



## Diagnóstico e manejo de gestação gemelar na espécie equina

*Management of twin pregnancy in equine*

G.R. Pereira<sup>1,4</sup>, A. Hodder<sup>2</sup>, G.F. Carneiro<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Zootecnia, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil.

<sup>2</sup>Scone Equine Hospital, New South Wales, Australia.

<sup>3</sup>Departamento de Reprodução Animal, Universidade Rural Federal de Pernambuco, Garanhuns, PE, Brasil.

<sup>4</sup>Correspondência: gabriel.pereira@ufrgs.br

### Resumo

A presença de gestação gemelar tem sido reconhecida como uma das mais importantes causas de perda embrionária na égua. A incidência de aborto devido à gestação gemelar em equinos diminuiu consideravelmente após a utilização da técnica de ultrassonografia. O diagnóstico e o tratamento precoce de gêmeos continuam a ser uma parte importante na rotina do manejo reprodutivo na espécie equina. Apesar de existir diferentes opções do manejo reprodutivo após a fixação das vesículas embrionárias, a eliminação de uma das vesículas durante a fase de mobilidade embrionária é crucial para que a viabilidade do conceito seja mantida durante a gestação. O diagnóstico precoce e preciso para a eliminação de gestação gemelar é de grande importância no manejo reprodutivo da espécie equina.

**Palavras-chave:** diagnóstico de prenhez, equinos, gestação gemelar, ultrassonografia.

### Abstract

*The presence of twinning has long been recognized as one of the most important causes of reproductive wastage in the mare. The incidence of abortion due to twinning has declined subsequent to the routine use of ultrasonography for pregnancy diagnosis. The early and accurate diagnosis and management of twins remains an important part of routine equine breeding management. While options exist for the management of twins post-fixation, more mares will give birth to a single foal if one of the vesicles is eliminated during the mobility phase. The early and accurate diagnosis for handling twins is of great importance in equine reproductive management.*

**Keywords:** equine, pregnancy diagnosis, twin pregnancy, ultrasonography.

### Introdução

A presença de gestação gemelar frequentemente resulta em aborto no final de gestação ou no nascimento de potros prematuros com alta taxa de mortalidade neonatal. A presença de um feto comprometido ou morto pode complicar o curso clínico durante a gestação na égua, elevando o risco de um resultado desfavorável a ambos (Smith et al., 2003). A gestação gemelar apresenta uma taxa de reabsorção embrionária de 1,72% quando o diagnóstico por palpação retal é realizado entre o 20º e o 40º dia após a monta direcionada (Merk t e Jochle, 1993). A perda gestacional precoce ocorre com maior frequência, em torno de 48%, entre o 14º e o 28º dia, ou em torno de 20%, ao redor do 42º dia de gestação (Woods et al., 1987). Portanto, a identificação da gestação gemelar precoce ajuda na diminuição do elevado risco de um resultado desfavorável durante o período gestacional em éguas.

A baixa incidência de aborto associada com gestação gemelar tem sido largamente atribuída ao uso generalizado da ultrassonografia na rotina de haras e centrais (Smith et al., 2003). As maiores taxas de gestação gemelar ocorrem em raças com maior incidência de ovulações múltiplas, como observado em éguas PSI (19%) em comparação com éguas da raça Quarto de Milha (9%) e Appaloosa (8%; Ginther, 1987). Éguas primíparas têm uma maior incidência de ovulação múltipla em comparação com éguas em lactação). Estudos demonstraram uma redução na taxa de ovulação múltipla e de gestação gemelar em éguas lactantes (5 e 1%, respectivamente) em comparação com éguas jovens (11 e 6%, respectivamente; Ginther, 1987, 1983).

A medida que a estação reprodutiva progride, há aumento da taxa de ovulação múltipla e da porcentagem de éguas em conceber gêmeos devido ao controle do aparecimento de mais de uma vesícula embrionária durante a estação de monta. O efeito da sazonalidade sobre a incidência de gestação gemelar também foi demonstrado em animais da raça PSI, a qual foi diagnosticada em 0,9% das 3.229 concepções realizadas durante fevereiro e março, diferentemente do que ocorreu no período de junho e julho, quando a taxa foi de 1,76% (Merk t e Jochle, 1993). Jeffcott e Whitwell (1973) avaliaram por palpação retal 478 ciclos estrais e observaram aumento de 12% no mês de maio e de 19% em junho no aparecimento de ovulações duplas com a presença de gestação gemelar. De todas as éguas diagnosticadas com gêmeos, 61,3% desse tipo de gestação



foram diagnosticados entre maio e junho (Jeffcott e Whitwell, 1973).

O efeito de indução da ovulação com a administração de gonadotrofina coriônica humana (hCG) sobre as taxas de gêmeos foi investigado em 2.119 ciclos ovulatórios de éguas PSI por um período de sete anos, sendo observado um aumento considerado nas chances de diagnóstico de gêmeos no exame de ultrassom realizado 14 dias após a ovulação subsequente à indução com hCG (Perkins e Grimmett, 2001). Posteriormente, durante a avaliação de 680 éguas PSI por meio de ultrassonografia transretal 16 dias após a ovulação, observou-se um percentual de gestação gemelar maior em animais que receberam 5.000UI de hCG (13,1%) em comparação com fêmeas em que o hCG não foi administrado (6,5%; Veronesi et al., 2003). No entanto, Morel e Newcombe (2007) observaram uma porcentagem de 10,8% de gestação gemelar ao utilizarem 750UI de hCG em comparação a 11,8% com éguas controle. Portanto, a administração de doses mais elevadas de hCG não é necessária para induzir ovulação múltipla, pois doses mais baixas são também eficazes, sendo ambas relacionadas com presença de gestação gemelar. A proposta desta revisão é detalhar informações sobre a ocorrência, os diagnósticos e as diferentes formas de manejo reprodutivo utilizados para o controle da presença de gestação gemelar na espécie equina.

### **Diagnóstico de gestação gemelar**

O exame de ultrassonografia é de fundamental importância para um correto diagnóstico de gestação gemelar, devendo, portanto, ser realizado o mais breve possível durante a estação de monta. A gestação gemelar detectada tardiamente poderá resultar no nascimento de um único potro vivo caso um dos gêmeos seja eliminado no começo da gestação (Schnobrich et al., 2013). Embora a gestação possa ser detectada no nono dia após a ovulação por meio da técnica de ultrassonografia, a primeira verificação é geralmente conduzida ao redor do 14<sup>o</sup> e 16<sup>o</sup> dias após a ovulação durante a rotina reprodutiva em centrais e haras (Lofstedt e Newcombe, 1997). A presença de duas vesículas embrionárias pode ser facilmente detectada no momento da avaliação por ultrassonografia, porém, caso elas ainda não estejam fixadas, uma dessas vesículas pode ser esmagada manualmente (McKinnon, 2007).

O exame ultrassonográfico dos ovários e da presença de corpos lúteos é importante devido à alta correlação entre a ocorrência de múltiplas ovulações e a presença de múltiplas vesículas (Ginther, 1987). Os gêmeos na espécie equina ocorrem devido à ovulação dupla, que pode ser sincronizada ou não sincronizada. A presença de gêmeos oriundos de ovulação dupla sincrônica, ou seja, ovulações com intervalo menor do que 24 h, é identificada pela visualização de duas vesículas de tamanhos similares. Em casos de detecção de ovulações assíncronicas, maiores do que 24 h de intervalo entre as ovulações múltiplas, a presença dos gêmeos será caracterizada por diferentes tamanhos das vesículas embrionárias (Ginther, 1987; Macpherson e Reimaer, 2000). Mesmo que apenas uma ovulação seja detectada, é importante analisar todo o conteúdo uterino de maneira sistemática e metódica para verificar a presença de uma ou mais vesículas embrionárias. Portanto, devido à mobilidade da vesícula embrionária no útero antes da fixação, uma segunda vesícula pode não ser detectada se a totalidade do útero não for examinada minuciosamente. Após o 70<sup>o</sup> dia de gestação, o diagnóstico transretal e o acompanhamento de gestação gemelar é difícil devido ao aumento do volume de fluido alantoideano e da descida do útero gravídico para o abdômen (Ginther e Griffin, 1994).

A utilização de ultrassonografia transabdominal serve para identificar a presença de gêmeos maiores do que 100 dias de idade (McKinnon, 2007). Em casos avançados de gestação gemelar, os primeiros achados clínicos da ocorrência de gêmeos são o desenvolvimento prematuro da glândula mamária e o aparecimento da lactação, além do aparecimento esporádico de aborto dos fetos (Jeffcott e Whitwell, 1973). Portanto, o exame completo e sistemático de todo o útero, com equipamentos de boa qualidade, em uma égua adequadamente contida em um ambiente ideal, irá minimizar as chances de falha na detecção de gestação gemelar.

### **Manejo de gestação gemelar**

A estratégia escolhida para eliminar a presença de uma das vesículas embrionárias é determinada de acordo com a data da presença da ovulação após a cobertura, além de depender da idade da gestação e do tipo de fixação dessas vesículas no trato reprodutivo. Éguas com mais de dois folículos pré-ovulatórios à palpação retal podem ser excluídas anteriormente ao momento da cobertura, para, então, haver uma nova tentativa de ovulação simples no próximo ciclo estral, evitando, assim, uma possível obtenção de gestação múltipla.

#### *Reconhecimento antes do 16<sup>o</sup> dia de gestação*

Em equinos, com o auxílio da técnica de ultrassonografia, é baixa a probabilidade da falha em detectar uma ou ambas as vesículas embrionárias antes do 16<sup>o</sup> dia. A redução embrionária antes do 11<sup>o</sup> dia não é considerada como um aspecto importante da correção natural de gestação gemelar. Entretanto, a falha na detecção da vesícula embrionária durante a fase de mobilidade, entre o 11<sup>o</sup> e o 16<sup>o</sup> dia (dia da fixação), foi observada em 38 éguas (Ginther, 1984). Portanto, a técnica de ultrassonografia utilizada para identificar



vesículas do 12<sup>o</sup> ao 14<sup>o</sup> dia é eficaz para eliminar uma das vesículas embrionárias em migração pelo útero (Ginther e Bergfelt, 1988).

O rompimento da vesícula embrionária é realizado utilizando-se o dedo polegar e o indicador no local onde ela é detectada, ou seguindo o movimento dela até a ponta do corno uterino para que ocorra o seu esmagamento. Por meio da utilização da técnica de ultrassonografia, posiciona-se o transdutor no local onde as duas vesículas estão em contato e, então, realiza-se um movimento suave para trás e para frente da ponta do transdutor, obtendo-se resultados de pressão nas duas vesículas e separando-as. Vesículas menores, entre o 11<sup>o</sup> e o 13<sup>o</sup> dia, são mais difíceis de serem eliminadas por essa técnica devido à alta mobilidade do embrião, que dificulta o contato manual do operador quando a pressão é aplicada.

A redução manual de uma das vesículas antes da fixação não resulta em maior taxa de morte embrionária do que a encontrada com gestações únicas. A gestação gemelar foi diagnosticada em 245 de 1.716 ciclos estrais de éguas PSI e submetida à redução manual de uma das vesículas quando o exame ultrassonográfico foi realizado antes do período de fixação; 10 (4%) tinham perdido o restante da gestação quando avaliados entre sete e dez dias após o procedimento (Pascoe et al., 1987). No mesmo estudo, Pascoe et al. (1987) relataram uma taxa de sobrevivência de 96% para os conceitos restantes até o 42<sup>o</sup> dia, após a redução manual de uma vesícula, quando a presença de gêmeos foi diagnosticada em 100 éguas.

Diferentes técnicas de redução embrionária foram utilizadas com a finalidade de provocar a liberação de prostaglandina (PGF2 $\alpha$ ; Ginther, 1985; Chu et al., 1997). Entretanto, não foi possível demonstrar uma alteração significativa nas concentrações de PGF2 $\alpha$  após a redução de uma ou duas vesículas embrionárias fixadas ou com mobilidade uterina (Veronesi et al., 2005). Esses resultados sugerem que a utilização de anti-inflamatórios e/ou a terapia com prostágenos são desnecessárias na redução manual de vesículas embrionárias.

#### *Reconhecimento entre o 17<sup>o</sup> e o 45<sup>o</sup> dia de gestação*

A fixação da vesícula embrionária ocorre por volta do 16<sup>o</sup> dia na espécie equina devido à restrição do alongamento do concepto na base de um dos cornos uterinos. Em éguas com gestação gemelar, as vesículas podem fixar-se em contato na base de um corno uterino (fixação unilateral) ou pode ser uma em cada base de corno uterino (fixação bilateral). Em um estudo com 31 éguas diagnosticadas com duas vesículas embrionárias, a fixação unilateral foi mais frequente (71%) do que a fixação bilateral (29%; Ginther, 1989a). Em outro estudo, Ginther (1984) observou que a taxa de fixação unilateral foi mais elevada do que a de fixação bilateral (10/11 e 1/11, respectivamente) em 28 éguas da raça PSI. A incidência de redução embrionária é maior em embriões fixados unilateralmente do que em embriões fixados bilateralmente (14/19 vs. 0/9; Ginther 1989a, e 17/19 vs. 1/9; Ginther 1984).

A gestação gemelar resultante de ovulações assíncronicas (ovulações que não ocorrem no mesmo dia) foi mais propensa a sofrer uma redução para uma vesícula em 82% (9/11) em comparação com as que resultam de ovulações síncronicas (5/17, 29%). Ovulações assíncronicas podem resultar em embriões de diferentes tamanhos e idades gestacionais. A redução de embriões realizada no 20<sup>o</sup> dia de gestação apresenta uma taxa de sucesso de 59% (29/49) quando as vesículas estão fixadas unilateralmente. Chevalier e Abgrall (1988) observaram 5.958 éguas cobertas naturalmente em diferentes propriedades rurais na França e obtiveram uma taxa de morte embrionária de 8,9% entre o 22<sup>o</sup> e o 44<sup>o</sup> dia da gestação. Um mecanismo proposto por Ginther (1989b) para essa alta taxa de redução embrionária em gêmeos unilaterais é quando a parede de uma vesícula vascularizada está em contato com a parede bilaminar de outra vesícula em vez de em contato com o endométrio, e esse desenvolvimento embrionário-maternal é drasticamente reduzido e subsequentemente resulta na eliminação de uma das vesículas. Devido ao fato de o mecanismo de redução embrionária próprio da espécie equina ser tão eficiente, nenhuma tentativa é feita para reduzir a pós-fixação de gêmeos unilaterais para uma única vesícula. As taxas de sucesso para a redução manual nos casos de fixação unilateral variam de 25% a 50%, que é menor do que a taxa de redução natural da espécie. Em vez disso, a gestação é monitorada e, se nenhuma redução ocorreu no 30<sup>o</sup> dia, ambos os conceitos são reduzidos antes do estabelecimento dos cálices endometriais, seja por redução manual, seja pela utilização de prostaglandinas.

Ginther (1984) também relatou que apenas um de nove (11%) embriões fixados bilateralmente sofreu redução a uma vesícula simples no 40<sup>o</sup> dia de gestação. Devido à incidência muito baixa de redução espontânea após fixação bilateral, recomenda-se eliminar um dos gêmeos imediatamente após a detecção até o 30<sup>o</sup> dia (McKinnon e Rantanen, 1998). A capacidade de manutenção da gestação a termo é diminuída caso a redução de embriões fixados bilateralmente ocorra após o 31<sup>o</sup> dia. Roberts (1982) realizou um estudo com 181 éguas diagnosticadas com gestação gemelar bilateral, no qual uma das vesículas era manualmente eliminada, e obteve sucesso em 70% dos casos em que o procedimento foi realizado antes do 31<sup>o</sup> dia (33/47) em comparação ao realizado após esse período (31/134; 23%). Essa diminuição da probabilidade da manutenção da gestação após a redução manual depois do 31<sup>o</sup> dia deve-se à presença do fluido alantoico originário de uma das vesículas, que enfraquece a superfície ventral da junção corioalantoide e, por conseguinte, interrompe a troca metabólica e fisiológica do endométrio materno com o embrião.

Woods (1987), ao trabalhar com ultrassonografia transretal, verificou taxa de perda embrionária de 13%



até o 42º dia após a ovulação em rebanhos comerciais. A aspiração transvaginal de fluidos fetais tem sido descrita como um método eficaz para redução de gestação gemelar. Pascoe (1979) relata pela primeira vez a utilização dessa técnica para a realização da aspiração do líquido fetal via punção vaginal em seis éguas com vesículas embrionárias bilaterais após o 42º dia de gestação. Os resultados foram considerados decepcionantes, pois todas as éguas perderam as duas gestações quando realizado esse procedimento. Entretanto, melhores resultados foram obtidos em estudos posteriores que utilizaram uma sonda transvaginal. Em 13 éguas submetidas ao procedimento entre o 20º e o 45º dia de gestação, seis animais (46%) foram diagnosticados prenhes com um único concepto 10 dias após a eliminação por aspiração transvaginal (Bracher et al., 1993). A taxa de sucesso foi maior para éguas com gestação em ambos os cornos uterinos do que para aquelas com gestação em um único corno (75% vs. 33%, respectivamente). Diferentemente disso, Mari et al. (2004) relataram a perda de ambos os conceptos em três éguas quando a aspiração transvaginal guiada por ultrassom foi realizada em um dos dois gêmeos bilateralmente fixados entre o 40º e o 50º dia de gestação. A redução eficaz e o nascimento de um potro viável foram alcançados em 14 dos 20 casos de gestação gemelar situados no mesmo corno uterino (70%) quando o procedimento foi realizado entre o 16º e o 25º dia de gestação. Macpherson e Reimer (2000) recomendam realizar o procedimento antes do 36º dia em casos de gêmeos unilaterais, de acordo com estudo no qual a aspiração transvaginal resultou na perda gestacional quando a técnica foi realizada após o 35º dia de gestação gemelar unilateral.

A intervenção manual durante este período é realizada com sucesso ao redor dos 40 dias em gestações gemelares bilaterais, mas em unilaterais apenas cerca de 50% dessas intervenções são bem-sucedidas. Um melhor resultado na eliminação de uma vesícula pode ser obtido com o uso de uma pressão mais sutil, o que causa danos na membrana corioalantoide e determina um estresse gradual do feto bem como a perda definitiva de pulsação para o concepto seguida de morte embrionária. Durante esse procedimento, a imagem ultrassonográfica dos fluidos fetais torna-se progressivamente mais hiperecoica, além de observar-se uma redução no tamanho da vesícula embrionária que não interfere na sobrevivência do outro feto adjacente. O esmagamento manual foi originalmente descrito como a melhor escolha para eliminação antes do 31º dia, pois não é aconselhável depois do 35º dia. Estudos demonstram que, entre o 35º e o 45º dia, ocorrem 60% de reabsorção de ambos os conceptos, 20% de vesículas unilaterais e 20% de sobrevivência de ambos quando realizado o procedimento de redução por aspiração transvaginal (McKinnon e Rantanen, 1998; Mari et al., 2004). Uma abordagem mais invasiva, como a injeção intrafetal por meio de uma laparotomia ou a remoção de um feto mediante videoendoscopia, pode ser alternativa para o sucesso na eliminação de um dos conceptos. A técnica cirúrgica para remoção de um dos conceptos com idade superior a 35 dias com vesículas implantadas no mesmo corno possui uma baixa taxa de sobrevivência atribuída ao rompimento da membrana corioalantoideana durante a cirurgia (Wolfsdorf, 2006). A ultrassonografia transvaginal guiada para a punção do concepto pode ser realizada quando se observa uma estreita relação do saco vitelínico e/ou da junção corioalantoideana entre o 20º e o 45º dia de gestação.

#### *Reconhecimento a partir do 60º dia de gestação*

Uma técnica para a redução gemelar entre o 60º e o 100º dia de gestação pode ser realizada quando se observa um dos fetos menor do que o outro, o qual é identificado durante a avaliação com ultrassonografia, utilizando-se a sonda do aparelho para a eliminação do feto pela técnica de traumatismo por meio da manipulação com a própria sonda (Rantanen e Kincaid, 1988). Várias tentativas desse procedimento podem ser necessárias para se determinar uma lesão suficiente para a morte fetal, sendo uma taxa esperada de sucesso em torno de 50% (McKinnon e Rantanen, 1998). O deslocamento craniocervical do feto tem sido referido como um método adequado para a redução da gestação gemelar entre o 60º e o 120º dia (Wolfsdorf, 2006). Ao se realizar esse procedimento antes da placentação, o feto viável é capaz de crescer em pleno potencial, evitando-se, assim, o nascimento de um potro prematuro, que é frequentemente observado quando a redução de gêmeos é realizada por via transabdominal (Macpherson e Reimer, 2000).

A ultrassonografia transabdominal para redução gemelar com uma agulha dupla guiada foi inicialmente descrita como um método eficaz para a eliminação de uma vesícula justaposta além do 60º dia de gestação. Esse procedimento deve ser realizado com a égua em sedação com clembuterol (0,8 µg/kg/PV), que provoca relaxamento uterino e, assim, move o feto mais cranialmente, melhorando a visualização com um transdutor de 3MHz (Rantanen e Kincaid, 1988) ou de 5MHz (Macpherson e Reimer, 2000) para selecionar a menor vesícula e de mais fácil acesso. A área abdominal adjacente ao feto a ser eliminado deve ser cirurgicamente preparada e infiltrada com anestésico local e com a ajuda de uma guia de biópsia ligada ao transdutor conectada a uma agulha de 16G ou 18G, que deve ser introduzida através da pele em direção à parede uterina e à vesícula selecionada. Posteriormente, a injeção no coração com cloreto de potássio (KCl), nos pulmões ou no abdômen fetal com 10 a 20 ml de penicilina procaina resultou em morte fetal rápida, confirmada no dia seguinte. A utilização dessa técnica foi descrita em um estudo que envolveu 18 éguas diagnosticadas com gestação gemelar entre o 66º e o 168º dia de gestação. Após a injeção intracárdica de KCl, sete dessas éguas (40%) mantiveram a gestação a termo com nascimento de um potro vivo. Com base nesses resultados, concluiu-se que o melhor efeito



dessa técnica é observado entre o 115º e o 130º dia de gestação. Macpherson e Reimer (2000) relataram o nascimento de nove potros normais de 24 éguas (38%) submetidas ao procedimento em gestações maiores do que 120 dias.

O acompanhamento com ultrassonografia do feto durante a gestação é sempre recomendado. A maioria dos estudos com esse procedimento inclui como tratamento pós-operatório o uso de anti-inflamatórios não esteroides com antibióticos sistêmicos e terapia de progesterona, embora alguns não tenham encontrado nenhuma diferença nas taxas de sobrevivência do feto com antibiótico em longo prazo e terapia com progesterona exógena (Bailey et al., 2010; LeBlanc, 2010). O uso de progesterona tem sido descrito para impedir o aborto de gêmeos submetidos à punção transabdominal após a metade da gestação (Roberts e Myhre, 1983; MacPherson e Reimer, 2000; Bailey et al., 2010). Entretanto, o acompanhamento do feto remanescente por ultrassonografia é importante para determinar a viabilidade fetal, mesmo que a morte fetal ocorra após a realização da punção transabdominal, o que geralmente não é observado imediatamente após o procedimento. Éguas submetidas a esse processo que posteriormente abortam ambos os fetos são diagnosticadas somente entre um e dois meses após o procedimento (MacPherson e Reimer, 2000).

### Considerações finais

A incidência de aborto devido à presença de duas vesículas embrionárias diminuiu consideravelmente com o uso rotineiro da ultrassonografia para o diagnóstico de gestação na espécie equina. O diagnóstico e a eliminação de uma das vesículas embrionárias são de fundamental importância para uma melhor precisão na identificação de gestação gemelar. Embora existam opções para o controle e a eliminação de gêmeos pós-fixação, um maior número de éguas poderá manter a gestação com um único conceito viável caso uma das vesículas seja eliminada durante a fase de mobilidade.

### Referências

- Bailey CS, Macpherson ML, Pozor MA, Troedsson MH, Benson S, Giguere S, Sanchez LC, Leblanc MM, Vickroy TW.** Treatment efficacy of trimethoprim sulfamethoxazole, pentoxifylline and altrenogest in experimentally induced equine placentitis. *Theriogenology*, v.74, p.402-412, 2010.
- Bracher V, Parlevliet JM, Pieterse MC, Vos PL, Wiemer P, Taverne MA, Colenbrander B.** Transvaginal ultrasound-guided twin reduction in the mare. *Vet Rec*, v.133, p.478-479, 1993.
- Chevalier FC, Abgrall G.** Embryo mortality, abortion, neonatal and early foal mortality in horse breeding: frequency and predisposing factors. In: *Quoi de neuf en matière d' études et de recherches sur le cheval?* 14. Journée d'étude. Paris: CEREOPA, 1988. p.115-126.
- Chu JW, Sharom FJ, Oriol JG, Betteridge KJ, Cleaver BD, Sharp DC.** Biochemical changes in the equine capsule following prostaglandin-induced pregnancy failure. *Mol Reprod Dev*, v.46, p.286-295, 1997.
- Ginther OJ.** Effect of reproductive status on twinning and on side of ovulation and embryo attachment in mares. *Theriogenology*, v.20, p.383-395, 1983.
- Ginther OJ.** Embryonic loss in mares: nature of loss after experimental induction by ovariectomy or prostaglandin F<sub>2α</sub>. *Theriogenology*, v.24, p.87-98, 1985.
- Ginther OJ.** Post-fixation embryo reduction in unilateral and bilateral twins in mares. *Theriogenology*, v.22, p.213-223, 1984.
- Ginther OJ.** Relationships among number of days between multiple ovulations, number of embryos and type of embryo fixation in mares. *J Equine Vet Sci*, v.7, p.82-88, 1987.
- Ginther OJ.** The nature of embryo reduction in mares with twin conceptuses: deprivation hypothesis. *Am J Vet Res*, v.50, p.45-53, 1989a.
- Ginther OJ.** Twin embryos in mares. I. From ovulation to fixation. *Equine Vet J*, v.21, p.166-170, 1989b.
- Ginther OJ, Bergfelt DR.** Embryo reduction before day 11 in mares with twin conceptuses. *J Anim Sci*, v.66, p.1727-1731, 1988.
- Ginther OJ, Griffin PG.** Natural outcome and ultrasonic identification of equine fetal twins. *Theriogenology*, v.41, p.1193-1199, 1994.
- Jeffcott LB, Whitwell KE. Twinning as a cause of foetal and neonatal loss in the thoroughbred mare. *J Comp Pathol*, v.83, p.91-106, 1973.
- LeBlanc MM.** Ascending placentitis in the mare: an update. *Reprod Domest Anim* v.45, p.28-34, 2010.
- Lofstedt RM, Newcombe JR.** Pregnancy diagnosis and subsequent examinations in the mare: when and why. *Equine Vet Educ*, v.9, p.293-294, 1997.
- Macpherson ML, Reimer JM.** Twin reduction in the mare: current options. *Anim Reprod Sci*, v.60, p.233-244, 2000.
- Mari G, Iacono E, Merlo B, Castagnetti C.** Reduction of twin in the mare by transvaginal ultrasound-guided aspiration. *Reprod Domest Anim*, v.39, p.434-437, 2004.
- McKinnon AO.** Twin reduction techniques. In: Samper JC, Pycock JF, McKinnon AO. *Current Therapy in Equine Reproduction*. St. Louis: Saunders, 2007. p.357-373.



- McKinnon AO, Rantanen NW.** Twins. In: Rantanen NW, McKinnon AO. Equine Diagnostic Ultrasonography. Baltimore: Williams & Wilkins, 1998. p.141-156.
- Merkt H, Jochle W.** Abortions and twin pregnancies in Thoroughbreds: Rate of occurrence, treatments and prevention. *J Equine Vet Sci*, v.13, p.690-694, 1993.
- Morel DMC, Newcombe JR.** The efficacy of different hCG dose rates and the effect of hCG treatment on ovarian activity: ovulation, multiple ovulation, multiple pregnancy, synchrony of multiple ovulation; in the mare. *Anim Reprod Sci*, v.109, p.189-199, 2007.
- Pascoe RR.** A possible new treatment for twin pregnancy in the mare. *Equine Vet J*, v.11, p.64-65, 1979.
- Pascoe DR, Pascoe RR, Hughes JP, Stabenfeldt GH, Kindahl H.** Management of twin conceptuses by manual embryonic reduction: comparison of two techniques and three hormone treatments. *Am J Vet Res*, v.48, p.1594-1599, 1987.
- Perkins NR, Grimmett JB.** Pregnancy and twinning rates in Thoroughbred mares following administration of human chorionic gonadotropins (hCG). *N Z Vet J*, v.49, p.94-100, 2001.
- Rantanen NW, Kincaid B.** Ultrasound guided fetal cardiac puncture: a method of twin reduction in the mare. *Proc Annu Conv Assoc Am Equine Pract*, p.173-179, 1988.
- Roberts CJ.** Termination of twin gestation by blastocyst crush in the broodmare. *J Reprod Fertil Suppl*, n.32, p.447-449, 1982.
- Roberts SJ, Myhre G.** A review of twinning in horses and the possible therapeutic value of supplemental progesterone to prevent abortion of equine twin fetuses the latter half of the gestation period. *Cornell Vet*, v.73, p.257-264, 1983.
- Schnobrich MR, Riddle WT, Stromberg AJ, LeBlanc MM.** Factors affecting live foal rates of Thoroughbred mares that undergo manual twin elimination. *Equine Vet J*, v.45, p.676-680, 2013.
- Smith KC, Blunden AS, Whitwell KE, Dunn KA, Wales AD.** A survey of equine abortion, stillbirth and neonatal death in the UK from 1988 to 1997. *Equine Vet J*, v.35, p.496-501, 2003.
- Veronesi MC, Battocchio M, Faustini M, Gandini M, Cairoli F.** Relationship between pharmacological induction of estrous and/or ovulation and twin pregnancy in the Thoroughbred mares. *Domest Anim Endocrinol*, v.25, p.133-140, 2003.
- Veronesi MC, Faustini M, Villani M, Kindahl H, Galeati G, Battocchio M.** Plasma concentrations of 15-ketodihydro-PGF<sub>2</sub> $\alpha$ , cortisol and progesterone during manual twin reduction in Thoroughbred mares. *J Vet Med*, v.52, p.411-415, 2005.
- Wolfsdorf KE.** Management of post fixation twins in mares. *Vet Clin N Am Equine Pract*, v.22, p.713-725, 2006.
- Woods GL, Baker CB, Baldwin JL, Ball BA, Bilinski J, Cooper WL, Ley WB, Mank EC, Erb HN.** Early pregnancy loss in brood mares. *J Reprod Fertil Suppl*, v.35, 455-459, 1987.
-