

ULTRASONOGRAFÍA REPRODUCTIVA EN EL GANADO BOVINO

Bo, G. A.(1, 3) y M. Caccia (2, 3). 2000. Taurus, 2(5):23-39.

1) Fac. Csas. Agrop., U.C. Córdoba; 2) CONICOR; 3) Inst. de Repr. Animal (IRAC).

www.produccion-animal.com.ar

Volver a: [Ecografía y ultrasonido](#)

RESUMEN

La ultrasonografía permitió descubrimientos importantes para la reproducción animal, posibilitando una mayor comprensión de los eventos que ocurren durante el ciclo estral. Este mayor conocimiento fue aplicado en programas de sincronización de celos e inseminación artificial y en esquemas de mayor tecnología como la superovulación, transferencia de embriones y aspiración de folículos para fertilización in vitro. Mediante el uso de un ecógrafo es posible determinar con mayor eficacia el momento óptimo de comienzo de los tratamientos para obtener la mayor cantidad posible de embriones viables.

La ultrasonografía también posibilita una examinación exhaustiva del tracto genital, la determinación temprana de la preñez, la evaluación de la viabilidad fetal y la determinación del sexo del animal en un estadio temprano de la gestación. Asimismo, la ultrasonografía transvaginal para la recolección de ovocitos es un método no invasivo, repetible y no complicado que no compromete la fertilidad posterior del animal.

La ultrasonografía es totalmente inocua, no irradia al paciente ni al operador. La experiencia del operador tiene una gran importancia para el uso adecuado de la misma. La coordinación entre la visualización de la imagen y los movimientos realizados con la mano así como la localización de los órganos reproductivos son de fundamental importancia. Es necesario tener un conocimiento profundo de las estructuras anatómicas y de su apariencia normal para poder utilizar esta técnica con una mayor eficiencia.

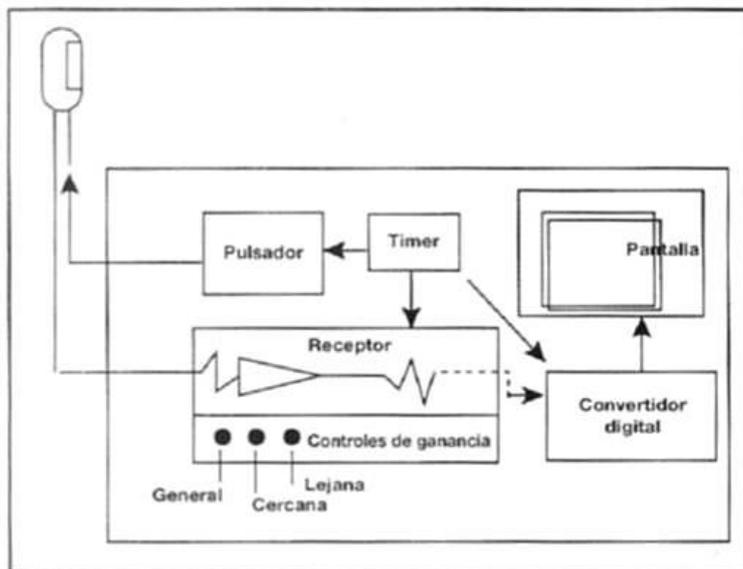
INTRODUCCIÓN

La ultrasonografía o ecografía es una técnica que permite la visualización de los órganos internos. Su aplicación en bovinos y equinos a partir de la década del 80 ha sido uno de los pasos más importantes para el estudio y comprensión de los eventos normales que ocurren durante el ciclo estral y la gestación, a tal punto que es considerado por muchos investigadores como el avance más importante en la biología reproductiva desde la utilización del radioinmunoensayo (RIA) para medir valores hormonales circulantes en el animal.

Principios básicos

La ultrasonografía utiliza ondas de sonido de alta frecuencia medidas en Megahertz (1 MHz = 1.000.000 de ondas de sonido por segundo) para producir imágenes de los tejidos blandos y órganos internos.

Figura 1.- Componentes de un equipo de ultrasonografía



Las máquinas de ultrasonido están compuestas por el transductor y la consola (Figura 1). El transductor está integrado por una gran cantidad de pequeños cristales que vibran al ser estimulados por la corriente eléctrica proveniente de la consola, resultando en la emisión de ondas de sonido que viajan a través de los tejidos en diferentes ángulos, de acuerdo a la orientación dada al transductor. Luego, los tejidos tendrán la capacidad de reflejar o propagar las ondas de sonido y el eco resultante será recibido por los cristales que transformarán las vibraciones en corriente eléctrica, que irá a la consola para ser luego transformada en imágenes. La intensidad y frecuencia de las ondas son directamente proporcionales a la distancia y la consistencia de los tejidos. El color de las imágenes se traducirá en distintos tonos de gris, desde el blanco al negro. Los líquidos (folículo, amnios) se ven en la pantalla de color negro debido a que no reflejan ondas y se llaman no ecogénicos. Los tejidos densos como los huesos reflejan las ondas., se ven de color blanco y se los llama hiperecogénicos. Las otras estructuras tienen diferentes tonos de gris dependiendo de la densidad.

Las ondas que atraviesan los tejidos son muy delgadas (2 mm), por lo tanto la imagen producida es equivalente a un corte histológico. Los límites entre dos tejidos adyacentes de distinta densidad se denominan interfaces. Diferencias muy pequeñas de densidad pueden resultar en una interface. Las interfaces nos permiten delimitar los órganos en estudio y las distintas densidades posibilitan hacer una evaluación de los cambios normales o anormales de dichos órganos

Equipos y transductores

Los instrumentos de ultrasonografía usados actualmente en veterinaria son llamados ecógrafos de modo B y tiempo completo, equipados con transductores lineales, sectoriales y/o convexos de 3,5 MHz, 5,0 MHz o 7,5 MHz. Modo B se refiere a que la imagen es un corte bidimensional del órgano en estudio, conformada por pequeños puntos de diferente intensidad. Tiempo completo se refiere a que los impulsos se van transmitiendo constantemente y de esta manera se tiene una visión instantánea de los tejidos examinados.

Hay tres tipos principales de transductores: lineales, convexos (y microconvexos) y sectoriales. Los lineales tienen los cristales alineados a lo largo del transductor. La estimulación secuencial de grupos de cristales produce la imagen en forma de rectángulo y el ancho de la imagen se corresponde con el largo de la fila de cristales. El transductor es generalmente orientado en sentido longitudinal. De esta manera, por ejemplo, se observa el cuerpo del útero en sentido sagital y los cuernos uterinos en un sentido transversal. Los transductores lineales son los más usados en reproducción porque el recto posee una gran superficie plana, especial para trabajar con estos transductores.

Los transductores sectoriales producen una imagen triangular con el vértice hacia arriba. La ventaja de estos es que necesitan una superficie de contacto pequeña (por ej. espacio intercostal).

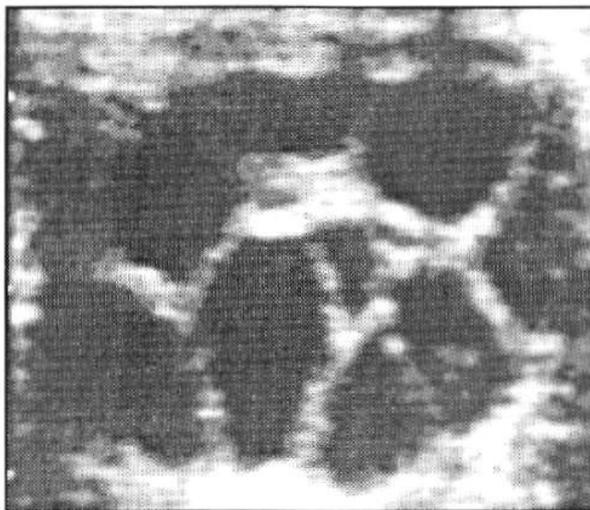
Los transductores convexos y los microconvexos son los más modernos. Los cristales en este caso están dispuestos de la misma manera que en los lineales, pero la superficie es convexa y la imagen tiene forma de abanico. Debido a que su principio es el mismo, la mayoría de las máquinas modernas pueden ser usadas con transductores lineales o convexos. En general los transductores convexos son de gran aplicación en medicina general de pequeños y grandes animales. También se los utiliza para la aspiración de folículos y la obtención de ovocitos para ser fertilizados *in vitro*.

El poder de resolución, que es la menor distancia observable que separa dos puntos, y la claridad de la imagen están en función del transductor utilizado y de la calidad de la máquina o consola. Los transductores de alta frecuencia como los de 5 MHz y 7,5 MHz tienen una resolución mucho mayor que los de menor frecuencia como el de 3,5 MHz. Por ejemplo, con un transductor de 5 MHz se puede visualizar un folículo de 4 mm y un cuerpo lúteo (CL), pero con uno de 7,5 MHz se pueden visualizar folículos de 2 mm y analizar el CL a lo largo de toda su vida funcional. También es importante señalar que los transductores de alta frecuencia tienen menor poder de penetración. Generalmente no es necesario un gran poder de penetración para la examinación del aparato reproductor del bovino. Los transductores de 5 MHz o 7,5 MHz son los de elección cuando se examinan ovarios, útero y preñeces no muy avanzadas. En el caso de preñeces muy avanzadas los transductores de 3,5 MHz son los más apropiados.

Examinación ultrasonográfica del tracto reproductivo bovino

Morfología ultrasonográfica del ovario: Los folículos ováricos, como cualquier estructura que está llena de líquido, aparecen en la pantalla del ecógrafo como áreas de color negro, también denominadas no ecogénicas (Figura 2).

Figura 2.- Morfología ultrasónica de un ovario superestimulado con FSH



Los folículos en general tienen forma redondeada, pero también pueden presentarse formas más irregulares, generalmente debido a la compresión de los folículos adyacentes, al CL o a la compresión entre los folículos y el estroma ovárico. Las paredes que separan los folículos pueden ser muy delgadas y en consecuencia difíciles de distinguir. A veces, la presencia de dos folículos adyacentes y del mismo tamaño da la impresión de estar en presencia de un folículo grande e irregular. Las medidas de los folículos son en realidad las medidas del antro folicular ya que no se incluye el espesor de la pared. Esto es conveniente debido a que es mucho más fácil distinguir el borde entre el antro y la pared folicular que el límite entre la pared folicular y el estroma del ovario

Ovulación: La ovulación en la vaca se detecta fácilmente. Si se realiza un seguimiento del animal se observa la desaparición del folículo preovulatorio (mucho más grande que los demás folículos del ovario; alrededor de 15-17 mm) y esto se corrobora con la posterior formación del CL. El cuerpo lúteo, del cual se hablará con más extensión, es distinguible ultrasonográficamente aproximadamente a los 2 o 3 días postovulación

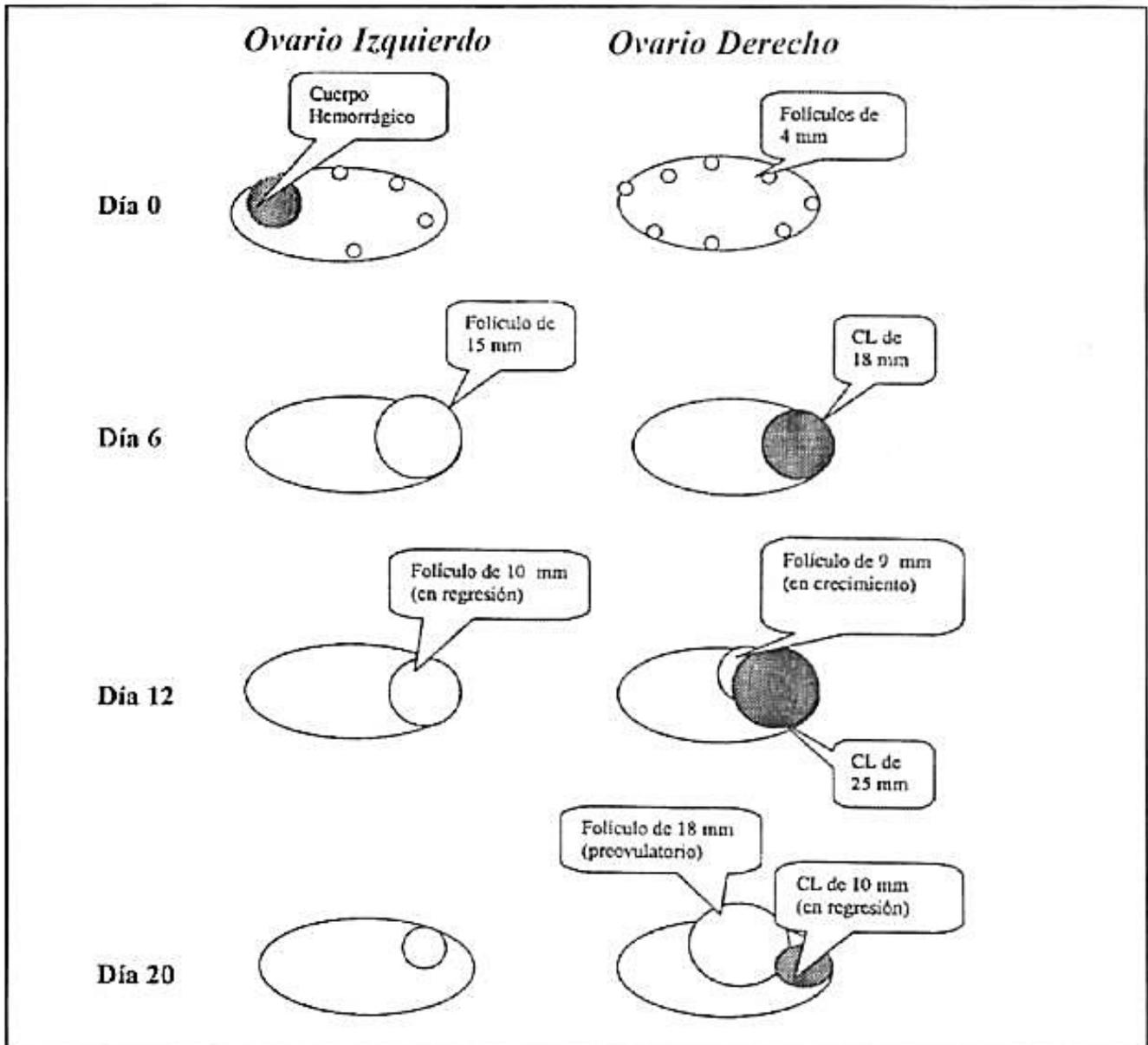
Determinación de las ondas de desarrollo folicular por medio de la ultrasonografía: Trabajos originales no coincidían en la hipótesis de desarrollo de los folículos durante el ciclo estral. Muchos de estos estudios eran realizados con material obtenido *post mortem* y el análisis posterior de las estructuras presentes en el animal en ese momento del ciclo estral. El advenimiento de la ultrasonografía permitió el seguimiento de los cambios que ocurren en el ovario durante el ciclo estral, sin la necesidad de sacrificar al animal. De esta manera se concluyó que existen ondas de desarrollo folicular durante el ciclo estral.

Se ha definido al comienzo de una onda de crecimiento folicular como el día en que se detecta el crecimiento de un gran número de folículos al mismo tiempo, seguido por la posterior selección de un folículo dominante y la regresión y atresia de los folículos más pequeños o subordinados. En ausencia de luteólisis, el folículo dominante deja de crecer y comienza a regresar dando lugar al crecimiento de una nueva onda folicular. Se ha demostrado que la primera onda de desarrollo folicular comienza en promedio el día 0 del ciclo. El día 0 es definido como el primer día en que detectamos la desaparición del folículo preovulatorio del ciclo anterior. En el bovino se ha determinado que la mayoría de los animales tiene 2 o 3 ondas de desarrollo folicular. En los animales con 2 ondas, éstas comienzan los días 0 y 10, mientras que en las vacas de 3 ondas éstas comienzan los días 0, 9 y 16. El folículo destinado a ovular es el folículo dominante de la segunda onda (en las vacas con 2 ondas) o de la tercera en las vacas con ondas.

Para evaluar la dinámica folicular se deben monitorear los cambios individuales de los folículos ≥ 4 mm presentes en cada ovario. La rutina de trabajo consiste en una revisión minuciosa de cada ovario durante la que se miden los folículos y van dibujándose en una planilla según su posición relativa. La planilla es individual para cada animal, tiene un diagrama del ovario derecho y otro del izquierdo. Además de la posición de cada folículo se anotan su diámetro y la posición y diámetro del CL. Para la determinación de la posición de cada folículo se coloca el transductor sobre cada ovario y se va rotando sobre su eje longitudinal. El diámetro de los folículos se puede medir con el calibre electrónico del equipo o mediante una gradilla transparente que se coloca sobre la pantalla. Cuando se realiza un seguimiento diario del desarrollo folicular, la posición y diámetro de los folículos se comparan con los de los días previos y de esta forma se pueden individualizar y diferenciar los folículos que no crecen, los que crecen, los que regresan y la aparición de otros nuevos (>3 mm) o la desaparición u ovulación del folículo dominante de la segunda o tercera onda.

Esta identificación individual de los folículos requiere de gran coordinación entre los ojos y los movimientos de la mano pero permite una visualización directa y más detallada de todas las estructuras. Muchas veces se debe realizar un escaneo minucioso para encontrar un folículo, ya que las sombras u otras interferencias pueden ocultarlo. Otra forma de trabajo es grabar las imágenes en un video para luego analizarlas. Esta técnica demanda más tiempo que la primera. Ejemplos de cómo se diagraman los cambios de los folículos en los distintos estadios del ciclo estral se encuentran indicados en la Figura 3.

Figura 3.- Diagramas demostrando la manera de anotar los cambios que ocurren en los ovarios durante el ciclo estral. Se encuentran esquematizados los cambios que se podrían observar en vacas con un ciclo estral de 2 ondas (día 0 = ovulación).



Morfología ultrasonográfica del cuerpo lúteo: La ultrasonografía también ha sido usada para caracterizar el CL bovino durante el intervalo interovulatorio. Su ecotextura es diferente a la del estroma ovárico e identificable por ultrasonografía en la mayoría de las vaquillonas a partir del día de la ovulación (promedio: día 0,5) y a partir del día 3 con bordes bien definidos. Normalmente se distingue a lo largo de casi todo el ciclo estral e inclusive hasta cerca de la siguiente ovulación (en promedio: 1,4 días antes de que la misma. En algunos casos el cuerpo albicans se distingue hasta 2 o 3 días post ovulación.

Se han realizado estudios para determinar la eficiencia de la ultrasonografía en la observación y medición del CL comparado con la examinación de las mismas estructuras *post mortem*. Se concluyó que no hay diferencias entre las dos técnicas ya que se visualizó correctamente en todas las vaquillonas (23/23) la localización del CL en el ovario izquierdo o derecho entre los días 12 y 14.

Los trabajos iniciales de morfología luteal demostraron que existen dos tipos distintos de CL: con o sin cavidad central. En un estudio, el 48% (11/23) de los CL tenían una cavidad central de un tamaño de entre 2 y 20 mm de diámetro. Cuando se utiliza ultrasonografía, esta cavidad central aparece como no ecogénica (negra) o hipoecogénica y rodeada por áreas relativamente hiperecogénicas de tejido luteal. Además tienen en general forma irregular y en algunos casos pueden aparecer como más de una cavidad.

En otro estudio realizado, 2 de 11 vacas evaluadas tenían cavidades de hasta 20-22 mm de diámetro, con bandas altamente ecogénicas y el análisis *post mortem* reveló que esas bandas son de un material tipo fibrina que atraviesa la cavidad. En todos los casos las cavidades estaban rodeadas por tejido luteal. Estos datos fueron completados por otros estudios realizados por Kastelic, donde se observó que las cavidades se detectan por primera vez el día 0,5 y luego aumentan de tamaño hasta el día 6 ó 7 y comienzan a disminuir para transformarse en un tejido denso hacia el final del ciclo estral (tabla 1).

Tabla 1: Características del CL y de la cavidad luteal en 66 intervalos interovulatorios y 14 preñeces. (Adaptado de Kastelic y col., 1990)					
Item	Estado reproductivo	Categoría de la cavidad luteal central ^a			
		ninguna	pequeña	mediana	grande
N de CL	No Preñadas	15	6	29	16
	Preñadas	2	2	4	6
Primer día de detección del CL ^b	No Preñadas	0,9±0,3	0,2±0,2	0,5±0,2	0,3±0,2
	Preñadas	0,0±0,0	0,0±0,0	0,2±0,2	0,2±0,2
Ultimo día de detección del CL ^c	No Preñadas	1,0±0,6	1,5±0,9	1,0±0,3	2,1±0,5
Primer día de detección cavidad luteal ^d	No Preñadas ^d	—	4,7 ^e ±1,0	4,4 ^e ±0,2	3,0 ^f ±0,5
	Preñadas	—	5,5±1,5	4,2±0,2	3,3±0,6
Día del máximo tamaño de la cavidad ^h	No Preñadas	—	5,7±1,2	6,3±0,3	6,9±0,3
	Preñadas	—	6,0±1,0	5,5±0,5	7,0±0,8
Día de la ultima detección de la cavidad ^h	No Preñadas ^g	—	9,3 ^e ±0,4	11,1 ^e ±0,4	17,4 ^f ±1,0
	Preñadas ^h	—	7,0 ^e ±0,0	8,8 ^e ±1,1	20,2 ^f ±2,3
Intervalo interovulatorio (días)	No Preñadas	19,6±0,5	19,7±0,4	20,5±0,4	19,9±0,4

^a Cavidades ninguna, pequeña, mediana y grande corresponden a áreas <3 mm², de 3 a 20 mm², 21 a 80 mm² y >80 mm²
^b Día 0 = día de la primera ovulación (ovulación que resulta en el CL del intervalo interovulatorio o de la preñez).
^c Día 0 = día de la segunda ovulación (ovulación del final de intervalo interovulatorio).
^d Efecto de la categoría de la cavidad luteal, P<0,04.
^e Dentro de cada fila, las medias con letras distintas son diferentes (P<0,05).
^f Efecto de la categoría de la cavidad luteal, P<0,001.
^g Efecto de la categoría de la cavidad luteal, P<0,05.

Además se observó que la presencia de la cavidad se corresponde con el período de mayor tamaño del CL y que no afecta la longitud del período interovulatorio o el establecimiento de una preñez.

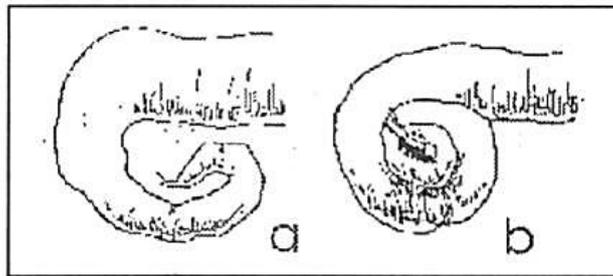
En otro estudio realizado por Kito y col. se utilizó ultrasonografía pero además se tomaron muestras de plasma para evaluar las concentraciones de progesterona circulantes durante el ciclo estral. En este experimento el 7% de los animales tenían CL con cavidad y tanto la concentración de progesterona como el porcentaje de preñez no fueron diferentes para las vacas con CL con o sin cavidad. Por lo tanto se concluyó que la presencia de cavidades en el CL no ejerce ninguna influencia sobre la fertilidad del animal.

También se ha utilizado la ultrasonografía para evaluar el CL en receptoras de embriones. En un trabajo realizado por nuestro grupo, vacas cruza cebú (1/2 sangre Brahman) con un CL > 17 mm de diámetro resultaron en un índice de preñez significativamente mayor (P<0,051) que aquellas receptoras con un CL < 17 mm (41,4 % vs 25,0 %, respectivamente). También son distinguibles los CL de animales superovulados, pero el recuento exacto de CL es dificultoso cuando el animal tiene más de 10 ovulaciones por ovario y requiere una gran experiencia por parte del operador. De todas maneras es importante la evaluación al momento de la recolección para estimar el número de ovulaciones de una forma más exacta que la simple palpación rectal, pero sobre todo

para evaluar la presencia de folículos anovulatorios o estados patológicos que pueden ser importantes a tener en cuenta para realizar la recolección.

Dinámica y morfología del útero: Otra aplicación de la ultrasonografía es la evaluación de los cambios morfológicos del útero a lo largo del ciclo estral en el bovino. Los cambios de estructura, visibles por ultrasonido, incluyen variaciones en el volumen del cuerpo del útero, evidenciados por el aumento de vascularización, edema y acumulación del fluido intrauterino, intracervical e intravaginal. El espesor del cuerpo uterino comienza a aumentar aproximadamente 3 ó 4 días previo a la ovulación y disminuye después de la misma, hasta el día 3 ó 4 del ciclo, para mantener su tamaño a lo largo del diestro. Es importante recordar que el día 0 del ciclo es el día de la ovulación, lo que en el bovino ocurre entre las 24 y 36 hs de comenzado el estro. También se ha estudiado la presencia de líquido intrauterino. Generalmente el líquido intrauterino comienza a ser visible a los 3 ó 4 días previos a la ovulación y decrece hasta el día 3 a 6 del ciclo. El período de máximo contenido de líquido coincide con el período de máxima descarga de mucus durante el estro y metaestro. La forma de los cuernos uterinos también varía a lo largo del ciclo estral y se confirmó la teoría de que el útero de la vaca está muy contorneado y tortuoso en el momento de máxima concentración de progesterona y mucho menos a medida que se acerca al estro (Figura 4).

Figura 4.- Representación de la forma del útero bovino sobre las bases de la visualización ultrasónica:
a) estro; b) diestro (Adapt. De Pierson y Ginther, 1987).



Los resultados de estos estudios indican que la evaluación de la forma y tamaño del útero puede ser indicadora de la presencia de progesterona o de estrógenos circulantes.

Además del estudio de los eventos normales, la ultrasonografía puede ser útil para el diagnóstico de diversas patologías del tracto reproductivo bovino, como piómetras, metritis, salpingitis, hidrosalpinx, etc.

Determinación de la gestación: Hasta aquí, la ultrasonografía es una técnica útil para monitorear aspectos dinámicos de la fisiología reproductiva. Otros usos importantes que actualmente están tomando más vigencia, son la determinación precoz de preñez, el seguimiento del desarrollo embrionario para detectar anomalías del feto, su muerte o el sexado fetal entre los días 58 y 100 de gestación.

Para determinar preñez comúnmente se utiliza la palpación rectal a los 60 días después del servicio. También se puede usar el dosaje de progesterona en leche o sangre el día 24. No obstante, esta técnica no ha resultado de gran utilidad en la práctica veterinaria.

Se realizaron exámenes con ultrasonografía desde el servicio a un grupo de vaquillonas. Se detectó la presencia de una vesícula negra de 2-3 mm en el cuerno ipsilateral al CL entre los días 12 y 14 (ovulación = día 0). En otro experimento se reportó la visualización de la vesícula embrionaria en 15/19 animales el día $11,7 \pm 0,4$ (rango, día 10 al 17). El día de la primera detección, el 73 % de las vesículas eran esféricas (media $2,8 \pm 0,2$ mm de diámetro) y el 27 % oblongas (media $2,0 \pm 0,0$ mm y $4,5 \pm 1,0$ mm). No obstante, en este experimento se concluyó que esta estructura era la vesícula embrionaria recién cuando se determinó la presencia del embrión y de su latido cardíaco en el cuerno ipsilateral al CL el día 20. Por lo tanto, para tener mayor seguridad en el diagnóstico es recomendable realizarlo a partir del día 20 o 21. En la Tabla 2 se puede ver una comparación de la efectividad del diagnóstico de preñez entre tres operadores y con distintos intervalos desde la ovulación.

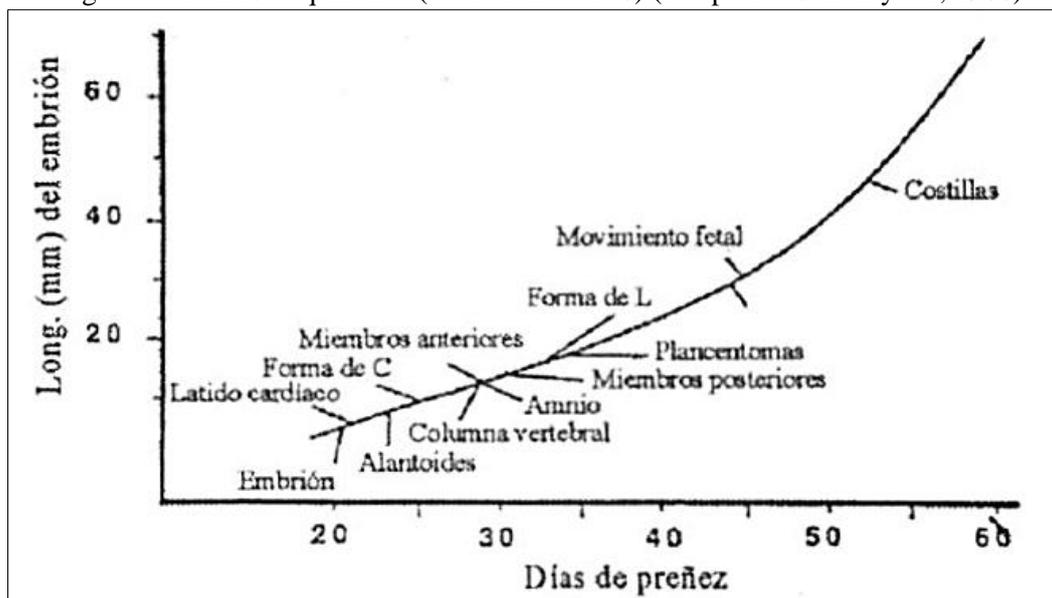
Tabla 2. Frecuencia de diagnóstico correcto de preñez o vacía en vacas usando un transductor de 5 MHz. (Adaptado de Kastelic et al., 1992)

Diagnóstico	Operador	Intervalo (días) desde la ovulación a la examinación			
		20-21	22-23	24-25	26-27
No preñada	A	4/4 (100%)	4/4 (100%)	4/4 (100 %)	4/4 (100%)
	B	4/4 (100%)	4/4 (100%)	4/4 (100 %)	-
	C	4/4 (100%)	4/4 (100%)	3/4 (75 %)	-
Preñadas	A	8/8 (100%)	6/8 (75 %)	8/8 (100 %)	8/8 (100%)
	B	8/8 (100 %)	8/8 (100%)	8/8 (100%)	-
	C	8/8 (100 %)	8/8 (100%)	8/8 (100%)	-

Basados en los resultados del experimento anterior y en nuestra experiencia, lo más conveniente en la práctica a campo sería examinar al animal a partir del día 25 de gestación en vaquillonas y del día 28 en vacas. Durante la examinación es importante determinar la presencia de un CL funcional y la evaluación del embrión junto con la visualización de los latidos del corazón. La edad mínima en que el embrión es detectado va a estar influido por el tamaño del útero de la vaca a evaluar (es más dificultoso en vacas Holstein de muchos partos por ejemplo) y sobre todo por las condiciones de sombra en las que estamos trabajando. Es importante no tener luz solar directa sobre la pantalla del equipo para poder tener buena visualización. Una práctica interesante en rodeos de cría es realizar ecografías después de treinta días de una inseminación artificial (IA) para determinar con exactitud los animales preñados por estas técnicas y diferenciarlos de los preñados por los toros de repaso (que de esta manera se pueden colocar con las vacas a 5-7 días después de la IA). Otra alternativa es realizar la evaluación de todo el rodeo a los 28-30 días de terminado el servicio y combinar la palpación con la ultrasonografía para detectar todas las vacas vacías y apartarlas del rodeo para su engorde y venta en el mercado. En nuestras condiciones, esta práctica es muy importante debido a que si realizamos el diagnóstico de gestación a principios del otoño podemos poner las vacas vacías en los mejores potreros, con pasto en crecimiento y suplementación y tratar de venderlas antes de la entrada del invierno, cuando nuestras pasturas ya pierden mucha calidad y valor nutritivo.

Apariencia del Conceptus desde el día 20 al 60: También se ha estudiado la apariencia ultrasonográfica del embrión bovino. La Figura 5 muestra el ritmo de crecimiento del embrión junto con el día en que fueron identificadas las diversas estructuras.

Figura 5.- Curva de regresión de la longitud del feto y el día medio de la primera detección de varias características identificadas por ultrasonografía del conceptus durante el período de gestación en 15 vaquillonas (ovulación = día 0) (Adapt. De Curran y col, 1986).



Analizando la Figura 5, se puede ver que el largo promedio del embrión aumentó desde el día que fue detectado por primera vez (día $20,3 \pm 0,3$; $3,8 \pm 0,3$ mm) hasta el final del experimento (día 60; $66,1 \pm 1,7$ mm).

La curva de crecimiento fue cuadrática con un significativo aumento del ritmo de crecimiento el día 50. La forma del embrión también cambió desde una línea corta y recta (día 21) a forma de C (día 24) y posteriormente a forma de L.

El ritmo cardíaco fue detectado y medido desde el primer día de visualización del embrión: fue disminuyendo desde 188 latidos/minuto el día 20 hasta aproximadamente 145 latidos/minuto el día 26 y después se mantuvo constante hasta el día 60. Los miembros anteriores fueron visibles a partir del día 25 y dos días después se diferenciaron los miembros posteriores. Las vesículas ópticas a partir del día 29 y aumentaron de diámetro hasta el día 40 (Figura 6).

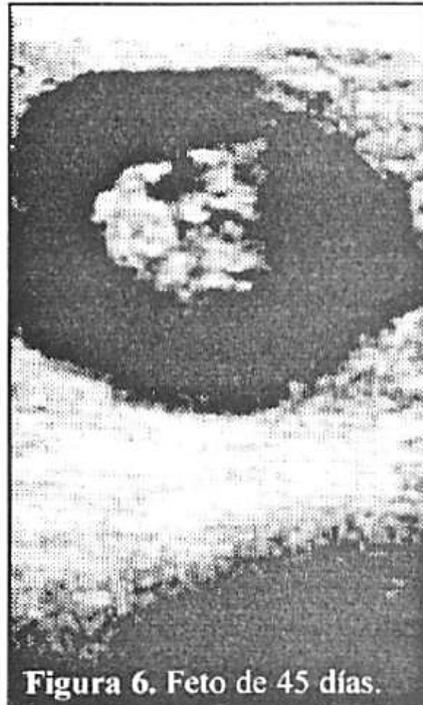


Figura 6. Feto de 45 días.

Después del día 40 los cambios que se observaron fueron la visualización de las costillas alrededor del día 50 y el incremento de la ecogenicidad en sitios de futura formación de hueso, incluyendo la zona craneal, vértebras, área pélvica y miembros. Se ha reportado que la calcificación ocurre alrededor del día 59.

La alantoides se observó como un pequeño círculo blanco adyacente a la porción media ventral del embrión, en 9/15 vaquillonas el día $23,2 \pm 0,3$. No se pudo observar más como estructura separada después del día 27. El amnios se observó como una banda ecogénica alrededor del embrión desde el día $29,5 \pm 0,5$ hasta el día 60, final del experimento. Finalmente las estructuras circulares de los placentomas se vieron por primera vez el día 5,2 y para el día 60 su tamaño era de $19,1 \pm 1,8$ mm.

Utilizando estas medidas y características se puede determinar la edad del embrión con gran exactitud. En ensayos de campo realizados por nuestro grupo se ha podido determinar la edad del embrión con un error de 3 días en 125/130 animales con 30 a 65 días de gestación. Como se dijo anteriormente, esta técnica ha demostrado ser de gran utilidad para determinar la fecha exacta de servicio en programas donde se realiza IA posterior repaso con toros, o también para determinar la fecha aproximada de los partos. Algunos de los ecógrafos disponibles en el mercado ya poseen estas tablas en su software de manera que permiten estimar la fecha de concepción y la fecha estimada de parto en el mismo momento en que se realiza la examinación. Con bastante práctica se puede evaluar la edad aproximada del embrión o feto con la sola visualización del mismo en la pantalla.

Determinación del sexo:

Se puede realizar el diagnóstico de sexo utilizando ultrasonografía entre los 55 y los 100 días de gestación. Revisando los conocimientos de embriología surge que durante la diferenciación sexual el tubérculo genital (TG) migra desde su posición inicial, intermedia entre el cordón umbilical y la base de la cola (día 48-50), para ubicarse definitivamente detrás del cordón umbilical en el macho (día 56) y cerca de la base de la cola en la hembra (día 53), diferenciándose en el pene y el clítoris respectivamente. Para el día 80 ya no se habla de TG sino de pene y clítoris, y se visualizan el escroto y las mamas.

El TG es una estructura ultrasonográficamente detectable, hiperecogénica y de forma bilobulada. En un trabajo realizado para determinar la certeza del diagnóstico por ultrasonografía basado en la ubicación del TG se concluyó que la técnica tiene un 100 % de eficacia cuando el TG llega a su ubicación definitiva. Por lo tanto la técnica puede ser usada con máxima certeza a partir de los días 55 y 60 de la gestación.

Para la realización de la técnica se debe comenzar haciendo una revisión del útero con el transductor, ubicar el feto y obtener una buena imagen del mismo. El feto se mueve bastante en este momento de su vida por lo que es necesario ser paciente y a veces esperar a que se quede quieto. El veterinario debe familiarizarse con las distintas imágenes del feto para saber en qué zona y con qué ángulo se está haciendo el corte ecográfico. La observación o identificación de la cabeza, los latidos cardíacos y el cordón umbilical constituye la referencia para reconocer la ubicación del feto. Luego debemos concentrarnos en la zona del cordón umbilical y de la cola para visualizar el TG.

La localización del TG depende del corte o de la imagen del feto. Hay tres vistas o cortes que se pueden usar para examinar el feto: vista lateral, vista frontal y vista transversal. Debido a la ubicación del tracto reproductivo y del feto, la vista lateral es difícil de obtener, la transversal es la más común, sobre todo en los fetos de más de 60 días. Habitualmente la más fácil de ver en fetos de 55 a 60 días, es la vista frontal.

Cuando se realiza una examinación con vista transversal se debe identificar la cabeza y luego mover el transductor hacia caudal para ver los latidos cardíacos y continuar hasta el cordón umbilical. Si el feto es macho, el TG estará inmediatamente en caudal del cordón umbilical, pero si es hembra, se debe continuar con el movimiento hasta la zona de la cola e identificar el TG inmediatamente hacia craneal y ventral de la misma. Por lo general es fácil visualizar su forma bilobulada pero el problema de estos cortes transversales es que es difícil calcular la distancia entre el cordón umbilical y el TG. Muchas veces ayuda a hacerlo una combinación de imágenes transversales y sagitales.

En una visión frontal se pueden ver la cabeza, tórax, abdomen y la zona inguinal. El operador debe mover el transductor y enfocar la inserción del cordón umbilical en el abdomen del feto. Con ese enfoque frontal se pueden identificar 7 zonas ecogénicas: miembros anteriores, miembros posteriores, cola, cordón umbilical y TG. Si el feto es macho, inmediatamente detrás del cordón umbilical se verá el TG. Si es hembra, algunas veces el TG se confunde con la cola, por lo que movimientos del transductor ayudarán a identificar las dos estructuras. Es fácil obtener vistas laterales pero es difícil ubicar el TG en la hembra. Esta vista es útil para identificar el pene alrededor del día 90 de gestación.

Para realizar esta técnica se requiere de mucha experiencia, paciencia, un equipo de alta resolución y buenas condiciones de trabajo (principalmente poca luz). Si se dan estas condiciones su fiabilidad alcanza el 99 %. Normalmente es necesario indicar al cliente el índice de seguridad del diagnóstico. Esta es una indicación muy subjetiva y se basa principalmente en experiencia del operador y las condiciones de trabajo. No todas las vacas son iguales y a veces las características de la mucosa rectal o el tamaño del útero (úteros muy "caídos" en la cavidad abdominal) pueden dificultar el diagnóstico. Basados en estos aspectos y para tratar de tener un índice de confianza más objetivo, se realizó un trabajo de campo para determinar índices de seguridad en porcentajes que iban desde el 50 % (no-visualización) hasta el 99 % (máxima visualización). Para los índices intermedios se realizó una tabla donde se asignaron porcentajes de acuerdo a las veces que se podía identificar el TG en sucesivos pasajes sobre del feto durante una misma examinación (Tabla 3).

Tabla 3. Determinación de la seguridad de diagnóstico sobre la base de la identificación del tubérculo genital (TG) en fetos de 55 a 90 días.		
Porcentaje de Seguridad	Macho	Hembra
95	> 3	3
90	3	2
80	2	1
70	1	Apariencia de TG sin encontrarse TG detrás del cordón umbilical
60	Apariencia de TG sin observación de la estructura bilobulada característica	Sin encontrarse TG detrás del cordón umbilical pero con visión dificultosa
50	0	0

Se realizaron trabajos en varios establecimientos ganaderos utilizando esta metodología. Las determinaciones fueron realizadas en vacas y vaquillonas de razas varias, entre los 58 y 90 días de gestación. Sobre 351 diagnósticos realizados en la Cabaña La Josefina de San Carlos Centro, Provincia de Santa Fe, Argentina, donde se realizó eficazmente el seguimiento e identificación de los terneros nacidos, se obtuvieron 350 diagnósticos correctos y 1 equivocado (99,72 % de efectividad). El diagnóstico erróneo fue el de una preñez macho que había sido diagnosticada como hembra con una seguridad del 70 %, basado en la tabla anterior. Datos de más de 500 diagnósticos realizados en esa época tuvieron aparentemente una eficacia similar, aunque en estos casos no se realizó un seguimiento individual tan exhaustivo. Con esta técnica se pueden realizar aproximadamente 12 a 15 animales por hora. La demora y dificultad del diagnóstico están influenciadas por las instalaciones y sobre todo por las condiciones de oscuridad. Lo más práctico es tener un tejido media sombra del 90 % y ponerlo doble sobre la parte del brete en la que se trabaja. Si es posible, colocar el ecógrafo de manera que la pantalla esté en la dirección opuesta a la del sol. Por eso en estos casos es muy útil aprender a realizar la técnica tanto con la mano izquierda como con la derecha.

Obtención de ovocitos por aspiración transvaginal:

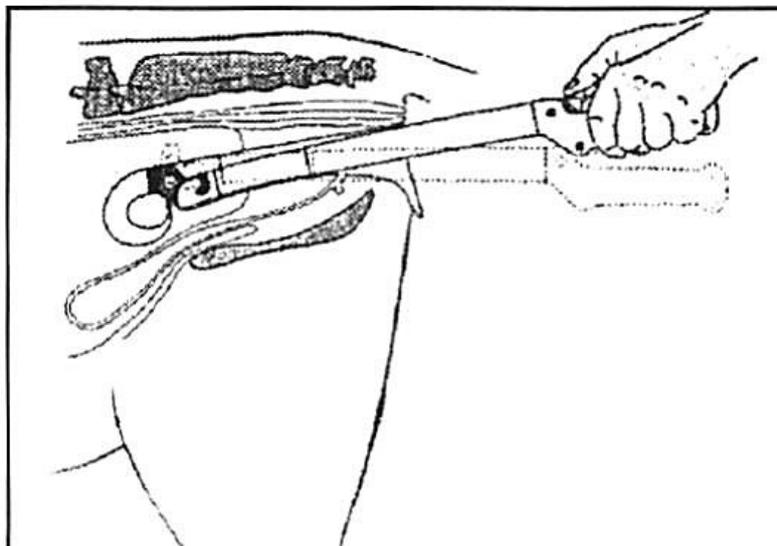
Uno de los objetivos más importantes en los programas de mejoramiento genético es multiplicar los animales superiores. La superovulación y transferencia de embriones son hoy en día las herramientas más usadas para multiplicar la genética de las hembras. Otra de las técnicas que se encuentra en constante perfeccionamiento es la fertilización *in vitro*. En la mayoría de los laboratorios de investigación la fuente de ovocitos son ovarios de matadero por lo que la técnica no es repetible para un mismo animal. Durante los años 90 la ecografía guiada comenzó a utilizarse como método de recolección de ovocitos en bovinos.

La imagen de la pantalla del ecógrafo se utiliza para guiar la aguja de punción dentro del ovario hasta el folículo, por lo que la calidad de la imagen del equipo es de suma importancia. Los transductores utilizados son los sectoriales y convexos de 5 ó 7,5 MHz que permiten la visualización de folículos >2 mm de diámetro. Los transductores lineales también pueden ser adaptados para uso transvaginal colocando una guía para la aguja de punción en la parte superior del transductor, pero su eficiencia es menor a la de los convexos. Se han diseñado diferentes tipos y formas de agujas de aspiración. En los procedimientos de rutina se utilizan agujas de 60 cm de longitud, lumen de 17, 18 ó 20 G y ángulo corto. Hay algunos equipos que permiten el uso de agujas descartables de 17 ó 18 G.

En animales adultos se pueden realizar aspiraciones cada 3 a 6 días sin alterar la fertilidad de la donante y el porcentaje de eficiencia de la técnica es del 55 %. Repetidas aspiraciones foliculares también son posibles en animales preñados durante el primer trimestre de la gestación. Posteriormente los ovarios se encuentran en la cavidad abdominal dado el peso del feto y es difícil alcanzarlos. Los animales preñados poseen ondas de crecimiento folicular similares a los animales no preñados.

Recientemente se ha desarrollado un método de aspiración transvaginal en vaquillonas prepúberes en las que es imposible manipular los ovarios por vía transrectal. Se obtuvo un 38 % de eficiencia en la recolección (Figura 7).

Figura 7.- Posición de los órganos genitales y ubicación del transductor par aspiración de folículos en terneras de 16 semanas de edad, en estación (Adapt. De Brogliatti, 1996).



Además de la obtención de terneros a una edad tan temprana de la vida del animal, se ha comprobado que la utilización de la aspiración no produce efectos adversos en la posterior performance reproductiva. Se realizó un trabajo recientemente con el objetivo de producir embriones, preñeces y nacimientos de terneros a partir de terneras prepúberes. Se utilizó un grupo de 18 terneras Brangus coloradas seleccionadas de un rodeo Brangus de pedigree. Las terneras tenían una edad de 8 meses al iniciar la colección de los ovocitos. Los ovarios fueron examinados por ecografía transrectal con un transductor de 7,5 MHz antes de la punción folicular. Los ovocitos fueron recolectados por vía transvaginal con un intervalo de 15 días y luego madurados en TCM 199 con 100 μ M de cisteamina, fertilizados y cultivados en medio SOF. Los blastocistos obtenidos fueron transferidos a receptoras sincronizadas y las preñeces se diagnosticaron por ultrasonografía a los 30 y 60 días posteriores. A los 15 meses de edad 14 de las 18 donantes fueron superestimuladas dos veces. Los embriones fueron recolectados y congelados para su posterior transferencia. De cada punción transvaginal se obtuvo una cantidad de $9,2\pm 0,4$ ovocitos por ternera, de los cuales $1,2\pm 0,6$ llegaron a convertirse en blastocistos transferibles. El porcentaje de fertilización fue 65,1% y el de blastocistos 23,6% (de los ovocitos inseminados). El porcentaje de preñez fue 29 % confirmado a los 30 y 60 días. Se lograron un total de 18 preñeces de las cuales 13 terneros nacieron. De los dos programas de superestimulación se obtuvo un total de 83 embriones transferibles (promedio de $5,9\pm 1,2$ embriones/vaquillona; $2,9\pm 1,8$ embriones por recolección). Luego de este programa, entre los 18 y 20 meses todas las vaquillonas fueron inseminadas y retornadas a su rodeo original. Tres de estas vaquillonas concurren a exposiciones, preñadas y con 24 meses de edad, teniéndose en el campo de origen terneros ya nacidos y embriones congelados.

El presente reporte demuestra que la combinación de un programa de fertilización *in vitro* durante la vida prepuberal (8 a 12 meses) y la transferencia de embriones convencional a edad temprana puede producir embriones, preñeces y terneros nacidos para el momento que las vaquillonas cumplan dos años de edad.

CONCLUSIONES

La mayor ventaja de la ultrasonografía es la posibilidad de realizar un seguimiento dinámico y periódico en el mismo animal. Eso permitió llegar a descubrimientos de gran importancia para la reproducción animal, como por ejemplo determinar que los folículos del ovario se desarrollan en ordenados procesos llamados ondas de desarrollo folicular. Este descubrimiento ha permitido una mayor comprensión de los eventos que normalmente ocurren durante el ciclo estral bovino y ha llevado a poder aumentar el potencial reproductivo del bovino en programas de sincronización de celos e inseminación artificial y en esquemas de mayor tecnología como la superovulación, la transferencia de embriones y la aspiración de folículos para fertilización *in vitro*. Mediante el uso de un ecógrafo podremos llegar a determinar con mayor eficacia el momento óptimo de comienzo de los tratamientos para obtener la mayor cantidad posible de embriones viables.

En clínica, la ultrasonografía posibilitaría una examinación exhaustiva del tracto genital, para detectar anomalías muy difíciles de individualizar mediante la palpación. Otra posibilidad es la determinación temprana de la preñez. Se puede diagnosticar con un 99% de eficacia una preñez de 25 días en el bovino, por lo menos 10 días antes de lo que lo haría el más experimentado técnico mediante palpación. Además se puede evaluar la viabilidad del feto ya que es factible visualizar los latidos del corazón. Por último, la posibilidad de la determinación del sexo del animal en un estadio temprano de la gestación. Se puede determinar el sexo del animal con un 99 % de eficacia entre los días 60 y 75 de la gestación.

La ultrasonografía guiada transvaginal para la recolección de ovocitos es un método no invasivo, repetible y no complicado que no compromete la fertilidad posterior del animal. La producción de preñeces de embriones producidos *in vitro* a partir de ovocitos recolectados de terneras prepúberes puede resultar de gran beneficio en los programas de mejoramiento.

La ultrasonografía es totalmente inocua. No irradia al paciente ni al operador. Puede repetirse cuantas veces sea necesario. La experiencia del operador en la realización de la técnica tiene una gran importancia para el uso adecuado de la misma. La coordinación entre la visualización de la imagen y los movimientos realizados con la mano así como la localización de los órganos reproductivos son de fundamental importancia. Una vez individualizado el órgano, el técnico deberá tener un conocimiento profundo de las estructuras anatómicas y de su apariencia normal para poder utilizar esta técnica con una mayor eficiencia.

BIBLIOGRAFÍA

1. Bó, G.A., Caccia, M. 1997/1998. Examinación ultrasonográfica del tracto reproductivo bovino. En: Modulo 111, Anexo 1, Ultrasonografía. Curso de Post-Grado en Reproducción Bovina, Instituto de Reproducción Animal de Córdoba (IRAC), 3:19-37.
2. Brogliatti, G.M., Adams, G.R 1996. Transvaginal ultrasound guided oocyte collection in prepubertal calves, Theriogenology 45:1163-1176.

3. Brogliatti, G.M., Furnus, C., De Mates, D., Martínez, G. 1999. Programa de fertilización in vitro, superovulación y transferencia de embriones en terneras Brangus prepúberes. Resúmenes III Simposio Internacional de Reproducción Animal, Carlos Paz, Córdoba; Argentina, Junio 19-21; 209 abstr.
4. Brown, R.T., Brogliatti, G.M., Adams, G.P. 1996. Postpubertal fertility subsequent to repeated transvaginal oocyte collection in calves. *Theriogenology* 45:358 abstr.
5. Corran, S., Pierson, R.A. and Ginther, O.J. 1986. Ultrasonographic appearance of the bovine conceptus from days 10 through 20. *J Am Vet Med Assoc*; 189:128-294.
6. Curran, S., Kastelic, J.P., Ginther, O.J. 1989. Determining the sex of the bovine fetus by ultrasonic assessment of the relative location of the genital tubercle. *Anim Reprod* 19:217-227
7. Ginther, O.J., Kastelic, J.P., Khouri, G.P.C. 1989. Characteristics of follicular waves during the estrous cycle. *Anim Reprod Sci*; 20: 187-200.
8. Ginther, O. J., Knopf, L., Kastelic, J.P. 1989. Temporal associations among ovarian events in cattle during oestrous cycles with two or three follicular waves. *J Reprod Fertil*; 87: 223-230.
9. Ginther, O.J., Knopf, L., Kastelic, J.P. 1989. Ovarian follicular dynamics in heifers during early pregnancy. *Biol. Reprod.*; 41: 247-254
10. Ginther, O.J. *Ultrasonic imaging and Reproductive events in the mare*, 1986. Tercera edición. Ed Equiservices, 4343 Garfield Road, Cross Plains, WI, 53528. USA.
11. Griffin, P.G., Ginther, O.J. 1992. Research applications of ultrasonic imaging in reproductive biology. *J Anim. Sci*; 70:953-972.
12. Kastelic, J.P., Curran, S., Pierson, R.A., Ginther, O.J. 1992. Ultrasonic evaluation of the bovine conceptus. WCVM June Conference. Saskatoon, Saskatchewan.
13. Kastelic, J. P., Bergfelt, D.R., Ginther, O.J. 1991. Ultrasonic detection of the conceptus and characterization of intrauterine fluid in days 10 to 22 in heifers. *Theriogenology* 35:569-581
14. Kastelic, J.P., Pierson, R.A. and Ginther, O.J. 1990. Ultrasonographic morphology of corpora lutea and central luteal cavities during the estrus cycle and early pregnancy in heifers. *Theriogenology* 34:487-497.
15. Kito, S., Okuda, K., Miyazawa, K. and Sato, K. 1986. Study on the appearance of the cavity in the corpus luteum of cows by using ultrasonic scanning. *Theriogenology*; 25:325-333.
16. Knopf, L., Kastelic, J.P., Schallenberger, E., Ginther, O.J. 1989. Ovarian follicular dynamics in heifers: Test of two-wave hypothesis by ultrasonically monitoring individual follicles. *Dom Anim Endo*; 6:111-120.
17. Larson, B. 1987. Determination of ovulation by ultrasound examination and its relation to the LH-peak in heifers. *J. Vet. Med.*; 34:749.
18. Pierson, R.A. and Ginther, O.J. 1984. Ultrasonography for the detection of pregnancy and study of embryonic development in heifers. *Theriogenology*; 22:225-233.
19. Pierson, R.A. and Ginther, O.J. 1984. Ultrasonography of the bovine ovary. *Theriogenology* 21:495.
20. Pierson, R.A., Ginther, O.J. 1987. Follicular populations during the estrous cycle in heifers: 1. Influence of day. *Anim Reprod Sci* ; 124:165-176.
21. Pierson, R.A., Ginther, O.J. 1986. Ovarian follicular populations during early pregnancy in heifers. *Theriogenology*; 26:649.
22. Pierson, R.A., Kastelic, J.P., Ginther, O.J. 1998. Basic principles and techniques for transrectal ultrasonography in cattle and horses. *Theriogenology*; 29:3-19.
23. Pierson, R.A., Ginther, O.J. 1987. Ultrasonographic appearance of the bovine uterus during the estrous cycle. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*; 190:995-1001.
24. Pieterse, M.C., Kappen, R.A., Kruip, A.M., Taverne, M.A.M. 1988. Aspiration of bovine oocyte during transvaginal ultrasound scanning of the ovaries. *Theriogenology*; 30: 751-762.
25. Pieterse, M.C., Vos, P.L.A.M., Kruip, A.M., Wurth, Y.A., van Beilenden, H., Willemse, A.H., Taverne, M.A.M. 1991. Transvaginal ultrasound guided follicular aspiration of bovine oocytes. *Theriogenology*; 35: 857-862.
26. Rahamahendran, R., Robinson, J., Desbottes, S. and Walton, J.S. 1989. Temporal relationships among estrus, body temperature, milk yield, progesterone and luteinizing hormone levels, and ovulation in dairy cows. *Theriogenology*; 31:1173.
27. Savio, J.D., Keenan, L., Boland, M.P. and Roche, J.F. 1988. Pattern of growth of dominant follicles during the estrous cycle of heifers. *J. Reprod. Fert.* 83:663.
28. Sirois, J., Fortune, J.E. 1988. Ovarian follicular dynamics during the estrous cycle in heifers monitored by real-time ultrasonography. *Biol Reprod*; 39:308-317.

[Volver a: Ecografía y ultrasonido](#)