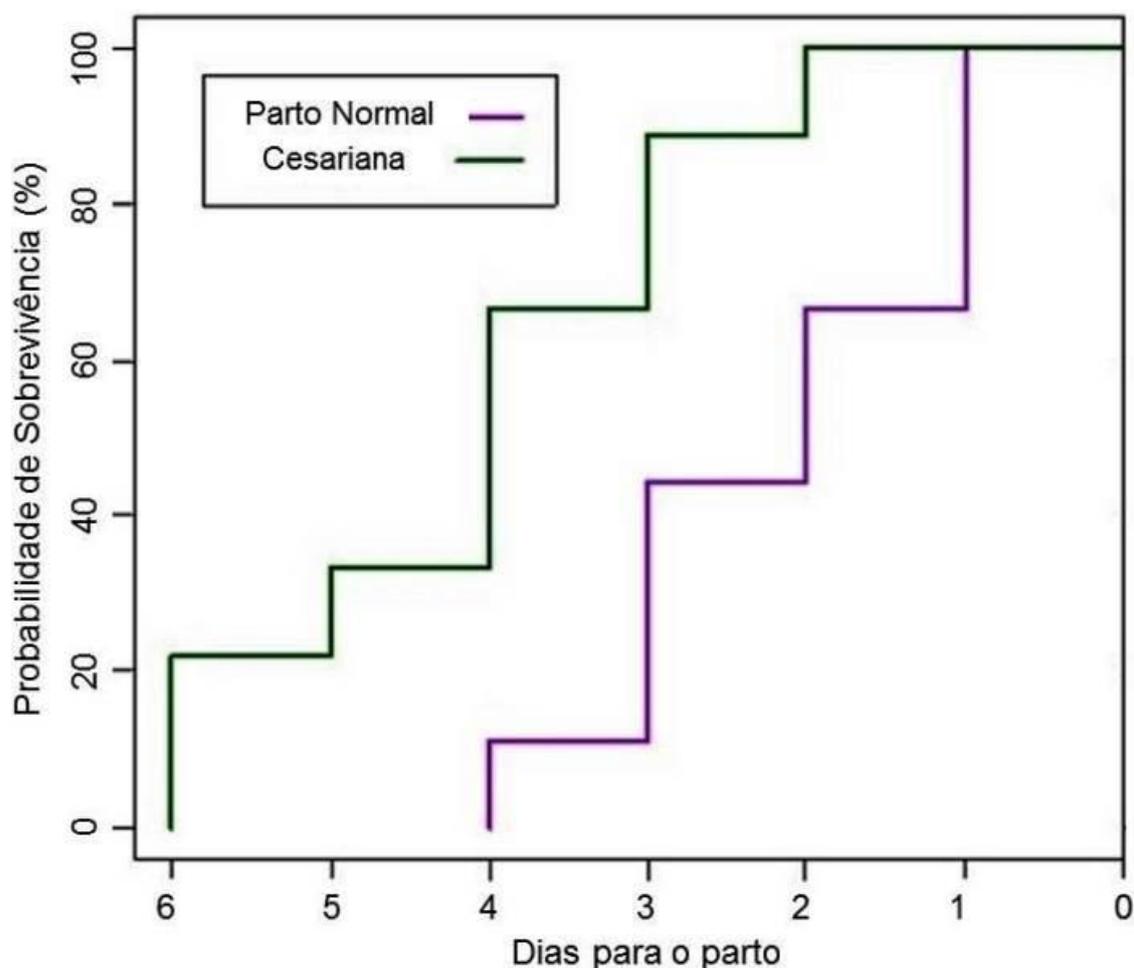


Figura 3.2. Ilustração da curva de Kaplan-Meier mostrando a probabilidade de sobrevivência fetal se tivesse nascido em qualquer dia durante a fase 4.

### 3.4 Discussão

Tendo em vista o desenvolvimento técnico contínuo dos equipamentos de imagem, como o ultrassom, torna-se essencial reestudar os dados anteriormente publicados na literatura veterinária. Esse estudo de descrição ultrassonográfica do desenvolvimento de intestino fetal foi realizado porque é esse órgão cujo desenvolvimento é relatado como finalizador da organogênese fetal, indicando uma idade gestacional de 57 dias de gestação (Yeager et al., 1992; Kim & Son, 2007; Levstein-Volanski, 2008).

A determinação precisa da idade fetal é importante para reduzir o risco de parto prematuro e consequentes mortes fetais por decisões informadas no momento da cesariana, se indicada. A precisão na idade fetal é particularmente importante em raças braquicefálicas, em que a intervenção cirúrgica é necessária para o parto (Johnston et al., 2001; Jackson, 2004; Linde-Forsberg, 2005; Bergstrom et al., 2006; Evans & Adams 2010; Wydooghe et al., 2013).

Nesse estudo, a primeira identificação ultrassonográfica do intestino fetal ocorreu em cerca de 39 a 44 dias de gestação (Tabela 3.2), neste período (Fase 1), o intestino fetal tem características ultrassonográficas não descritas em estudos prévios. Na fase 1, a característica ultrassonográfica corresponde ao desenvolvimento do intestino primitivo, com origem na camada dorsal mesênquimal (mesentério dorsal) e está interposta entre suprimento vascular, vasos linfáticos e neurônios. A fase 2, é acompanhada pela formação das paredes intestinais que são derivados da endoderme (camada interna do intestino) e mesoderme esplâncnico (camada externa) que vai se desenvolver no músculo conjuntivo da parede do intestino e, posteriormente, se organizar para formar as quatro camadas da parede intestinal contribuindo para o aumento do comprimento intestinal (McGeady et al., 2006).

A boa definição de parede e da superfície do lúmen intestinal fetal associado a primeira visualização do peristaltismo intestinal marca o início da fase 3, que ocorre em aproximadamente 48 a 54 dias de gestação (Tabela 3.2). Nesta fase o peristaltismo não é constante, e alguns segmentos do intestino exibem nenhum movimento peristáltico (Figura 3.1C). É este peristaltismo intermitente que define que o feto ainda está na fase 3 de desenvolvimento e que a

organogênese não está completa. Os erros na interpretação do movimento peristáltico podem resultar na determinação imprecisa da idade fetal e conseqüentemente no planejamento inadequado da intervenção cirúrgica (cesariana), sendo que na fase 3, há ainda cerca de oito a quinze dias antes do feto estar a termo (Tabela 3.2).

A fase 4 coincide com a idade fetal aproximada de 57 a 62 dias de gestação (Tabela 3.2) e provavelmente corresponde com as descrições de intestino fetal conforme já relatado na literatura (Yeager et al., 1992; Kim & Son, 2007; Levstein-Volanski, 2008; Lopate, 2008). Esta é a última fase da organogênese fetal. Neste momento, é possível reconhecer a parede do intestino e distinguir a superfície mucosa *versus* a parede (Figura 3.1D). Com equipamentos de ultrassom de alta resolução e os ajustes apropriados para examinar o feto, as três camadas da parede intestinal (como em cães adultos) podem ser identificadas. No entanto, a visualização ecográfica das cinco camadas da parede como no intestino adulto não é possível, presumivelmente por causa do tamanho das estruturas quando comparadas aos pacientes adultos.

Na fase 4 conteúdos intraluminais são bem definidos, provavelmente representando conteúdo mucoso (ecogênico/ hiperecótico) e líquido (anecótico). Sugerimos que estes resultados na fase 4 referem-se ao aumento da quantidade de mecônio no trato gastrointestinal, aumentando os níveis que no homem se correlaciona com a progressão da gravidez (Becker et al., 1940; McLain, 1963). Em fetos humanos, sabe-se que a propulsão de mecônio ao longo do intestino provoca distensão e peristaltismo suficiente para mover os conteúdos luminiais (Crelin, 1973), achado este também observado em nosso estudo.

A identificação de fluido intraluminal anecótico é uma característica de maturação intestinal em fetos humanos, e corresponde ao mecônio. O mecônio se acumula no intestino, distendendo-o parcialmente e facilitando a identificação do peristaltismo. Em fetos humanos, esse achado juntamente com a visualização do estômago e bexiga são algumas das características ultrassonográficas que ajudam a monitorar a organogênese fetal (Ziliani & Fernández, 1983).

Cuidados devem ser tomados durante o exame ultrassonográfico ao diferenciar as fases 3 e 4 do desenvolvimento intestinal pois, esta distinção é sutil.

A avaliação do peristaltismo é o ponto chave - na fase 4, o peristaltismo intestinal é visível imediatamente, ao contrário da fase 3, em que a identificação só é possível após um minuto de observação. Outro ponto a ser considerado para esta distinção é que o fluido intraluminal é mais evidente na fase 4. Grande cuidado deve ser tomado para não se tomar decisões precipitadas no que se diz respeito ao planejamento de cesariana por exemplo, o que poderia resultar na morte de fetos prematuros.

As fases 1, 2 e 3 de desenvolvimento do intestino fetal ocorreram, em média, nas mesmas idades fetais (conforme determinado pela ultrassonografia), em ambos os grupos de cadelas (parto normal e cesariana) (Tabela 3.2); demonstrando que o desenvolvimento desse órgão é equivalente em ambos os grupos. No entanto, confirmamos que houve, em média, o dobro de dias até o parto do início da fase 4 em cadelas que posteriormente tiveram partos por cesariana em comparação com as cadelas com parto normal. Esta diferença na duração da fase 4 (em dias) foi confirmada estatisticamente pelo teste t de Student. Este achado é provavelmente o resultado das cadelas que posteriormente tiveram partos cesarianos, enquanto os pesquisadores esperavam que os filhotes nascessem por parto normal. Cesarianas só foram sugeridas, uma vez que o parto normal não ocorreu e os fetos entraram em estado de sofrimento. O modelo de riscos proporcionais de Cox resultou em um coeficiente significativo demonstrando as diferenças na duração da fase 4 de desenvolvimento entre fetos de cadelas que nasceram de partos cesáreos, em comparação com fetos de cadelas que tiveram um parto normal.

A probabilidade de sobrevivência fetal se este nascer em um dia em particular é ilustrada pela curva de Kaplan-Meier (Figura 3.2) e está correlacionada com o grau de maturação fetal em cada dia da fase 4 de desenvolvimento do intestino em ambos os grupos de cães, uma vez que o peristaltismo intestinal é observado pela ultrassonografia. Fetos nascidos neste momento tinham 20% de chance de sobrevivência em cães submetidos à cesariana e 10% de chance de sobrevivência em cães que tiveram parto normal. Isto sugere que os fetos, provavelmente, não estavam suficientemente maduros para sobreviver no ambiente extrauterino em ambos os grupos. Isto demonstra que o exame de ultrassom não é suficientemente preciso para indicar maturidade

fetal no primeiro dia em que o peristaltismo intestinal fetal é detectado na fase 4. O nascimento ocorreu após seis dias em cadelas submetidas à cesariana e quatro dias após em cadelas que tiveram parto normal. Quando o peristaltismo intestinal é visualizado em um único exame de ultrassom, a maturação fetal deve ser confirmada pela avaliação adicional de outros órgãos em conjunto.

A curva de Kaplan-Meier (Figura 3.2) mostra uma diferença na probabilidade de sobrevivência entre os fetos dos dois grupos na fase 4 de desenvolvimento do intestino fetal. Esta diferença entre os grupos foi testada pelo teste de Log-Rang que provou ser estatisticamente significativa ao nível de 5%. A diferença na probabilidade de sobrevivência entre os grupos é porque são mais necessários dias de desenvolvimento para os fetos do grupo de cadelas submetidas a partos cesarianos. Mais uma vez, estes dias extras são, provavelmente, devido a atrasos no parto - parto normal foi esperado no grupo de parto cesariana, até ao momento em que o feto entrou em estado de sofrimento (Gil et al., 2014), e a cirurgia foi indicada.

Uma das limitações desse estudo é de que todos os fetos nasceram saudáveis, apesar das indicações de cesariana, o sofrimento fetal foi baseado na detecção de ultrassonográfica de variações na frequência cardíaca fetal (Gil et al., 2014). Outro fator que deve ser considerado é que houve um intervalo na idade gestacional mais ampla do que o esperado nas cadelas que foram apresentadas para exame, porque estas eram de propriedade animais de estimação e não de cães experimentais. Outras limitações deste estudo foram variações raciais das cadelas, o pequeno número de animais incluídos e a ausência de dosagens do hormônio luteinizante.

O peristaltismo intestinal é um achado importante que fornece a evidência de conclusão da organogênese fetal canino. No entanto, deve-se notar que, mesmo após o desenvolvimento completo do intestino, ultrassonografia não pode utilizada como base para determinar a funcionalidade (maturação) deste órgão. Isso foi demonstrado neste estudo porque, mesmo após a confirmação ecográfica do desenvolvimento intestinal fetal, demoraram mais quatro dias decorridos para o parto natural e até seis dias antes sinais de sofrimento fetal se tornar evidente.

As evidências ultrassonográficas da completa organogênese intestinal não devem ser utilizadas como único parâmetro para se programar uma cesariana.

Sugerimos a monitorização fetal diária por ultrassom a partir da fase 4 de desenvolvimento intestinal ultrassonográfico sendo que nessa fase as oscilações da frequência cardíaca fetal (Gil et al., 2014) se iniciam e esse é um preditor mais confiável do dia do parto.

#### *3.4.1 Conclusões*

A avaliação do desenvolvimento de uma gestação é possível utilizando a monitorização ecográfica do desenvolvimento intestinal e essa pode identificar com segurança o fim da organogênese fetal. A detecção ultrassonográfica dos segmentos intestinais com a visualização das camadas da parede associada ao peristaltismo não deve, contudo, ser utilizado como o único indicador para o planeamento de uma cesariana, porque não é possível determinar pela ultrassonografia se o intestino está funcional (maduro).

### **3.5 Agradecimentos**

Agradecemos a CAPES pela bolsa concedida e Eliane de Fátima Coimbra pela ajuda nos cálculos estatísticos. Nossos principais agradecimentos vão para os proprietários que aceitaram colaborar neste estudo.

### **3.6 Referências**

BECCAGLIA, M.; LUVONI, G. C. Comparison of the accuracy of two ultrasonographic measurements in predicting the parturition date in the bitch. **Journal of Small Animal Practice**, vol. 47, n. 11, p. 670-673, 2006.

BECKER, R. F.; MARTH, E. E.; SCHULZ, M. D. Fetal swallowing, gastro-intestinal activity and defecation in amnio. **Surgery, Gynecology & Obstetrics**, vol. 70, p. 603-614, 1940.

BERGSTROM, A.; NODTVEDT, A.; LAGERSTEDT, A. S.; EGENVALL, A. Incidence and breed predilection for dystocia and risk factors for cesarean section in a Swedish population of insured dogs. **Veterinary Surgery**, vol. 35, n. 8, p. 786-791, 2006.

CONCANNON, P. W.; WHALEY, S.; LEIN, D.; WISSLER, R. Canine gestation length: variation related to time of mating and fertile life of sperm. **American Journal of Veterinary Research**, vol. 44, n. 10, p. 1819-1821, 1983.

COX, D. R. Regression Models and Life Tables (with Discussion). **Journal of the Royal Statistical Society: Series B**, vol. 34, n. 2, p. 187-220, 1972.

CRELIN, E. S. **Functional Anatomy of the newborn**. New Haven, Yale University, 1973, p. 56-58.

ENGLAND, G. C. W.; ALLEN, W. E. Studies on canine pregnancy using B-mode ultrasound. Development of the conceptus and determination of gestational age. **Journal of Small Animal Practice**, vol. 31, n. 7, p. 324-329, 1990.

EVANS, K. M.; ADAMS, V. J. Proportion of litters of purebred dogs born by Caesarean section. **Journal of Small Animal Practice**, vol. 51, n. 2, p. 113-118, 2010.

GIL, E. M. U.; GARCIA, D. A.; GIANNICO, A. T.; FROES, T. R. Canine fetal heart rate: Do accelerations or decelerations predict the parturition day in bitches? **Theriogenology**, vol. 82, n. 7, p. 933-941, 2014.

JACKSON, P. G. G. Dystocia in dog and cat. In: \_\_\_\_\_. **Handbook of veterinary obstetrics**. 2. ed. Philadelphia: WB Saunders Company, 2004. p. 141-166.

JOHNSTON, S. D.; ROOT KUSTRITZ, M. V.; OLSON, P. N. S. Canine pregnancy. In: \_\_\_\_\_. **Canine and feline theriogenology**. Philadelphia: WB Saunders Company; 2001. p. 66–104.

KAPLAN, E. L.; MEIER, P. J. Nonparametric estimation from incomplete observations. **Journal of the American Statistical Association**, vol. 53, n. 282, p. 457-460, 1958.

KIM, B. S.; SON, C. H. Time of initial detection of fetal and extra-fetal structures by ultrasonographic examination in Miniature Schnauzer bitches. **Journal of Veterinary Science**, vol. 8, n. 3, p. 289-293, 2007.

KUTZLER, M. A.; YEAGER, A. E.; MOHAMMED, H. O.; MEYERS-WALLEN, V. N. Accuracy of canine parturition date prediction using fetal measurements obtained by ultrasonography. **Theriogenology**, vol. 60, n. 7, p. 1309-1317, 2003.

LAMM, C. G.; MAKLOSKI, C. L. Current advances in gestation and parturition in cats and dogs. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, vol. 42, n. 3, p. 445-456, 2012.

LEVSTEIN-VOLANSKI, R. **Evaluation of tests commonly used to predict parturition date in the bitch**. DVSc. Thesis. University of Guelph, Canada; p. 76–101, 111–112, 2008.

LINDE-FORSBERG, C. Abnormalities in pregnancy, parturition and the periparturient period. In: ETTINGER, S.; FELDMAN, E. **Textbook of veterinary obstetrics**. London: WK Saunders Company; 2005. p. 1655–67.

LOPATE, C. Estimation of gestational age and assessment of canine fetal maturation using radiology and ultrasonography: A review. **Theriogenology**, vol. 70, n. 3, p. 397-402, 2008.

LUVONI, G. C.; BECCAGLIA, M. The prediction of parturition date in canine pregnancy. **Reproduction in Domestic Animals**, vol. 41, n. 1, p. 27-32, 2006.

MCGEADY, T. A.; QUINN, P. J.; FITZPATRICK, E. S.; RYAN, M. T.; CAHALAN, S. Digestive System. In: \_\_\_\_\_. **Veterinary Embryology**. 1. ed. Oxford: Blackwell Publishing, 2006. p. 205-21.

MCLAIN, C. R. JR. Amniography studies of the gastrointestinal motility of the human fetus. **American Journal of Obstetrics & Gynecology**, vol. 15, n. 86, p. 1079-1087, 1963.

NYLAND, T. G.; MATTOON, J. S. Ovaries and uterus. In: \_\_\_\_\_. **Small animal diagnostic ultrasound**. 3. ed. Philadelphia: Saunders Company, 2015. p. 634-54.

PENNINCK, D. G.; NYLAND, T. G.; FISHER, P. E.; KERR, L. Y. Normal ultrasonography of the canine gastrointestinal tract. **Veterinary Radiology & Ultrasound**, vol. 30, n. 6, p. 272-276, 1989.

WYDOOGHE, E.; BERGHMANS, E.; RIJSSELAERE, T.; VAN SOOM, A. International breeder inquiry into the reproduction of the English bulldog. **In Practice**, vol. 82, p. 38-43, 2013.

YEAGER, A. E.; MOHAMMED, H. O.; WALLEN, V. M.; VANNEPERSON, L.; CONCANNON, P. W. Ultrasonographic appearance of the uterus, placenta, fetus, and fetal membranes throughout accurately timed pregnancy in beagles. **American Journal of Veterinary Research**, vol. 53, n. 3, p. 342-351, 1992.

ZILIANI, M.; FERNÁNDEZ, S. Correlation of Ultrasonic Images of Fetal Intestine with Gestational age and Fetal Maturity. **Obstetrics & Gynecology**, vol. 62, n. 5, p. 569-573, 1983.

Zone MA, Wanke MM. Diagnosis of canine fetal health by ultrasonography. **Journal of Reproduction and Fertility. Supplement** vol. 57, p. 215-219, 2001.

## ANEXOS E APÊNDICES

### 4.1 Aprovação no Comitê de Ética do Setor de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Paraná



**Universidade Federal do Paraná**  
**Setor de Ciências Agrárias**  
**Comissão de Ética no Uso de Animais – CEUA SCA**

#### CERTIFICADO

Certificamos que o protocolo no. 064/2013, referente ao projeto “Reprodutibilidade das técnicas imaginológicas e análise interobservador no diagnóstico gestacional em cães”, sob a responsabilidade de Elaine Mayumi Ueno Gil, na forma em que foi apresentado (uso de 15 cadelas), foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais do Setor de Ciências Agrárias, em reunião realizada dia 06 de novembro de 2013.

#### CERTIFICATE

We certify that the protocol number 064/2013, regarding the project “Reproducibility of imaging procedures and analysis interobserver in diagnosis gestacional in dogs”, under Elaine Mayumi Ueno Gil’s supervision, in the terms it was presented (use of 15 bitches), was approved by the Animal Use Ethics Committee of the Agricultural Sciences Campus of the Universidade Federal do Paraná (Federal University of the State of Paraná, Southern Brazil) during session on November 06, 2013.

Curitiba, 20 de novembro de 2013.

Patrick Schmidt

Presidente

Ricardo Guilherme D’Otaviano  
de Castro Vilani  
Vice-Presidente

Comissão de Ética no Uso de Animais  
Setor de Ciências Agrárias  
Universidade Federal do Paraná.

## 4.2 Artigo científico publicado na revista *Clinica Veterinária: Limitações e indicações clínicas da ultrassonografia gestacional em cadelas: revisão de literatura*

### Diagnóstico por imagem

#### Limitações e indicações clínicas da ultrassonografia gestacional em cadelas – revisão de literatura

Clinical indications and limitations of gestational ultrasonography in bitches – literature review

Las indicaciones clínicas de la ecografía gestacional en perras y sus limitaciones – revisión de la literatura

*Clinica Veterinária*, Ano XVII, n. 103, p. x-y, 2013

**Elaíne Mayumi Ueno Gil**  
médica veterinária autônoma  
nani\_pr@yahoo.com

**Daniela Aparecida Ayres Garcia**  
médica veterinária  
PPGC/UFPR  
daniapag@yahoo.com.br

**Tilde Rodrigues Froes Palva**  
MV, profa. adj. II  
CMV/UFPR  
froesilde@gmail.com

**Resumo:** Diferentes questões surgem durante a realização do exame ultrassonográfico gestacional em fêmeas caninas. Tais questionamentos correlacionam-se: a confirmação diagnóstica da gestação, o cálculo da idade gestacional, a avaliação do número de fetos e o diagnóstico de sofrimento fetal. Contudo, nem todos esses questionamentos apresentam respostas simples, pois algumas dificuldades enfrentadas pelo ultrassonografista durante o exame podem gerar incertezas no resultado. As características fisiológicas, clínicas e fisiopatológicas precisam ser consideradas, evitando-se assim erros de interpretação diagnóstica. O objetivo deste texto é expor as limitações do exame ultrassonográfico gestacional em cadelas e exibir as possibilidades de utilização de algumas inovações tecnológicas associadas à ultrassonografia para esse diagnóstico.

**Unitermos:** ultrassom, gestação, desafios, diagnóstico

**Abstract:** Different issues arise during the course of gestational ultrasound in female dogs. Such questions are correlated: the diagnostic confirmation of pregnancy, the calculation of gestational age, the evaluation of the number of fetuses and the diagnosis of fetal suffering. However, not all of these questions have simple answers, because some difficulties faced by the examiner during the procedure may generate uncertainty in the result. The physiological, pathophysiological and clinical characteristics need to be considered in order to avoid errors due to misinterpretation of diagnostic findings. The aim of this paper is to expose the limitations of ultrasound in pregnant bitches and show the possibilities of certain technological innovations associated with ultrasonography for attaining an accurate diagnosis.

**Keywords:** ultrasound, pregnancy, challenges, diagnosis

**Resumen:** Durante el examen ecográfico gestacional en las perras, suelen ser varias los cuestionamientos que pueden aparecer. Estas preguntas están relacionadas con la confirmación diagnóstica de la gestación, el cálculo de la edad gestacional, la evaluación del número de fetos y el diagnóstico de sufrimiento fetal. No todos los cuestionamientos planteados tienen una respuesta simple, y ciertas dificultades con las que se enfrenta el ecografista durante el examen, pueden crear dudas en el resultado. Las características fisiológicas, clínicas y fisiopatológicas deben ser siempre tenidas en cuenta, evitando de esa forma los errores de interpretación diagnóstica. El objetivo del presente trabajo es plantear las limitaciones del examen ultrasonográfico gestacional en perras, y mostrar las posibilidades que ofrecen algunas innovaciones tecnológicas asociadas a la ultrasonografía en este tipo de examen diagnóstico.

**Palabras clave:** ultrasonido, gestación, desafíos, diagnóstico

### 4.3 Artigo científico publicado na revista *Theriogenology*: *Canine fetal heart rate: Do accelerations or decelerations predict the parturition day in bitches?*

Theriogenology 82 (2014) 933–941

---



Contents lists available at ScienceDirect

## Theriogenology

journal homepage: [www.theriojournal.com](http://www.theriojournal.com)



---

## Canine fetal heart rate: Do accelerations or decelerations predict the parturition day in bitches?



E.M.U. Gil<sup>a</sup>, D.A.A. Garcia, A.T. Giannico, T.R. Froes

*Department of Diagnostic Imaging, Federal University of Paraná, Curitiba, Paraná, Brazil*

---

**ARTICLE INFO**

**Article history:**  
 Received 5 February 2014  
 Received in revised form 22 April 2014  
 Accepted 30 April 2014

**Keywords:**  
 Canine  
 Fetal ultrasonography  
 Pregnancy  
 Gestational ultrasound

**ABSTRACT**

Ultrasonography is a safe and efficient technique for monitoring fetal development and viability. One of the most important and widely used parameters to verify fetal viability is the fetal heart rate (HR). In human medicine, the fetal HR normally oscillates during labor in transient accelerations and decelerations associated with uterine contractions. The present study investigated whether these variations also occur in canine fetuses and its relationship to parturition. A cohort study was conducted in 15 pregnant bitches undergoing two-dimensional high-resolution ultrasonographic examination during the 8th and 9th week of gestation. Fetal HR was assessed in M-mode for 5 minutes in each fetus in all bitches. In addition, the bitches were monitored for clinical signs of imminent parturition. Associations between the HR, anestrus time, and delivery characteristics were evaluated with a Poisson regression model. Fetal HR acceleration and deceleration occurred in canine fetuses and predicted the optimal time of parturition. These findings can help veterinarians and sonographers better understand this phenomenon in canine fetuses.

© 2014 Elsevier Inc. All rights reserved.

---

#### 1. Introduction

Canine gestation lasts 64 to 66 days based on the pre-ovulatory serum luteinizing hormone peak [1]. However, full-term gestation ranges from 57 to 72 days post-breeding, depending on the breed, litter size, and the individual proestrus and estrus duration [2–5]. It is difficult to predict the exact day of partum in bitches. An accurate method predicting the precise time of parturition in bitches would prove useful by allowing timely intervention to minimize or prevent reproductive losses.

Ultrasonography is a safe and effective method for monitoring fetal development and viability [6]. One of the most important and widely used parameters to verify fetal viability is fetal heart rate (HR). Fetal stress resulting from hypoxia can occur during dystocia and manifests as a decreased HR [7]. Fetal HR should be greater than 220 beats

per minute (bpm); HRs between 180 and 220 bpm indicate moderate fetal distress, whereas values less than 180 bpm indicate severe fetal distress [8].

In human medicine, Hon [9] and Caldeyro-Barcia et al. [10] reported that fetal HR oscillated during phase I of labor. They observed transient accelerations and decelerations in the normal fetal cardiac activity resulting from uterine contractions. Such events have not been described in veterinary medicine. Therefore, the present study assessed whether these changes occur in dogs, their relationship to parturition, and their utility in predicting a suitable time for a Cesarean section.

#### 2. Materials and methods

This cohort study was conducted on 15 pregnant bitches that underwent an ultrasonographic examination during the 8th and 9th week of gestation. All procedures were conducted in accordance with the Animal Use Committee guidelines. In all bitches, the examination was performed using two-dimensional ultrasonographic equipment and

\* Corresponding author. Tel.: +55 (41) 3350 5616; fax: +55 (41) 3350 5725.

E-mail address: [efaineg007@gmail.com](mailto:efaineg007@gmail.com) (E.M.U. Gil).

#### 4.3 VITA

Médica veterinária formada pela Universidade Federal do Mato Grosso do Sul, no ano de 2008.

Cursou especialização em Radiodiagnóstico no Instituto Veterinário de Imagem (IVI – SP), agosto a dezembro de 2009.

Cursou residência médica veterinária atuando na área de Diagnóstico por Imagem no Hospital Veterinário da Universidade Estadual de Londrina, março de 2010 a março de 2012.

Cursou o Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias da Universidade Federal do Paraná, março de 2013 a março de 2015.