

Ultrassonografia gestacional em ovelhas - Revisão de literatura

Gestational ultrasonography in sheep – Literature review

Victor J.C. Santos^{1,3}, Ricardo A.R. Uscategui¹, Vívian T. Almeida¹, Mariana G.K. Rodriguez¹, Priscila A. Silva¹, Augusto R. Taira¹, Renata S.G. Mariano¹, Marcus A.R. Feliciano², Wilter R.R. Vicente¹

¹Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade estadual Paulista, Jaboticabal, São Paulo, Brasil.

²Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas, BA, Brasil.

³Correspondência: santosvjc@gmail.com

Resumo

A ultrassonografia é uma importante ferramenta para a avaliação de órgãos internos, não invasiva e segura. Com o avanço da tecnologia, abriu-se um leque maior de possibilidades para sua aplicação por meio de novas técnicas que complementam a avaliação de forma mais acurada. Devido às semelhanças fisiológicas e por questões éticas, ovelhas são usadas como modelo experimental, especialmente no que diz respeito ao estudo de tecnologias modernas e que precisam de maior entendimento quanto ao seu funcionamento e aplicabilidade. O modo B ainda é o mais utilizado na rotina clínica e especialmente importante na Obstetrícia Veterinária, pois permite o acompanhamento da gestação e do desenvolvimento embrionário e fetal com avaliações repetidas durante todo o período gestacional. Esta revisão se propõe a mostrar a evolução da ultrassonografia com enfoque no estudo da gestação de ovelhas, seja como modelo experimental ou para aplicabilidade na Medicina Veterinária.

Palavras-Chave: diagnóstico por imagem, prenhez, ovinos.

Abstract

Ultrasonography is an important tool to evaluate internal organs, since it can be done in a non-invasive and safe way. Also, technological advancement opens a greater range of possibilities for its application with new techniques that allows a more accurate assessment. Due to physiological similarities and ethical issues, sheep are used as experimental model especially in regard to the study of modern technologies. B mode is still the most used ultrasound mode in clinical routine and is especially important in Veterinary Obstetrics, since it allows the monitoring of the pregnancy and development of the embryo/fetus with repeated examinations throughout the gestational period. This review brings a vast number of papers on the use of ultrasonography for evaluation and study of the gestation in sheep.

Keywords: image diagnosis, pregnancy, ewe.

Introdução

As diferentes tecnologias ultrassonográficas possuem inúmeras aplicações em Medicina Veterinária, permitindo avaliar órgãos de forma segura e não invasiva, tornando-se assim, um dos principais exames complementares para o auxílio diagnóstico em animais (Simões, 2008). Para obstetrícia e reprodução de pequenos ruminantes, pode ser utilizada na avaliação do sistema reprodutor em machos (Gouletsou, 2016) e fêmeas (Figueira et al., 2015), além de permitir o acompanhamento do crescimento embrionário e fetal ao longo da gestação (Jones et al., 2016).

Técnicas de imagem diagnóstica por ultrassom tem evoluído desde escalas de cinza e duas dimensões (Wilkins, 1986; Buckrell, 1988) até tecnologias que permitem a reconstrução digital de imagens 3D - tridimensionais (Franz et al., 2004) e 4D – ultrassonografia volumétrica (Banerjee et al., 2016). A ultrassonografia Doppler possibilita a avaliação detalhada da circulação sanguínea, permitindo o estudo do desenvolvimento vascular e seus aspectos relacionados ao período gestacional e tecidos materno-fetais (Santos et al., 2015; Stock et al., 2017). Recentemente, a elastografia tem possibilitado que se estime a consistência tecidual (Brito et al., 2015) e apresenta-se como uma extensão da palpação, dando melhor localização espacial, além de eliminar a subjetividade daquele método (Garra, 2015). Essas tecnologias têm potencial de uso ainda pouco explorado na obstetrícia de ovinos, sendo úteis para a aquisição de informações relevantes sobre o desenvolvimento materno-fetal.

Em razão disto, o entendimento acerca da fisiologia da gestação de ovinos é fundamental seja para otimizar a sua exploração econômica ou aprofundar o conhecimento acerca da espécie como modelo para humanos. Assim, esta revisão tem como objetivo trazer um panorama sobre a aplicabilidade da ultrassonografia para o estudo da gestação em ovelhas.

Ultrassonografia bidimensional - Modo B

O primeiro ultrassom em tempo real, conhecido como fast B-scanner foi desenvolvido por Walter Krause e Richard Soldner com Paetzold e Otto Kresse em 1965. Em 1966, Hofmann, Holländer e Weiser fizeram a primeira publicação de um trabalho utilizando essa tecnologia em ginecologia e obstetrícia humana (Hofmann et al., 1966). Posteriormente, a tecnologia utilizada no fast B-scanner foi aprimorada, tornando-se o que viria a ser conhecido como Modo B.

Em ovinos, há relatos do uso da ultrassonografia Modo B para diagnóstico de gestação desde os anos 80 com o trabalho de Wilkins (1986) buscando esclarecer quando seria possível realizar o diagnóstico de gestação pela via transretal e caracterizou “bolsas” repletas de líquido que se formam no útero aos 18 dias de gestação, correspondendo ao primeiro sinal de gestação. O autor observou também a presença de embriões entre os dias 20 e 25 e batimentos cardíacos a partir do 24º dia.

A precocidade no diagnóstico gestacional é desejável em todas as espécies de interesse zootécnico, já que permite adequações de manejo e planejamento estratégico na produção (Bragança, 2016). Medan et al., (2004) avaliaram a aplicabilidade da ultrassonografia para avaliação gestacional em cabras, diagnosticando gestação aos 19 dias e visibilizando saco gestacional aos $20,2 \pm 0,6$ dias e batimentos cardíacos aos $24,3 \pm 0,7$. Amer (2009), diagnosticou gestação aos $19,5 \pm 0,3$ e batimentos cardíacos $22,9 \pm 0,7$ dias de gestação. De acordo com Moraes et al. (2008) os primeiros sinais de gestação em ovelhas são identificados no 15º dia quando se observa líquido no útero, porém, torna-se necessário aguardar até o 24º dia para realizar diagnóstico fidedigno, já que neste período é possível observar o embrião, além de batimentos cardíacos e, portanto, atestar a presença e viabilidade deste. As conclusões destas pesquisas em cabras e ovelhas são muito próximas e permitem a extrapolação de resultados de uma espécie para a outra. Pode-se inferir que mesmo os resultados das primeiras pesquisas realizadas em ovinos por Wilkins (1986), Buckrell (1988) e Restall et al. (1990) não diferiram muito dos resultados mais atuais.

Esse método também permite que se avalie a viabilidade fetal, que pode ser definida pela identificação de batimentos cardíacos e movimentação fetais (Barr, 1988). Os batimentos cardíacos podem ser percebidos por volta dos 25 dias e a movimentação a partir dos 32 dias (Wilkins, 1986; Moraes et al., 2008).

Além disso, a ultrassonografia, quando utilizada em avaliações seriadas, permite que se faça diagnóstico de absorção embrionária.

Além do diagnóstico de gestação e de atestar a viabilidade fetal, a ultrassonografia modo B pode ser utilizada para avaliação do crescimento e desenvolvimento das crias por meio da biometria e permitir a estimativa fidedigna da idade gestacional. Em ovelhas Santa Inês, Moraes et al. (2008) relataram achados ultrassonográficos relacionados ao tempo de gestação (Tab. 1), permitindo inferir a idade gestacional e identificar parâmetros para acompanhar o desenvolvimento fetal.

Tabela 1. Primeiro momento de visibilização ultrassonográfica de estruturas materno-fetais em ovelhas Santa Inês. Adaptado de Moraes et al. (2008).

Estruturas	Data (média $\pm$ DP) (dias)	IV (dias)	CV (%)
LI	$16,3 \pm 1,3$	15 - 19	1,6
VE	$18,6 \pm 1,4$	16 - 22	1,9
EB	$22,8 \pm 1,9$	18 - 26	3,6
MA	$27,4 \pm 1,8$	24 - 32	3,3
PL	$25,1 \pm 2$	20 - 29	4,1
BC	$25,9 \pm 1,4$	24 - 29	1,8
CU	$35,1 \pm 1,5$	32 - 39	2,2
CT	$33,4 \pm 2,2$	30 - 37	5
BG	$36,7 \pm 1,5$	34 - 39	2,1
MF	$34,2 \pm 2$	30 - 38	3,9
GO	$40,9 \pm 1,2$	39 - 43	1,5

IV: intervalo de visibilização; CV: coeficiente de variação. LI: líquido intra uterino; VE: vesícula embrionária; EB: embrião; MA: membrana amniótica; PL: Placentônios; BC: batimentos cardíacos; CU: cordão umbilical; CT: diferenciação entre cabeça e tronco; BG: botões germinativos dos membros; MF: movimentação fetal; GO: globo ocular.

A biometria esquelética fetal foi avaliada como preditor da idade gestacional em ovelhas por Greenwood et al. (2002) em 32 animais mestiços. Após seis avaliações entre os 60 e 120 dias de gestação com transdutor transabdominal, os autores encontraram alta correlação entre diâmetro biparietal ($r = 0,93$) e comprimento do metacarpo ($r = 0,96$), com a idade gestacional, propondo as seguintes fórmulas para predição da idade gestacional: Tempo de Gestação = $28,4 + (1,06 \times \text{BPD}) + (0,0061 \times \text{BPD}^2)$ e Tempo de Gestação = $25,3 + (2,30 \times \text{MCL}) - (0,0138 \times \text{MCL}^2)$. Onde BPD é o diâmetro biparietal e MCL é o comprimento do metacarpo.

Amer (2009) obteve o comprimento crânio caudal do 40º ao 89º dia de gestação e o diâmetro biparietal

em cabras do 40° até o 109° dia utilizando transdutor transabdominal e encontrou alta correlação ($P < 0,0001$) entre a idade gestacional e esses parâmetros. As fórmulas sugeridas para o cálculo da idade gestacional são: $CRL = 0,464x - 17,767$ e $BPD = 0,055x - 1,431$. Onde CRL é o comprimento crânio caudal, BPD o diâmetro biparietal, e 'x' o período gestacional em dias.

Em ovelhas leiteiras avaliadas a partir do 25° até o 63° dia de gestação pela via transabdominal com transdutor linear, observou-se que o diâmetro biparietal e o comprimento crânio caudal apresentaram alta correlação ($r = 0,93$ e $r = 0,84$ respectivamente) e grande acurácia na estimativa da idade gestacional (Metodiev et al., 2012). Demonstrando a importância e a precisão da biometria fetal na avaliação gestacional de ovelhas.

Para a realização do exame, recomenda-se o posicionamento quadrupedal e que os animais sejam gentilmente contidos para minimizar o estresse (Garcia et al., 1993), visto que o mesmo pode influenciar negativamente o desenvolvimento do conceito (Elmetwally et al., 2016).

Ovelhas submetidas a estresse nos primeiros dias após a concepção geram crias com menor peso ao nascimento e subdesenvolvidas (Smith et al., 2008). Também existe a possibilidade de ocorrer absorção embrionária, como apontado por Barbosa (2008). Como a ultrassonografia é um método seguro e que pode ser utilizado durante todo o período gestacional (Ganie et al., 2009), conclui-se que se apresenta como ferramenta ideal para o diagnóstico de perda embrionária e subdesenvolvimento fetal.

Ali e Hayder (2007) e Feliciano et al. (2013) recomendam que se promova a elevação do abdômen para que o útero se aproxime do transdutor quando utilizada a via transretal. Na tentativa de aprimorar a técnica de realização do exame ultrassonográfico em ovelhas gestantes, Karen et al. (2004) avaliaram os benefícios de se fazer jejum de 12 horas e elevar o abdômen dos animais para diagnóstico gestacional e concluíram que essas medidas aumentam a precisão do exame. Apesar do resultado, o jejum não faz parte da metodologia dos demais trabalhos avaliados e pode-se creditar a melhora na qualidade das imagens, à elevação do abdômen. Para adequada exequibilidade são recomendados o transdutor linear - próprio para a via transretal (Garcia, 1993) e linear ou convexo - próprio para a via transabdominal (Jones et al., 2016).

Ultrassonografia Doppler

O efeito Doppler foi descrito primeiramente por Christian Johann Doppler em 1842 (Kawakama et al., 1993) e, atualmente tem sido amplamente utilizado na avaliação ultrassonográfica de parâmetros relacionados ao fluxo sanguíneo e vascularização (Feliciano et al., 2013). Em 1974, Barber et al. descreveram pela primeira vez o uso do modo B em tempo real em conjunto com o Doppler, chamando de *Duplex Scanner* o seu equipamento, o que pode ser considerado um marco para a ultrassonografia.

A fim de avaliar a aplicabilidade do modo Doppler Colorido para o diagnóstico precoce de gestação, Bragança et al. (2016) avaliaram o fluxo sanguíneo ovariano como sugerido por Figueira et al. (2015) e concluíram que aos 12 dias após a cobertura a precisão do diagnóstico gestacional foi de 85% devido ao aumento do fluxo sanguíneo.

Esta tecnologia foi usada por Acharya et al. (2007) para medir o volume de fluxo sanguíneo na artéria uterina em ovelhas prenhes, como modelo de estudo para humanos, a fim de investigar a correlação entre os valores calculados e os observados por meio de aferição direta no final da gestação e concluíram que houve alta correlação ($R = 0,76$; $P < 0,0001$) entre os métodos, obtendo variação de 90 a 800 mL/min para aferição direta e 110 a 900 mL/min para o cálculo feito com uso do Doppler.

Beltrame et al. (2017) obtiveram valores para vários parâmetros Doppler das artérias uterinas esquerda e direita em ovelhas, contribuindo para o entendimento das características do fluxo sanguíneo ao longo da gestação. Após dividirem a gestação em terços, observaram aumento nos valores de velocidade de pico sistólico, velocidade diastólica final, velocidade máxima e velocidade média conforme a gestação avançava.

Elmetwally e Bollwein (2016) avaliaram o fluxo sanguíneo da artéria uterina ipsilateral ao corno gravídico na 20ª semana gestacional e a cada três dias, a partir do dia do parto, durante quatro semanas e notaram redução no diâmetro da artéria uterina e também correlação positiva ($P < 0,05$) entre volume sanguíneo e diâmetro da artéria uterina, aceleração do fluxo sanguíneo e velocidade média do fluxo: ($r = 0,62$), ($r = 0,32$) e ($P = 0,51$) respectivamente. Os autores ainda ressaltam que é um estudo inovador que determina valores de referência para a espécie ovina durante o final da gestação e o puerpério.

Existe interesse na compreensão da fisiologia dos ovários de ovelhas prenhes. Estudando a função luteal, Figueira et al. (2015) avaliaram a vascularização dos corpos lúteos em ovelhas Santa Inês e concluíram que houve correlação entre as concentrações de progesterona e a área vascularizada ($r = 0,48$; $P < 0,05$). As concentrações aumentaram acompanhando o aumento da área vascularizada. O mesmo não ocorreu com as concentrações do referido hormônio e a área vascularizada após luteólise. Neste momento os níveis de progesterona diminuíram mais rapidamente do que a área vascularizada do corpo lúteo.

Elastografia

É uma tecnologia relativamente nova que cria imagens da “dureza” dos tecidos, como um aprimoramento da técnica de palpação, porém, fornece melhor informação sobre localização espacial e é menos

subjetiva (Garra, 2015). Em Medicina Veterinária, já foi utilizada na avaliação de rins, baço e fígado de cães (Holdsworth et al., 2014). Os autores relatam que a profundidade dos órgãos avaliados e o peso e sexo dos animais influenciam os valores obtidos.

A elastografia foi utilizada por Peralta et al. (2015) para estudar o amadurecimento da cérvix de ovelhas com parto induzido pela administração de 8mL de dexametasona. Por meio da elastografia *Shear Wave*, avaliaram a consistência do segundo anel cervical e constataram que de quatro a cinco horas após a injeção, houve redução de rigidez. Concluíram que esta tecnologia pode ser utilizada para identificar partos prematuros com antecedência.

Em estudo pioneiro, Silva (2017) avaliou a rigidez de placentônios, pulmões, fígado e rins de fetos ovinos por meio da elastografia Acoustic Radiation Force Impulse (ARFI) a partir da 10ª semana gestacional até o parto. Determinando que, a velocidade de cisalhamento renal e dos placentônios se mantém constantes durante a gestação ($P = 0,076$ e $0,34$, respectivamente) enquanto a mesma velocidade dos pulmões e fígado fetal variaram com relação ao tempo gestacional ($P < 0,001$) e estiveram correlacionadas com a idade gestacional ($R^2 = 0,80$). Entre a 16ª e a 35ª semana, a velocidade de cisalhamento pulmonar decaiu gradativamente enquanto a do fígado aumentou a partir da 14ª semana, com valor máximo registrado na última semana gestacional. Neste estudo, a elastografia ARFI, permitiu identificar os padrões de rigidez e provavelmente pôde estimar o desenvolvimento e maturidade orgânica fetal.

Considerações finais

Os resultados de pesquisas mais antigas acerca do diagnóstico gestacional de ovelhas são similares aos de pesquisas mais recentes, o que permite inferir que se pode obter o diagnóstico gestacional com segurança por volta do 20º dia de gestação, quando se observa acúmulo de líquido no útero e presença de embrião, sendo os batimentos cardíacos observados entre os 20 e 30 dias. Quanto à biometria fetal, apesar de diferenças entre raças e períodos gestacionais avaliados, o diâmetro biparietal, o comprimento crânio caudal, o comprimento do metacarpo e a circunferência abdominal parecem ser as medidas mais aplicáveis à determinação da idade gestacional. A tecnologia Doppler é bastante utilizada em ovelhas, sendo bastante útil no acompanhamento e estudo gestacionais nessa espécie e a elastografia é uma técnica promissora na avaliação do desenvolvimento e maturidade fetal em ovinos, ainda que como modelo experimental.

Agradecimentos

Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) por concessão de bolsa de estudo.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo pela concessão de bolsa de estudo (2014/15422-0).

Referências

- Acharya G, Sitras V, Erkinaro T, Makikallio K, Kavasmaa T, Pakkila M, Huhta JC, Rasanen J. Experimental validation of uterine artery volume blood flow measurement by Doppler ultrasonography in pregnant sheep. *Ultrasound Obstet Gynecol*, v.29, p.401-406, 2007.
- Ali A, Hayder M. Ultrasonographic assessment of embryonic, fetal and placental development in Ossimi sheep. *Small Rum Res* v.73, p.277-278, 2007.
- Amer HA. Ultrasonographic assessment of early pregnancy diagnosis, fetometry and sex determination in goats. *Anim Rep Sci*, v.117, 2009.
- Banerjee J, Klink C, Niessen WJ, Moelker A, Walsum TV. 4D Ultrasound Tracking of Liver and its Verification for TIPS Guidance, *IEEE Trans on Med Imaging*, v.35, p.52-62, 2016.
- Barber FE, Baker DW, Nation AW, Strandness DE, Reid JM. Ultrasonic duplex echo-Doppler scanner. *IEEE Trans on Biomed Eng*, v.21, p.109-113, 1974.
- Barbosa DA. Mortalidade embrionária em ovelhas. 2008. Disponível em: <https://www.milkpoint.com.br/radar-tecnico/ovinos-e-caprinos/mortalidade-mbrionaria-em-ovelhas-45887n.aspx>. Acesso em: 20/09/2017.
- Barr FJ. Pregnancy diagnosis and assessment of fetal viability in the dog: A review. *J. Small Anim Pract*, v.29, p.647-656, 1988.
- Beltrame RT, Covre C, Littig LB, Martins AB, Quirino CR, Bartholazzi junior A, Costa RLD. Transrectal Doppler sonography of uterine blood flow in ewes during pregnancy. *Theriogenology*, v.91, p.55-61, 2017.
- Bragança GM, Balaro MFA, Fonseca JF, Pinto PHN, Rosa RM, Ribeiro LS, Almeida MS, Fabjan JMGS, Garcia AR, Brandao FZ. Doppler ultrasound in the diagnosis of early pregnancy in sheep. *Anim Rep*, v.13, p.587, 2016.
- Brito MBS, Feliciano MAR, Coutinho LN, Simões APR, Maronezi MC, Garcia PHS, Uscategui RR, Almeida VT, Crivelaro RM, Vicente WRR. ARFI Elastography of Healthy Adults Felines Testes, *Acta Scien*

Vet, v.43, 2015.

Buckrell BC. Application of ultrasonography in reproduction in sheep and goats. *Therio*, v.29, p.71-84, 1988.

Elmetwally M, Rhon K, Meinecke-Tillmann S. Doppler Sonography is a useful method to assess the effects of maternal anxiety on intrauterine fetal growth in pregnant sheep and goats. *Qual Prim Care*, v.24, p.137-145, 2016.

Elmetwally M, Bollwein H. Uterine blood flow in sheep and goats during the peri-parturient period assessed by transrectal Doppler sonography. *Anim Rep Sci* v.176, p.32-30, 2016.

Feliciano MAR, Oliveira MEF, Vicente WRR. Ultrassonografia na Reprodução Animal. *MedVet*, 1ª ed, São Paulo, p.4 e 145, 2013.

Figueira LM, Fonseca JF, Arashiro EKN. Colour Doppler Ultrasonography as a Tool to Assess Luteal Function in Santa Inês Ewes. *Reprod Domest Anim*, v.50, p.643-650, 2015.

Franz S, Hofmann-parisot MM, Baumgartner W. Evaluation of three-dimensional ultrasonography of the bovine mammary gland. *Am J Vet Res* v.65, p.1159-1163, 2004.

Ganie BA, Khan MZ, Islam R, Makhdoomi DM, Qureshi S, Wani GM. Evaluation of different techniques for pregnancy diagnosis in sheep. *Small Rumin Res*, v.85, 2009.

Garcia A, Neary MK, Kelly GR, Pierson RA. Accuracy of ultrasonography in early pregnancy diagnosis in the ewe. *Therio*, v.39, p.847-861, 1993.

Garra BS. Elastography: history, principles, and technique comparison. *Abdom Imaging*, v.40, p.680-697, 2015.

Gouletsou PG. Ultrasonographic examination of the scrotal contents in rams. *Small Rumin Res*, v.152, p.100-106, 2016.

Greenwood PL, Slepatis RM, McPhee MJ, Bell AW. Prediction of stage of pregnancy in prolific sheep using ultrasound measurement of fetal bones. *Reprod Fertil Dev*, v.14, p.7-13, 2002.

Hofmann D, Holländer HJ, Weiser P. Neue Möglichkeiten der Ultraschall Diagnostik in der Gynäkologie und Geburtshilfe. *Fortschr Med*, v.84, n.689, 1966.

Holdsworth A, Bradley K, Birch S, Browne WJ, Barberet V. Elastography of the normal canine liver, spleen and kidneys. *Vet Radiol Ultrasound*, v.55, p.620-627, 2014.

Jones AK, Gately RE, McFadden, KK, Zinn SA, Govoni KE, Reed SA. Transabdominal ultrasound for detection of pregnancy, fetal and placental landmarks, and fetal age before Day 45 of gestation in the sheep. *Therio*, v.85, p.939-945, 2016.

Karen A, Szabados K, Reiczigel J, Beckers JF, Szenci O. Accuracy of transrectal ultrasonography for determination of pregnancy in sheep: effect of fasting and handling of the animals. *Theriogenology*, v.61, p.1291-1298, 2004.

Kawakama J, Kodaira S, Cerri GG. Física. In: CERRI, G.G., ROCHA, D.C. Ultra-sonografia abdominal, São Paulo: Sarvier, p.1-14, 1993.

Medan M, Watanabe G, Absy G, Sasaki K, Sharawy S, Taya K. Early pregnancy diagnosis by means of ultrasonography as a method of improving reproductive efficiency in goats. *Reprod Fertil Dev*, v.50, n.4, 2004.

Metodiev N, Dimov I, Ralchev I, Raicheva E. Measurements of foetal growth via transabdominal ultrasonography during first half of pregnancy at ewes from synthetic population Bulgarian milk. *Bulg J Agri Sci*, v.18, n.4, 2012.

Moraes EPBX, Santos MHB, Aguiar filho CR, Neves JP, Oliveira MAL, Lima PF. Avaliação ultra-sonográfica do desenvolvimento embrionário-fetal de ovinos da raça Santa Inês. *Ciê Anim Bras*, v.9, p.148-155, 2008.

Peralta L, Mourier E, Richard C, Charpigny G, Larcher T, Aït-belkacem D, Balla NK, Brasselet S, Tanter M, Muller M, Chavatte-palmer P. In Vivo Evaluation of Cervical Stiffness Evolution during Induced Ripening Using Shear Wave Elastography, Histology and 2Photon Excitation Microscopy: Insight from an Animal Model. *PLoS ONE*, v.10, n.8, 2015.

Restall BJ, Milton JTB, Klonyutti P, Kochapakdee S. Pregnancy diagnosis in Thai native goats. *Theriogenology*, v.34, p.313-317, 1990.

Santos VJC, Simplicio K, Sanchez D, Coutinho L, Teixeira P, Barros, F, Almeida V, Rodrigues L, Bartlewski P, Oliveira M, Feliciano M, Vicente W. B-Mode and Doppler sonography of the mammary glands in dairy goats for mastitis diagnosis. *Rep Dom Anim*, v.50, p.251-255, 2015.

Silva PA. Ultrassonografia modo b e elastografia acoustic radiation force impulse (arfi) de tecidos materno fetais durante a gestação em ovinos. Dissertação. Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP. fev/2017.

Simões J. Os princípios físicos, a imagem e os artefatos na ecografia em modo B. 2008. Disponível em http://www.veterinaria.com.pt/media/dir_27001/VCP1-1-e22.pdf. ISSN 1647-3019. Acesso em: 01 de junho de 2017.

Smith J, Ferguson D, Jauregui G, Panarace M, Medina M, Lehnert S, Hill JR. Short-term maternal psychological stress in the postconception period in ewes affects fetal growth and gestation length. *Reproduction* v.136, p.259-265, 2008.

Stock, E, Vanderperren K, Haers H, Duchateau L, Hesta M, Saunders JH. Quantitative differences between the first and second injection of contrast agent in contrast-enhanced ultrasonography of feline kidneys and spleen. *Ultrasound Med Biol*, v.43, 2017.

Wilkins JF. Detection of pregnancy and embryos in ewes before day 30 using ultrasound imaging. *Proc Aust Soc Anim Prod*, v.17, 1986.