

Diagnóstico de gestação em cadelas

Pregnancy diagnosis in bitches

Jerlan G. Freitas, Alexandre R. Silva¹

Departamento de Ciências Animais, Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA), Mossoró, RN, Brasil

¹Correspondência: legio2000@yahoo.com

Resumo

O diagnóstico de gestação em cadelas contribui para aumentar a eficiência reprodutiva desses animais, possibilitando o planejamento de uma dieta alimentar adequada para as fêmeas gestantes e a definição de uma estratégia sanitária eficiente. Além disso, dependendo da técnica de diagnóstico utilizada, possibilita identificar uma gestação precocemente, avaliar a viabilidade fetal, o número de fetos em uma ninhada e, adicionalmente, permite uma estimativa bastante aproximada da idade fetal pela avaliação de suas dimensões e a avaliação do sistema genital da fêmea. O presente trabalho revisa os métodos disponíveis mais frequentemente utilizados para o diagnóstico de gestação na espécie canina, como a palpação abdominal, a auscultação, a ultra-sonografia, a radiografia e a observação de sinais externos e comportamentais, assim como métodos experimentais ou em desenvolvimento, como a laparoscopia e as provas sorológicas.

Palavras-chave: ultra-sonografia, laparoscopia, testes sorológicos, gestação, cadela.

Abstract

Pregnancy diagnosis in bitches contributes to increase the reproductive efficiency making possible the planning of an appropriate alimentary diet for pregnant females and the definition of an efficient sanitary strategy. Besides, depending on the pregnancy diagnostic procedure utilized it is possible to precociously identify a gestation, to evaluate fetal viability, the number of fetuses and, additionally, it allows the estimation of the fetal age based on fetal measurements and the evaluation of the genital system of the female. The present review aimed in discussing nowadays methods of pregnancy diagnosis in the canine species, as the abdominal palpation, the auscultation, the ultrasound scan, the x-ray and the observation of external and behavior signs. Experimental or developing methods, as the laparoscopy and serologic tests will also be approached.

Keywords: ultrasonography, laparoscopy, serologic tests, pregnancy, canine.

Introdução

O manejo adequado da cadela gestante deve ser realizado em uma fase inicial para assegurar o curso normal da gestação. Os procedimentos de diagnóstico de gestação em cadelas contribuem para aumentar a eficiência reprodutiva desses animais, possibilitando o planejamento de uma dieta alimentar adequada para as fêmeas gestantes e a definição de uma estratégia sanitária eficiente. Além disso, esses procedimentos possibilitam identificar uma possível gestação precocemente, informar sobre a viabilidade fetal, o número de fetos em uma ninhada e, adicionalmente, permite uma estimativa bastante aproximada da idade fetal pelas dimensões fetais e a avaliação do sistema genital da fêmea (Jackson, 2005).

O diagnóstico precoce da gestação é valioso para os proprietários de cadelas de alto valor zootécnico, pois permite modificações apropriadas no calendário de trabalho ou de exposições e a interrupção da gestação em caso de acasalamentos acidentais (Kustritz, 2005). Além disso, a duração da gestação é altamente variável na espécie canina, quando mensurada a partir da data do acasalamento, sendo descrita uma variação entre 59 e 72 dias (Verstegen *et al.*, 1996). A previsão da data do parto pode ser muito inexata quando determinada a partir desse referencial. Assim, a habilidade para predizer exatamente a duração da gestação é de importância prática para administrar o parto ou planejar uma possível cesariana (Luvoni e Beccaglia, 2006).

A escolha de um método diagnóstico depende de vários fatores, como estágio da gestação, custo da operação, equipamentos e mão-de-obra especializada, eficiência e rapidez do diagnóstico. Cada método possui um período mais ou menos limitado de uso, e a maioria aumenta sua precisão com a progressão da gestação. Em cadelas, não é possível a realização da palpação retal, objetivando o diagnóstico da gestação, como é realizado na égua e na vaca. Além disso, o longo intervalo entre os estros, nessa espécie, não permite a utilização da observação do não retorno ao cio como sugestivo de gestação.

Vários métodos de diagnóstico de gestação têm sido preconizados para o uso em cadelas, todavia a grande maioria deles depende de mão-de-obra qualificada, como na execução de palpação abdominal, e no uso de equipamentos sofisticados e, por conseqüência, de elevado custo, como: radiografia, ultra-sonografia, laparoscopia e provas sorológicas.

Na presente revisão, serão abordados os métodos disponíveis mais freqüentemente utilizados para o diagnóstico de gestação na espécie canina, assim como os métodos utilizados experimentalmente ou em desenvolvimento.

Alterações comportamentais e sinais externos da gestação

O exame de uma fêmea gestante permite a constatação de diversos sinais externos, como desenvolvimento das glândulas mamárias, dilatação do abdômen, aparecimento de depósitos de gordura no abdômen e alterações no comportamento (Verstegen *et al.*, 1996). A precocidade no diagnóstico correto da gestação é de grande importância, visto que os sinais externos devem ser diferenciados de uma lactação nervosa e da presença de doenças como a piometra ou os tumores abdominais (Rachail, 1980).

O consumo alimentar aumenta em torno de 50% na segunda metade da gestação, mas algumas cadelas podem apresentar breves períodos de apetite reduzido aproximadamente entre a terceira e a quarta semana após o acasalamento (England, 1998). Um notável ganho de peso entre 20 a 55%, com média $36,2 \pm 1,7\%$, é observado gradativamente no decorrer da gestação. Porém, vale salientar que algumas cadelas em diestro não gestacional apresentam uma redução de atividades e costumam também manifestar ganho de peso (Verstegen *et al.*, 1996).

O desenvolvimento mamário começa a aparecer por volta do 35º dia de gestação. No entanto, mesmo cadelas não-gestantes podem apresentar essa alteração, bem como algumas fêmeas gestantes apenas irão manifestar o desenvolvimento mamário imediatamente próximo ao parto (Verstegen *et al.*, 1996). Tanto as cadelas gestantes, como as não-gestantes podem exibir mudanças comportamentais típicas de uma gestação. Esse comportamento está geralmente associado a uma elevação da concentração de prolactina e não ocorre especificamente durante a gestação (England, 1998).

Palpação abdominal

O método mais tradicional para o diagnóstico de gestação em cadelas é a palpação do abdômen, a qual é incluída em qualquer exame físico rotineiro em cães. Esse procedimento permite que um examinador experiente avalie modificações morfológicas das estruturas presentes no abdômen. O animal a ser examinado é submetido a um jejum alimentar de seis a oito horas, ficando o mesmo em repouso e, dependendo do tamanho deste, será utilizada uma ou as duas mãos para a palpação dos órgãos abdominais (Concannon e Yeager, 1990).

O útero não gravídico pode ser difícil de ser identificado por meio da palpação abdominal. Segundo Carvalho (2004), com a gestação, o útero aumenta e pode ser palpado mais facilmente. No início, é possível a detecção de um aumento inespecífico dos cornos uterinos, entretanto, quando a tensão muscular é considerável ou quando a ninhada é pequena, a margem de erro nesse procedimento aumenta. Tomando-se por base o momento da ovulação, as vesículas embrionárias já podem ser palpadas após 20 dias como estruturas esféricas de cerca de 1 cm de diâmetro, normalmente espaçadas de maneira uniforme dentro do útero. Elas são mais facilmente identificadas em animais que não têm excesso de peso. Após o trigésimo quarto dia da ocorrência da ovulação, as vesículas não serão mais identificáveis como estruturas esféricas individualizáveis (Carvalho, 2004).

No segundo terço da gestação, a palpação abdominal apresenta uma taxa de precisão de 87-88% para diagnóstico positivo e de 73% para o diagnóstico negativo. Os veterinários têm maior tendência a equivocar-se com um falso-positivo. No que diz respeito à avaliação do tamanho da ninhada, a palpação abdominal apresenta apenas 12% de segurança (Kustritz, 2005). Segundo England (1998), a execução da palpação abdominal pode ser dificultada em cadelas obesas ou nervosas. Este mesmo autor afirma que o procedimento deva ser realizado por volta do 30º dia de gestação, com uma acurácia próxima a 90%.

Auscultação

A detecção dos batimentos cardíacos fetais, utilizando-se um estetoscópio, apresenta-se como um método diagnóstico de gestação (England, 1998). A freqüência dos batimentos cardíacos fetais geralmente é o dobro da freqüência encontrada na mãe, o que facilita a sua identificação. Segundo Rachail (1980), os fetos apresentam uma freqüência entre 180 a 240 batimentos por minuto. Considerando que os batimentos fetais são detectados apenas durante os quinze dias finais da gestação, a auscultação é um método de diagnóstico tardio (Verstegen *et al.*, 1996).

Radiografia

Para o diagnóstico de gestação ser conclusivo pelo uso de radiografias, é necessário que a cadela seja submetida previamente a um jejum alimentar de seis a oito horas e o exame não pode ocorrer antes da mineralização do esqueleto dos fetos. De acordo com Kustritz (2005), o perigo da radiação ionizante aos fetos é proporcional à dose recebida e à sua idade gestacional. Os fetos são muito sensíveis aos efeitos prejudiciais da

radiação ionizante durante a organogênese, que acontece durante o primeiro terço da gestação.

O terço final da gestação é o período mais apropriado para a execução de radiografias com o propósito de diagnóstico de gestação em cadelas, considerando a redução de riscos para o feto. Nesse período, o método da radiografia para o diagnóstico de gestação apresenta uma precisão de 100% (Wanke e Gobello, 2006). A radiografia não é um indicador tão preciso de viabilidade fetal como é a ultra-sonografia. Entretanto, se os fetos estiverem mortos por 24 horas ou mais, sinais de morte fetal como a presença de gases dentro ou ao redor do feto, colapso do esqueleto axial ou sobreposição de ossos cranianos podem ser evidentes (Kustritz, 2005).

Devido às características do estro da cadela, esta pode ser acasalada durante um período de tempo relativamente variável em relação aos dias de ocorrência de ovulação, por isso, o primeiro aparecimento de mineralização óssea fetal pode variar entre os dias 43° a 54° posteriores ao acasalamento. A mineralização é evidente mais cedo em projeção laterolateral que em projeções ventrodorsais (Wanke e Gobello, 2006).

De acordo com Concannon e Yeager (1990), antes de 40 dias, o útero aumentado pode ser visível na radiografia, mas pode ser confundido com os intestinos circunvizinhos. O conteúdo do útero gestante pode ser difícil de ser distinguido de um útero não gestante anormal, antes que se desenvolvam os esqueletos fetais. À medida que a prenhez se aproxima do fim, o número de fetos pode ser determinado radiograficamente por meio da contagem dos crânios fetais. Avaliações radiográficas tardias determinarão, além do diagnóstico da gestação, o estágio de desenvolvimento fetal e a necessidade de execução de uma cesariana. Depois de 42 dias de gestação, os crânios fetais e as colunas dorsais são visíveis na radiografia. Com o avanço da prenhez, os ossos dos membros dianteiros ficam visíveis, seguidos pelos ossos dos membros traseiros, a pélvis e as costelas. Finalmente, os dentes fetais ficam visíveis ao redor de 56° a 61° após a ocorrência das ovulações.

As radiografias obtidas no terço final da gestação representam a modalidade mais precisa para avaliação do número de fetos, com uma precisão de 93%. O grau de mineralização fetal pode ser usado para avaliar idade gestacional e prever a data do parto. Caso os dentes fetais sejam visíveis na radiografia em projeção lateral, por exemplo, o parto deveria iniciar-se dentro de quatro dias, em média (Wanke e Gobello, 2006).

Ultra-sonografia

A ultra-sonografia é uma modalidade segura e precisa para o diagnóstico de gestação que não apresenta efeitos secundários nocivos, visto que as ondas acústicas são consideradas inócuas para a fêmea, o feto e o operador (Papp e Fekete, 2003). O exame ultra-sonográfico pré-natal é uma importante ferramenta para o médico veterinário, que pode avaliar de forma sistemática todas as fases da gestação, monitorando o crescimento fetal por meio da sua biometria anatômica e buscando a relação do tamanho e do peso intra-uterino com o peso real ao nascimento. Os mais importantes parâmetros medidos são os diâmetros biparietal, o torácico, a relação entre ambos e o comprimento céfalococcígeo (Teixeira, 2002). Além disso, é uma valiosa ferramenta na avaliação de pequenos aumentos uterinos, pois possibilita a diferenciação entre alterações patológicas e quadros gestacionais (Gonzalez *et al.*, 2003).

A ultra-sonografia em Modo A, ou ultra-som de amplitude profunda, bem como o Modo Doppler, não são utilizados rotineiramente para o diagnóstico de gestação em cadelas (Carvalho, 2004; Kustritz, 2005). Por outro lado, o Modo-B, ou ultra-som em tempo real, é uma técnica de diagnóstico por imagens não invasiva, não ionizante, segura, e que permite o diagnóstico da gestação, a contagem do número de embriões ou fetos e a observação direta da atividade do coração e dos movimentos embrionários ou fetais, possibilitando a avaliação da viabilidade embrionária ou fetal e a investigação do útero e estruturas abdominais extra-reprodutivas (Cruz *et al.*, 2003). Para a maioria das cadelas, podem ser obtidas imagens diagnósticas com um transdutor de 5,0 MHz, mas as cadelas de raças muito pequenas podem requerer um transdutor de 7,5 MHz (Wanke e Gobello, 2006).

Esse método apresenta uma segurança de 94-98% para a confirmação da gestação quando utilizado entre os 24-25 dias, mas após os 28 dias do último acasalamento, a confiabilidade se eleva para 99% (Kustritz, 2005). É importante salientar que a gestação não começa necessariamente no dia do acasalamento e que os eventos devem ser relacionados ao período de proestro ou ao período de ovulação. Na cadela, uma prenhez pode ser o resultado de um acasalamento realizado cinco dias antes do período ovulatório ou cinco dias depois deste (England *et al.*, 2003).

Para proceder-se ao exame ultra-sonográfico e facilitar a visualização das imagens, o animal deve ser submetido, previamente, ao jejum alimentar de seis horas (Jarreta, 2004). É recomendado que os animais não urinem antes do procedimento, permitindo que o operador localize a bexiga como um ponto de referência abdominal caudal (Wanke e Gobello, 2006).

Uma das primeiras características mostradas pela ultra-sonografia é o espessamento uterino, possível de ser detectado já aos sete dias de gestação (England e Allen, 1990). Porém, segundo Nyland e Mattoon (2005), esse aspecto é decorrente da ação hormonal do ciclo estral que pode levar a um aumento fisiológico do útero, totalmente inespecífico. Desse modo, recomenda-se a reavaliação para evitar falso diagnóstico, visto que o útero grávidico e não grávidico são indistinguíveis antes da visualização das vesículas gestacionais.

O diagnóstico definitivo de gestação é empreendido pela visualização da vesícula gestacional, por volta dos 19 dias de gestação, que se caracteriza por uma bolsa anecóica esférica (Teixeira, 2002). A vesícula possui,

em média, quando inicialmente detectada, 2 mm de diâmetro (England *et al.*, 2003) e cresce cerca de 1 mm por dia do 17º ao 30º dia (Kutzler *et al.*, 2003). England e Allen (1990) afirmam que nesse estágio o número fetal pode ser subestimado porque algumas vesículas gestacionais podem estar sobrepostas.

Enquanto a detecção da vesícula gestacional constitui diagnóstico para gestação, a visualização da atividade cardíaca e a movimentação dos embriões e fetos são um indicativo de sua viabilidade (Nyland e Mattoon, 2005). A atividade cardíaca do embrião canino pode ser observada por volta dos 24-25 dias, e a atividade motora aos 28 dias depois do acasalamento (Cruz *et al.*, 2003). O tempo de detecção inicial dos batimentos cardíacos depende do equipamento e da experiência do examinador. No entanto, eles nunca são detectáveis antes do 23º dia de gestação (Concannon *et al.*, 1990).

O coração do embrião apresenta-se com uma pequena formação regularmente pulsante (Serra e Guimarães, 1996). A média da frequência dos batimentos cardíacos é de 230 batimentos/min, com cerca de 214 batimentos/min aos 24-25 dias, e de 238 batimentos/min por volta de 40 dias. Normalmente, há redução desses valores quando o momento do parto se aproxima (Carvalho, 2004). A movimentação fetal é observada cerca de 10 dias mais tarde que a detecção dos batimentos cardíacos fetais (Nyland e Mattoon, 2005).

Leite (2003) registrou o acompanhamento ultra-sonográfico seriado, permitindo a observação detalhada da cronologia dos eventos gestacionais para a raça Yorkshire Terrier, destacando o surgimento de cada parâmetro ou estrutura evidente a cada avaliação (Tab. 1).

Tabela 1. Cronologia dos eventos gestacionais na raça Yorkshire Terrier avaliados ultra-sonograficamente, utilizando-se os transdutores linear de 7,5 MHz e microconvexo de 5,0 MHz, acoplados a um aparelho Pet Scop 20 (Tokimec®, Japão).

Estrutura/ parâmetro observado	Visível a partir de	Até
Líquido anecóico	20 dias	60 dias (-)
Sacos gestacionais	20 dias	35 dias
Embrião em forma de ponto	20 dias	30 dias
Atividade cardíaca	25 dias	60 dias (+)
Região cardíaca	25 dias	60 dias (+)
Ligamento em forma de "U"	25 dias	35 dias
Embrião bipolar	30 dias	-
Órbitas oculares	30 dias	60 dias (+)
Placenta	30 dias	45 dias
Membros torácicos	30 dias	60 dias (+)
Movimento do concepto	30 dias	45 dias (+), 60 (-)
Definição de cabeça, tronco e membros	35 dias	60 dias
Cordão umbilical	35 dias	45 dias
Contorno craniano	35 dias	60 dias (+)
Bexiga e estômago	35 dias	60 dias
Membros pélvicos	35 dias	60 dias (+)
Ventrículos cerebrais	40 dias	60 dias (+)
Costelas em forma de contas	40 dias	60 dias (+)
Septos cardíacos	40 dias	60 dias (+)
Segmento da aorta torácica	40 dias	60 dias (+)
Região hepática	40 dias	60 dias (+)
Região pulmonar	40 dias	60 dias (+)
Coluna vertebral	40 dias	60 dias (+)
Sombra acústica	45 dias	60 dias (+)
Bifurcação da aorta	45 dias	60 dias
Região cervical alongada	45 dias	60 dias
Diferenciação entre tórax e abdômen	45 dias	60 dias (+)
Contorno renal	50 dias	60 dias (+)
Contorno de alças intestinais	50 dias	60 dias (+)
Definição da arquitetura renal	55 dias	60 dias (+)
Definição das camadas das alças intestinais	60 dias	60 dias (+)

Fonte: Leite, 2003.

(+) aumento gradativo de volume, definição ou intensidade até o referido período.

(-) diminuição gradativa de volume, definição ou intensidade até o referido período.

Segundo Konde (1988), a observação de anatomia fetal mal definida com ecodensidade amorfa, distorção do saco gestacional e presença de material hiperecótico dentro do útero é indicativa de morte fetal. A presença de gás dentro do estômago do feto é também sugerida como indicativo de morte fetal (Cruz *et al.*, 2003).

A ultra-sonografia não é um método de eleição para avaliar o tamanho da ninhada. A visão restrita da janela criada pelo transdutor e a natureza tortuosa dos cornos uterinos caninos impedem uma avaliação contínua dos cornos individualmente. Para avaliação do número de fetos, a ultra-sonografia apresenta um valor preditivo de 31,8 - 36,0%, com uma superestimação em pequenas ninhadas e subestimação em grandes ninhadas. Maior segurança pode ser obtida em ninhadas de até cinco fetos (Wanke e Gobello, 2006). Um bom período para uma tentativa de estimar o número de fetos seria entre o 25º ao 30º dia (Fritsch e Gerwing, 1996). Caso haja a necessidade de confirmação do número exato dos conceptos, recomenda-se um exame radiográfico por volta dos 45 a 50 dias de gestação, período em que ocorre a completa mineralização do esqueleto fetal (Nyland e Mattoon, 2005).

A determinação precisa da idade gestacional por ultra-sonografia transabdominal em cadelas é muito importante quando se quer planejar uma cesariana eletiva, tendo a segurança de que a formação fetal está realmente concluída (Kutzler *et al.*, 2003). Vários estudos foram realizados na tentativa de se estimar a idade gestacional e/ou a data provável do parto a partir das mensurações obtidas, principalmente do diâmetro da vesícula gestacional, do diâmetro biparietal, torácico e abdominal. Diferente do que acontece na espécie humana, existem muitas raças de cães, com tamanhos e conformação anatômica diversos, além da grande variação do tamanho da ninhada; fatores que dificultam a estimativa desejada (Carvalho, 2004).

Nyland e Mattoon (2005) descrevem uma equação para determinar a idade fetal, por meio da mensuração dos diâmetros parietal e abdominal, usada após o 40º dia de gestação. A equação é representada pela seguinte fórmula: [idade gestacional = (6 x diâmetro biparietal) + (3 x diâmetro abdominal) + 30], com variação de três dias para mais ou para menos.

Luvoni e Gironi (2000) estimaram a idade gestacional por ultra-sonografia, em termos de dias para o parto, em cadelas de pequeno e médio porte de diferentes raças. Segundo estes autores, a determinação da idade gestacional pode ser realizada com razoável precisão, baseada principalmente nas medidas do diâmetro dos sacos gestacionais na fase embrionária e do diâmetro biparietal na fase fetal. Correa *et al.* (2001) relataram que o diâmetro dos sacos gestacionais e o diâmetro biparietal são os mais precisos indicadores da idade gestacional nas fases embrionária e fetal, respectivamente.

De acordo com Kutzler *et al.* (2003), em um estudo das medidas fetais obtidas por meio de ultra-sonografia transabdominal, a predição mais exata da data de parto foi obtida quando os fetos foram medidos aos 30 dias depois da onda pré-ovulatória de hormônio luteinizante (LH), independentemente do peso corporal ou do tamanho da ninhada. As predições de data do parto feitas após os 39 dias de gestação usando somente as medidas do diâmetro biparietal e o diâmetro do corpo do feto apresentaram uma precisão inferior a 50%. Segundo Sanchez e Ferri (2002), o exame ultra-sonográfico para a estimativa do tempo gestacional pode ser realizado em qualquer período da gestação, mas é impreciso, pois pode subestimar ou superestimar o momento do parto.

Laparoscopia

A laparoscopia é um método diagnóstico aparentemente inócua à manutenção da gestação, e tem sido descrito como uma alternativa para os pequenos ruminantes (Neves *et al.*, 2004). Segundo Verstegen *et al.* (1996), em cadelas, a laparoscopia permite a visualização de dilatações pré-ampolares nos cornos uterinos associadas a regiões de congestão hiperêmica do miométrio e hipertrofias vasculares ao 12º dia de gestação após a onda de LH. Aos 18 dias, as dilatações uterinas contendo as vesículas características da gestação tornam-se aparentes, sendo visualizadas inclusive por meio da ultra-sonografia. Tal qual em outras espécies, nenhum efeito negativo é causado pelas sucessivas anestésias, e as cadelas são capazes de continuar o curso normal de sua gestação. Entretanto, o procedimento laparoscópico com o intuito de diagnóstico gestacional tem aplicação limitada, sendo restrito, principalmente, a estudos experimentais.

Provas sorológicas

As provas sorológicas podem diagnosticar a gestação mais precocemente que as técnicas de imagem, mas não contribuem com informações sobre o número de fetos nem de sua viabilidade. Essas provas são úteis em cadelas aparentemente normais, quando o ultra-som não está disponível ou tem um custo inacessível (Wanke e Gobello, 2006).

Alterações metabólicas

Cadelas prenhes apresentam uma diminuição da concentração de creatinina sérica e de imunoglobulinas G (IgG) aos 21 dias posteriores ao acasalamento, o que não ocorre em grupos controles não gestantes. A creatinina sérica diminui de 25-33%, e a IgG sérica diminui de 40-45% nas cadelas gestantes (Fisher e Fisher,

1981). A sobreposição de valores absolutos entre os dois grupos impede o uso dessas avaliações como provas de rotina para o diagnóstico de gestação canina (Kuniyuki e Hughes, 1992).

A redução da atividade de antitrombina III foi descrita por ocorrer em cadelas gestantes, quando comparadas a cadelas não gestantes, aos 30 dias de diestro. Nenhuma diferença quanto à protrombina ou a tromboplastina foi identificada entre esses dois estádios reprodutivos (Gunzel-Apel *et al.*, 1997).

As cadelas prenhes exibem uma anemia normocítica normocrômica, que começa no dia 25-30 da gestação e é máxima ao término, havendo descrição de hematócrito de 29-35%, devendo-se avaliar a condição física e clínica do animal, a fim de se evitar equivocar-se com um falso-positivo (Concannon, 1997). A utilidade dessa mudança metabólica como um teste para a gestação não foi ainda estudada (Kustritz, 2005).

Dosagens hormonais

As cadelas não produzem gonadotrofinas específicas da gestação, como a gonadotrofina coriônica humana (hCG) e a gonadotrofina coriônica eqüina (eCG).

Em todas as cadelas, a concentração sérica de progesterona permanece alta no diestro, independente de terem sido ou não acasaladas. Esta fase lútea prolongada nos cães impede o uso da mensuração de progesterona sérica para o diagnóstico da gestação (Johnston *et al.*, 2001). Embora alguns estudos documentem concentrações séricas de progesterona mais altas na fase inicial da gestação, quando comparadas a cadelas não prenhes, bem como diferenças no padrão de secreção de progesterona, quando se comparam fêmeas férteis e estéreis, a maioria dos autores descreve uma ausência de diferenças significativas entre as cadelas gestantes e não-gestantes. Além disso, existe uma sobreposição dos valores absolutos entre os grupos, razão que torna impossível a interpretação dos resultados (Kustritz, 2005). Entretanto, Gudermuth *et al.* (1998) demonstraram que é possível detectar um aumento na produção ovariana de hormônios esteróides durante a gestação, como a progesterona, estradiol e testosterona, evidenciadas pela detecção de seus metabólitos nas fezes. Esses aumentos sugerem que o corpo lúteo (CL) de cadelas em gestação sintetiza e segrega maior quantidade desses esteróides que em cadelas não-gestantes. Possivelmente, tais diferenças não são evidenciadas por meio das concentrações sanguíneas devido ao aumento da hemodiluição e do metabolismo hepático desses hormônios nas cadelas gestantes.

As concentrações de estradiol-17 β em cadelas gestantes apresentam um aumento de $11,01 \pm 7,16$ pg/ml por volta da sétima semana de gestação, sugerindo a função do estrógeno em sensibilizar o endométrio anterior à ação da ocitocina ao parto (Vannucchi *et al.*, 2002). Além disso, sabe-se que a concentração total de estrógeno na urina aumenta em 21 dias após o acasalamento nas cadelas gestantes, em comparação com cadelas não-gestantes. Maiores estudos acerca da detecção do estrógeno urinário nas cadelas gestantes poderão resultar no desenvolvimento de um teste comercial que possibilite a determinação da gestação canina no consultório do veterinário ou na casa dos proprietários (Johnston *et al.*, 2001).

A relaxina é um hormônio produzido principalmente pela placenta canina e, conseqüentemente, é a substância mais próxima de um hormônio específico da gestação. Essa substância não é identificada no soro sanguíneo durante o ciclo estral normal, na pseudogestação ou em cadelas submetidas à histerectomia. Já na fêmea gestante, tanto a placenta quanto os ovários secretam relaxina, sendo que a contribuição da placenta é proporcionalmente maior na obtenção do nível sérico total. A relaxina imunorreativa é detectada inicialmente no soro a partir do 18º dia de gestação, alcançando o nível máximo por volta da sexta e oitava semanas. No parto ou logo antes do aborto espontâneo, a relaxina sérica diminui para níveis indeterminados, demonstrando que a mesma atua como um indicador potencialmente útil para monitorar o início do parto nessa espécie (Klonisch *et al.*, 1999). Entretanto, esse aumento de relaxina não se correlaciona com o tamanho da ninhada ou com o peso corporal da cadela (Einspanier *et al.*, 2002). Nos Estados Unidos, é possível a aquisição no comércio de um teste para mensuração da concentração de relaxina que permite a diferenciação entre cadelas gestantes e não-gestantes. O seu uso é indicado para o 24º dia após o acasalamento (Witness™, Synbiotics Corporation, San Diego, CA, USA). Qualquer resultado negativo deve ser reavaliado depois de uma semana. Podem também ocorrer falsos-positivos se a prova for realizada pouco tempo após a perda da gestação. Esse teste não pode ser usado para calcular tamanho da ninhada e nem é sensível o bastante para reconhecer estresse fetal ou perda de gestação (Wanke e Gobello, 2006).

Nas cadelas não-gestantes, ocorre uma elevação dos níveis séricos de prolactina na metade do diestro. Porém, uma elevação significativamente maior desse hormônio ocorre em cadelas gestantes a partir da segunda metade da gestação, sendo esta considerada um hormônio luteotrófico a partir desse período (Jochle, 1997). O pico da prolactina ocorre no parto seguido por um declínio abrupto por dois dias e novo aumento, quando a lactação é estabelecida (Onclin e Verstegen, 1997). Apesar dessa diferença entre fêmeas gestantes e não-gestantes, atualmente não existem testes comerciais disponíveis para a mensuração da prolactina sérica como meio diagnóstico da gestação.

Dosagem de proteínas de fase aguda

A análise das proteínas de fase aguda como um método para diagnóstico de gestação foi proposta

inicialmente por Kuniyuki e Hughes (1992), e a sua eficácia foi confirmada por vários investigadores (Evans e Anderton, 1992; Eckersall *et al.*, 1993; Concannon *et al.*, 1996). Essa análise pode ser uma alternativa para veterinários com dificuldades de proceder à palpação abdominal ou quando o ultra-som de boa resolução e equipamento de radiografia não estão disponíveis. Além disso, esse método pode ser usado como uma ferramenta para diagnóstico de morte fetal e reabsorção (Vannucchi *et al.*, 2002).

Mudanças nas concentrações sorológicas de várias proteínas de fase aguda, incluindo a proteína C-reativa (CRP), glicoproteína ácida, fibrinogênio, heptoglobina, ceruloplasmina, seromucóide e alfa-globulina foram descritas durante a gestação de cadelas (Vannucchi *et al.*, 2002; Kuribayashi *et al.*, 2003a, b). Essas substâncias apresentam as vantagens de não serem suscetíveis a estímulos transitórios externos, como excitação e tensão (Solter *et al.*, 1991).

A proteína C-reativa atinge concentrações máximas na metade da gestação e eleva-se significativamente em 78% das cadelas gestantes. Kuribayashi *et al.* (2003a) estudaram as concentrações fisiológicas de proteína C-reativa em cães Beagles saudáveis de diferentes idades e em cadelas gestantes. As concentrações séricas da proteína C-reativa foram de $7,9 \pm 3,4$ $\mu\text{g/ml}$ no macho, $8,3 \pm 4,0$ $\mu\text{g/ml}$ nas fêmeas não-gestantes e de $77,5 \pm 7,1$ $\mu\text{g/ml}$ aos 30 ou 45 dias depois de ovulação nas cadelas gestantes.

Ensaio para a mensuração do fibrinogênio como um método diagnóstico de gestação têm mostrado uma acurácia em torno de 98% (Johnston *et al.*, 2001). A gestação pode, então, ser diagnosticada a partir da quinta semana com concentrações de fibrinogênio maiores que 300 ± 129 mg/dl (Vannucchi *et al.*, 2002). O pico de fibrinogênio na quinta semana e durante o parto também foi descrito por Gentry e Liptrap (1981, 1988).

Apenas nas cadelas gestantes, verifica-se um aumento significativo nos níveis de heptoglobina sérica, a qual atinge valores acima de 112,42 mg/dl entre a terceira e a quarta semana de gestação (Vannucchi *et al.*, 2002). Analisando a concentração de alfa-globulina, a gestação pode ser diagnosticada no 21º dia posterior ao pico de LH, quando as concentrações devem estar acima de $0,61 \pm 0,16$ g/dl . De acordo com Harvey e West (1987), o aumento na concentração de alfa-globulina em cadelas está em grande parte associado ao aumento de heptoglobina.

Durante a segunda semana de gestação, verifica-se um aumento significativo da ordem de 100% de ceruloplasmina exclusivamente em cadelas gestantes, quando comparadas a cadelas não-gestantes. Esse pico poderia ser o resultado da invasão embrionária no endométrio (Vannucchi *et al.*, 2002). Durante a semana preparatória prévia ao parto, ocorre um aumento na concentração de ceruloplasmina mais uma vez, indicando readaptação orgânica ao parto (Jain, 1986; Eckersall e Conner, 1988; Gruys *et al.*, 1994).

A proteína seromucóide é extensamente usada em medicina humana para monitorar terapias de neoplasia, embora também sejam atingidas concentrações altas em processos inflamatórios ou infecciosos (Conner *et al.*, 1988; Sevelius e Andersson, 1995). Vannucchi *et al.* (2002) demonstraram que as concentrações dessa proteína aumentam significativamente na metade da gestação de cadelas, não sendo, assim, uma variável satisfatória para o diagnóstico precoce da gestação.

As glicoproteínas representam a totalidade de proteínas de fase aguda produzidas pelo fígado (Jain, 1986; Conner *et al.*, 1988; Eckersall e Conner, 1988). Segundo Vannucchi *et al.* (2002), a concentração de glicoproteínas diferiu significativamente entre cadelas gestantes e não-gestantes no 21º dia após o pico de LH. Essas concentrações aumentaram gradualmente em cadelas gestantes, alcançando o pico (1,2 vezes o valor inicial) durante a sexta semana de gestação. Dessa forma, as concentrações dessas proteínas acima de 13,67% podem sugerir gestação positiva para cadelas.

Em resumo, as proteínas de fase aguda podem ser usadas como um teste de gestação precoce para cadelas a partir do 14º dia de gestação pela análise de heptoglobina, ou a partir do 21º dia pela análise da ceruloplasmina, da glicoproteína e da alfa-globulina. A mensuração das concentrações de fibrinogênio e proteína C-reativa já é utilizada como teste de diagnóstico de gestação canina, estando disponíveis no comércio *kits* na Europa e Estados Unidos (Vannucchi *et al.*, 2002).

Vale ressaltar que as proteínas de fase aguda são moléculas liberadas durante a gestação e na presença de enfermidades inflamatórias em cadelas (Conner *et al.*, 1988). Produzidas no fígado, essas proteínas são avaliadas em exames clínicos, porque se acredita que sejam indicadores mais seguros de resposta sistêmica para processos inflamatórios ou infecciosos (Jain, 1986). Para Vannucchi *et al.* (2002), essa técnica é somente válida quando os animais são comprovadamente saudáveis, caso contrário, resultados falso-positivos podem ser obtidos. Dessa forma, é importante verificar a condição de saúde das cadelas por meio de uma completa avaliação clínica, e é necessário se ter certeza da ausência de processo infeccioso ou inflamatório agudo.

Considerações finais

A existência de diferentes métodos de diagnóstico de gestação em cadelas representa uma vantagem para quem milita com essa espécie além de certos métodos poderem ter aplicações diferenciadas. De um modo geral, a ultra-sonografia é sugerida como o método de eleição. O uso da ultra-sonografia permite a obtenção de informações precoces e mais abrangentes, tanto em relação às condições fetais como maternas, permitindo a avaliação da viabilidade do conceito, o monitoramento do desenvolvimento fetal, a estimativa da data de parto,

tornando mais seguro o acompanhamento da gestação. Além disso, o seu uso permite detectar doenças do trato reprodutivo feminino e a avaliação da saúde do animal.

Por outro lado, a palpação abdominal é o método mais usual em decorrência da facilidade de realização e da ausência de custo do procedimento. Já para avaliação do número de fetos, a radiografia é o método mais aconselhável, sendo a alternativa para clientes que desejam comercializar a ninhada antes do parto e, também, é a alternativa para o médico veterinário avaliar o posicionamento desses fetos, optando pela cesariana, caso necessário.

As avaliações sorológicas durante a gestação são uma alternativa. Estudos nesta área de conhecimento continuam sendo feitos e poderão fornecer informações adicionais sobre os eventos fisiológicos relacionados à evolução da gestação na cadela. O diagnóstico por meio de provas sorológicas tem todo potencial para se tornar o método mais prático e de fácil acesso para a detecção de prenhez, desde que estejam disponíveis no mercado *kits* para a espécie canina para a mensuração dos níveis sorológicos das moléculas de interesse.

Referências

- Carvalho CF.** *Ultra-sonografia em pequenos animais.* São Paulo: Roca, 2004. 365p.
- Concannon PW.** A review for breeding management and artificial insemination with chilled or frozen semen. *In: Canine Male Reproduction Symposium, 1, 1997, Quebec. Proceedings...* Quebec: Society for Theriogenology, 1997. p.1-17.
- Concannon PW, Gimpel T, Newton L, Castracane D.** Postimplantation increase in plasma fibrinogen concentration with increase in relaxin concentration in pregnant dogs. *Am J Vet Res, v.57, p.1382-1385, 1996.*
- Concannon PW, Yeager AE.** Endocrine, ultrasonographic, radiographic and clinical changes during pregnancy, parturition and lactation in dogs. *In: Annual Meeting of Society for Theriogenology, 1990, San Diego. Proceedings...* San Diego: Society for Theriogenology, 1990. p.197-223.
- Conner JG, Eckersall PD, Ferguson J, Douglas TA.** Acute-phase response in the dog following surgical trauma. *Res Vet Sci, v.45, p.107-110, 1988.*
- Correa CN, Correa MJM, Carvalho RG, Souza WM.** Estudo anatômico em cadelas da raça rottweiler nas diversas fases da gestação. *Rev Bras Reprod Anim, v.25, p.162-163, 2001.*
- Cruz RJ, Alvarado MS, Sandoval JE.** Ultrasonographic diagnosis of embryonic and fetal death in bitches. *Vet Mex, v.34, p.203-216, 2003.*
- Eckersall PD, Conner JG.** Bovine and canine acute-phase proteins. *Vet Res Com, v.12, p.169-178, 1988.*
- Eckersall PD, Harvey MJA, Ferguson JM, Renton JP, Nickson DA, Boyd JS.** Acute-phase proteins in canine pregnancy (*Canis familiaris*). *J Reprod Fertil, v.47, p.159-164, 1993.*
- Einspanier A, Bunck C, Salpigtidou P, Marten A, Fuhrmann K, Hoppen HO, Gunzel-Apel AR.** Relaxin: an important indicator of canine pregnancy. *Dtsch Tierarztl Wochenschr, v.109, p.8-12, 2002.*
- England CGW.** Pregnancy diagnosis, abnormalities of pregnancy and pregnancy termination. *In: Simpson G, England GCW, Harvey M. (Ed.). Manual of small animal reproduction and neonatology.* Cheltenham: BSAVA, 1998. p.113-126.
- England CGW, Allen WE.** Diagnosis of pregnancy and piometra in the bitch using real-time ultrasonography. *Vet Annual, v.30, p.217-222, 1990.*
- England CGW, Yeager AE, Concannon PW.** Ultrasound imaging of the reproductive tract of the bitch. *In: Concannon PW, England CGW, Verstegen J, Linde-Forsberg C. (Ed.). Recent advances in small animal reproduction.* Ithaca: International Veterinary Information Service, 2003. Disponível em: www.ivis.org. Acesso em 10/07/2007.
- Evans JM, Anderton DJ.** Pregnancy diagnosis in the bitch: the development of a test based on the measurement of acute-phase proteins in the blood. *Ann Zootech, v.41, p.397-405, 1992.*
- Fischer TM, Fisher DR.** Serum assay for canine pregnancy testing. *Mod Vet Pract, v.62, p.466, 1981.*
- Fritsch R, Gerwing M.** *Ecografia de perros y gatos.* Zaragoza: Editorial Acribia, 1996. 248p.
- Gentry PA, Liptrap RM.** Influence of progesterone and pregnancy on canine fibrinogen values. *J Small Anim Pract, v.22, p.185-194, 1981.*
- Gentry PA, Liptrap RM.** Comparative hemostatic protein alterations accompanying pregnancy and parturition. *Can J Physiol Pharmacol, v.66, p.671-678, 1988.*
- Gonzalez JRM, Salgado AB, Faustino M, Iwasaki M.** Estudo comparativo entre a radiologia e a ultrasonografia no diagnóstico da piometra. *Clin Vet, n.44, p.36-44, 2003.*
- Gruys E, Obwolo MJ, Toussaint MJM.** Diagnostic significance of the major acute-phase proteins in veterinary clinical chemistry: a review. *Vet Bull, v.64, p.1009-1018, 1994.*
- Gudermuth DF, Concannon PW, Daels PF, Lasley BL.** Pregnancy-specific elevations in fecal concentrations of estradiol, testosterone and progesterone in the domestic dog (*Canis familiaris*). *Theriogenology, v.50, p.237-248, 1998.*
- Gunzel-Apel AR, Hayer M, Mischke R.** Dynamics of haemostasis during the oestrus cycle and pregnancy in bitches. *J Reprod Fertil, v.51, p.185-193, 1997.*

- Harvey JW, West CL.** Prednisone-induced increases in serum alpha-2-globulin and haptoglobin concentrations in dogs. *Vet Pathol*, v.24, p.90-92, 1987.
- Jackson PGG.** *Obstetrícia veterinária*. São Paulo: Roca, 2005. 328p.
- Jain NC.** The plasma proteins, dysproteinemias and immune deficiency. In: Jain EC (Ed.). *Schalm's veterinary hematology*. Philadelphia: Lea & Febiger, 1986. p.940-1039.
- Jarreta GB.** Ultra-sonografia do aparelho reprodutor feminino. In: Carvalho CF. *Ultra-sonografia em pequenos animais*. São Paulo: Roca, 2004. p.181-206.
- Jochle W.** Prolactin in canine and feline reproduction. *Reprod Dom Anim*, v.32, p.183-193, 1997.
- Johnston SD, Kustritz MVR, Olson PNS.** *Canine and feline theriogenology*. Philadelphia: WB Saunders, 2001. 592p.
- Klonisch T, Hombach-Klonisch S, Froellich C, Kauffold J, Steger K, Seinetz BG, Fischer B.** Canine preprorelaxin: nucleic acid sequence and localization within the canine placenta. *Biol Reprod*, v.60, p.551-557, 1999.
- Konde L.** Diagnostic ultrasound in canine pregnancy and uterine disease. In: Annual Meeting of Society for Theriogenology, 1988, Orlando. *Proceedings...* Orlando: Society for Theriogenology, 1988. p.247-249.
- Kuniyuki AH, Hughes MJ.** Pregnancy diagnosis by biochemical assay. *Prob Vet Med*, v.4, p.505-530, 1992.
- Kuribayashi T, Shimada T, Matsumoto M, Kawato K, Honjyo T, Fukuyama M, Yamamoto Y, Yamamoto S.** Determination of serum C-Reactive Protein (CRP) in healthy beagle dogs of various ages and pregnant beagle dogs. *Exp Anim*, v.52, p.387-390, 2003a.
- Kuribayashi T, Shimizu M, Shimada T, Honjyo T, Yamamoto Y, Yamamoto S.** Alpha 1-Acid Glycoprotein (AAG) levels in healthy and pregnant beagle dogs. *Exp Anim*, v.52, p.377-381, 2003b.
- Kutzler MA, Mohammed HO, Lamb SV, Meyers-Wallen CN.** Accuracy of canine parturition date prediction using fetal measurements obtained by ultrasonography. *Theriogenology*, v.60, p.1309-1317, 2003.
- Kustritz MVR.** Pregnancy diagnosis and abnormalities of pregnancy in the dog. *Theriogenology*, v.64, p.755-765, 2005.
- Leite LB.** *Acompanhamento gestacional em cadelas das raças yorkshire terrier e boxer por ultra-sonografia*. 2003. 67f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) - Universidade Estadual do Ceará, Faculdade de Veterinária, Fortaleza, 2003.
- Luvoni GC, Beccagli M.** The prediction of parturition date in canine pregnancy. *Reprod Dom Anim*, v.41, p.27-32, 2006.
- Luvoni GC, Grioni A.** Determination of gestacional age in medium and small size bitches using ultrasonographic fetal measurements. *J Small Anim Pract*, v.41, p.292-294, 2000.
- Neves JP, Lima PF, Guido SI.** Diagnóstico de gestação por laparoscopia. In: Santos MHB, Oliveira MAL, Lima PF. (Ed.) *Diagnóstico de gestação na cabra e na ovelha*. São Paulo: Varela, 2004. p.41-46.
- Nyland TG, Matton JS.** *Ultra-som diagnóstico em pequenos animais*. São Paulo: Roca, 2005. 469p.
- Onclin K, Verstegen JP.** Secretion patterns of plasma prolactin and progesterone in pregnant compared with nonpregnant diestrous beagle bitches. *J Reprod Fertil Suppl*, n.51, p.203-208, 1997.
- Papp Z, Fekete T.** The evolving role of ultrasound in obstetrics/gynecology practice. *Int J Gynec Obst*, v.82, p.339-346, 2003.
- Rachail M.** Diagnostic de gestation chez les carnivores domestiques. *Point Vét*, v.10, p.77-81, 1980.
- Sanchez ST, Ferri RC.** Reconhecimento e considerações da distocia em fêmeas da espécie canina: revisão. *Clin Vet*, n.41, p.38-46, 2002.
- Serra EG, Guimarães KS.** Avaliação ultra-sonográfica da gestação na espécie canina. *Clin Vet*, n.5, p.18-19, 1996.
- Seveluis E, Andersson M.** Serum protein electrophoresis as a prognostic marker of chronic liver disease in dogs. *Vet Rec*, v.137, p.663-667, 1995.
- Solter PF, Hoffmann WE, Hungerford L, Siegel JP, Denis SHS, Dorner JL.** Haptoglobin and ceruloplasmin as determinants of inflammation in dogs. *Am J Vet Res*, v.52, p.1738-1742, 1991.
- Teixeira MJD.** Utilização da ultra-sonografia para determinação da idade gestacional em cadelas. *Rev Bras Reprod Anim Supl*, n.5, p.50-52, 2002.
- Vanucchi CI, Mirandola RM, Oliveira CM.** Acute-phase protein profile during gestation and diestrous: proposal for an early pregnancy test in bitches. *Anim Reprod Sci*, v.74, p.87-99, 2002.
- Verstegen J, Silva LDM, Onclin K.** Mise au point sur le diagnostic de gestation chez les carnivores domestiques. *Ann Med Vet*, v.140, p.81-98, 1996.
- Wanke MM, Gobello C.** *Reproduccion en caninos y felinos domesticos*. Buenos Aires: Inter-Medica, 2006. 328p.