

Aplicaciones de la ultrasonografía en la reproducción bovina: revisión

Applications of bovine reproductive ultrasonography: review

Emma Sofía Corredor Camargo¹, Edwin Manuel Páez Barón²

Resumen

La ultrasonografía es una técnica no invasiva y altamente repetible; por medio de ondas de alta frecuencia permite visualizar tejidos internos, que son representados como imágenes en diferentes tonos de gris; los tejidos que no reflejan ondas de ultrasonido se denominan anecogénicos (se ven de color negro) y los densos, que sí reflejan ondas, se conocen como hiperecogénicos (aparecen de color blanco). La ultrasonografía transrectal de modo B y tiempo real fue utilizada, en un principio, en reproducción bovina, como un medio diagnóstico para dilucidar los cambios que ocurren durante el ciclo estral, y en la actualidad tiene gran aplicación en el manejo, diagnóstico y tratamiento tanto de procesos reproductivos como en programas de biotecnología reproductiva.

Palabras clave: Biotecnología reproductiva, Imagenología, Reproducción bovina, Ultrasonografía, Sexaje fetal.

Abstract

Ultrasonography is a noninvasive, highly repeatable technique; through high frequency waves allow to visualize internal tissues which are represented as images on different grey shade. Those tissues that don't reflect ultrasound waves are named anechogenic (black color) and the thick that reflect the waves are named hyper-echogenic (white color). Transrectal ultrasonography and real-time B-mode was initially used in cattle breeding as a diagnostic tool to elucidate the changes that occur during the estrous cycle and now has great application in the management, diagnosis and treatment of reproductive processes such as reproductive biotechnology programs.

Key Words: Reproductive Biotechnology, Imaging, Cattle Reproduction, Ultrasonography, Fetal Sexing.

¹ M. V., Esp., Tutora Universidad Nacional Abierta y a Distancia. Tunja. emma.corredor@unad.edu.co

² M.V.Z, Esp., Msc., Universidad Nacional Abierta y a Distancia. Tunja. edwin.paez@unad.edu.co

Introducción

Durante las últimas décadas, la ultrasonografía ha tenido gran impacto como herramienta utilizada en la evaluación reproductiva y en biotecnologías desarrolladas en bovinos, especialmente en programas de superovulación y transferencia de embriones; esta técnica posibilita un examen detallado del tracto genital sin generar efectos adversos sobre el potencial reproductivo de la vaca ni afectar el embrión o feto, lo cual permite su aplicación para el diagnóstico temprano de gestación, para el sexaje fetal y, además, para identificar patologías como endometritis y quistes ováricos.

Más recientemente, la ultrasonografía transvaginal ha adquirido gran importancia, dado que permite la recolección de ovocitos de forma no invasiva, repetible y sin comprometer la fertilidad posterior del animal.

Principios básicos de la ultrasonografía

La ultrasonografía es una técnica que utiliza ondas de sonido de alta frecuencia para producir imágenes de órganos internos. Los ecógrafos utilizados actualmente en veterinaria se denominan de Modo B y tiempo real; modo B se refiere a que la imagen bidimensional del órgano es representada por puntos brillantes de diferente intensidad, y se dice tiempo real debido a que los impulsos se transmiten constantemente, haciendo posible observar movimientos como el latido cardíaco de un feto (Griffin y Ginter, 1992; Bo y Caccia, 2000).

El ecógrafo está constituido por un transductor y una consola. El transductor actúa como emisor de las ondas de sonido generadas por cristales piezoeléctricos, las cuales viajan a través del cuerpo hasta llegar a un tejido reflector; el eco que retorna hasta el transductor comprime los cristales piezoeléctricos, transformando estas ondas de ultrasonido en energía eléctrica que es transmitida a la consola (Griffin y Ginter, 1992, Fricke, 2002).

Los impulsos eléctricos se traducirán en imágenes con distintos tonos de gris, dependiendo de la capacidad del tejido para reflejar las ondas de alta frecuencia; así, los líquidos, los antros foliculares y las vesículas embrionarias se verán en la pantalla de color negro, y se denominan anecogénicos, debido a que no reflejan ondas, mientras que los tejidos densos, capaces de reflejar gran cantidad de ondas de alta frecuencia, pueden ir desde

diferentes grados de grises (ecogénicos) hasta blancos (hiperecogénicos), como los huesos; así, los tejidos tendrán una ecotextura, dependiendo de su densidad o ecogenicidad (Griffin y Ginter, 1992; Fricke, 2002).

La resistencia que cada tejido ejerce al paso de las ondas de ultrasonido se denomina *impedancia acústica*; cuando las ondas alcanzan el límite entre dos tejidos de diferente densidad, una fracción de ellas retornará al transductor como un eco, dando lugar a una interfase; así, las interfases permiten delimitar los órganos en estudio, y las distintas densidades posibilitan evaluar cambios fisiológicos o patológicos de dichos órganos (Griffin y Ginter, 1992, Giraldo, 2003).

La magnitud de las ondas de sonido de alta frecuencia es medida en MHz (1 MHz es igual a 1.000.000 de ondas de sonido por segundo); normalmente, los ecógrafos tienen transductores lineales, sectoriales o convexos de 3 a 8 MHz. Para monitorear aspectos dinámicos de la fisiología reproductiva de la vaca es recomendable usar transductores lineales de 5 ó 7.5 MHz; a mayor frecuencia, mejor resolución, pero menor penetración; por ejemplo, los transductores de 5 MHz tienen una penetración de 8-10 cm., por lo que permiten visualizar ovarios, folículos y cuerpos lúteos grandes, útero y preñeces tempranas, mientras que la penetración de un transductor de 7.5 MHz es de solo 4 ó 5 cm., por lo que permite examinar con claridad estructuras más pequeñas, pero muy cercanas (desarrollo folicular y luteal). Los transductores convexos de 3.5 MHz son utilizados para la aspiración de folículos vía transvaginal, y la obtención de ovocitos que posteriormente serán fertilizados in vitro (Griffin y Ginter, 1992, Gnemmi, 2005).

Ultrasonografía del tracto reproductivo de la vaca no gestante

Al ingresar el transductor a la cavidad pelviana se toma como referencia anatómica la vejiga, que aparece como una gran imagen anecogénica, con bordes lisos bien delimitados, e, inmediatamente craneal a esta, se localiza el útero (Sánchez y Alfonso, 2000).

La evaluación ultrasonográfica del útero es de gran importancia para identificar patologías, y durante el diagnóstico de gestación, por lo cual debe ser visualizado detalladamente, evitando dar diagnósticos falsos negativos (Pierson *et al.*, 1988).

Durante esta evaluación se debe tener en cuenta que la ecotextura del útero varía durante el ciclo estral, en relación directa con las concentraciones de estrógenos y progesterona; así, cuando el ciclo se encuentra en la fase folicular, el incremento en los niveles de estrógenos genera edema y acumulación de líquido intrauterino, que aparece en la imagen ultrasonográfica como una disminución en la ecogenicidad de las paredes del útero y como un contenido anecogénico en la luz de éste. Debido a este edema el espesor del útero empieza a aumentar antes de la ovulación, y disminuye 3 a 6 días después de ésta, permaneciendo con una ecotextura ecogénica homogénea sin cambios durante el diestro (Pieterse, 1999; Ribadu y Nakao, 1999; Saito *et al.*, 2001).

Luego de la evaluación del útero se identifican los ovarios, reconociendo en ellos las estructuras funcionales (folículos y cuerpo lúteo), que son fácilmente distinguibles del estroma ovárico, que es más ecogénico. En la imagen ecográfica los folículos son visibles como cavidades anecogénicas correspondientes a los antros foliculares (Figura 1), en general, tienen forma redondeada con borde liso y, a veces, de contorno irregular por la compresión producida por otros folículos, el cuerpo lúteo o el estroma ovárico. Durante la medición folicular no se incluye el espesor de la pared debido a que es mucho más fácil distinguir el límite entre el antro y la pared folicular, que el borde entre la pared folicular y el estroma ovárico (Seneda *et al.*, 2005; Gutiérrez *et al.*, 1996; Henao *et al.*, 2000).

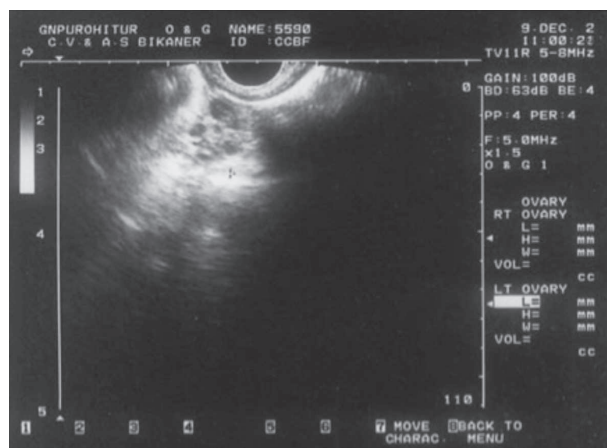


Figura 1. Ultrasonografía del ovario de una vaca con folículos en crecimiento.

El tamaño del folículo va aumentando de 1,5 a 2.5 mm por día durante cada onda folicular; generalmente, el folículo dominante (Figura 2) llega a medir de 15 a 20 mm, para comenzar luego su regresión durante el diestro o permanecer estático hasta la ovulación durante el estro (Sirois y Fortune, 1998, Gaur y Purohit, 2007).

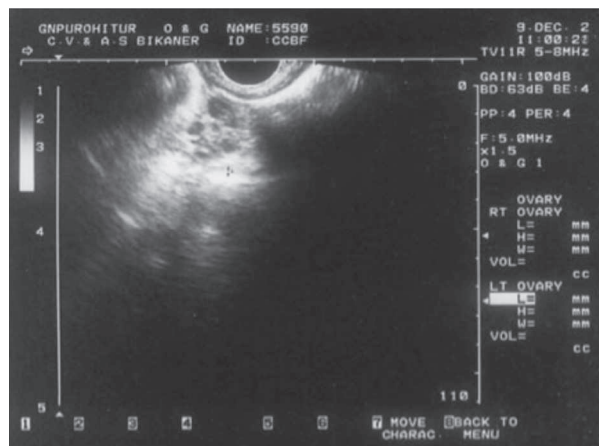


Figura 2. Ultrasonografía del ovario de una vaca que muestra un folículo dominante.

Luego de la desaparición del folículo ovulatorio, en su lugar se desarrolla el cuerpo lúteo, identificable por ultrasonografía a partir del día 3 del ciclo estral; aparece como una estructura ecogénica homogénea. Los estudios ultrasonográficos han revelado una dinámica del cuerpo lúteo basada en su desarrollo y regresión, permitiendo clasificarlo como joven (día 1-4), maduro (5-16 días) y en regresión, a partir del día 17 y hasta completar la luteólisis. El cuerpo lúteo maduro alcanza su máximo tamaño alrededor del día 9 en ciclos estrales de 21 días, llegando a medir de 2 a 3 cm. Los cuerpos lúteos jóvenes y en regresión pueden ser visualizados con cierto grado de dificultad debido a que su apariencia ultrasonográfica es muy similar a la del estroma ovárico, mientras que el cuerpo lúteo maduro tiene una ecotextura menos ecogénica a la del estroma ovárico, lo que permite delimitarlo y diferenciarlo del ovario. En los bovinos, un gran porcentaje de cuerpos lúteos posee una cavidad central con forma irregular y anecogénica, rodeada por tejido luteal; dentro de esta cavidad pueden identificarse bandas hiperecogénicas correspondientes a tejido que atraviesa al cuerpo lúteo; el tamaño de la cavidad

varía de 2 a 20 mm, dependiendo del estado del cuerpo lúteo, y disminuye durante el ciclo estral hasta convertirse en tejido luteal ecogénico. Los cuerpos lúteos cavitarios son fisiológicamente normales, no afectan la longitud del ciclo estral ni los niveles de progesterona o el establecimiento de la preñez, por lo cual deben ser diferenciados de los quistes luteales (Beal *et al.*, 1992; Kayacik *et al.*, 2005).

La visualización de estas estructuras por medio de ultrasonografía permitió el seguimiento de los cambios que ocurren en el ovario durante el ciclo estral, identificando las ondas de desarrollo folicular. En primer lugar, se definió el comienzo de una onda folicular como el día en el cual se detecta el crecimiento de un gran número de folículos al mismo tiempo (fase de reclutamiento); luego se puede evidenciar el crecimiento de un folículo dominante (selección), seguido de la regresión y atresia de los folículos más pequeños; la primera onda folicular está acompañada por el crecimiento de un cuerpo lúteo. En ausencia de luteolisis, el folículo dominante comienza su regresión, dando lugar al desarrollo de una nueva onda folicular, y si ocurre lo contrario se producirá la ovulación. La ultrasonografía permitió, además, determinar que, en bovinos, la mayoría de hembras presentan dos o tres ondas foliculares en cada ciclo estral (Beal *et al.*, 1992; Duggavathi *et al.*, 2003; Pancarci, 1999).

Por otra parte, el cuerpo lúteo, además de ser evidenciado durante el diestro, puede ser identificado durante la gestación, debido a que la mayoría de gestaciones gemelares en bovinos ocurren por ovulaciones dobles. El hallazgo de dos cuerpos lúteos durante el diagnóstico gestacional es un excelente indicador de la presencia de más de un embrión (España *et al.*, 2005).

Diagnóstico temprano de gestación por ultrasonografía

El diagnóstico temprano de gestación es una de las aplicaciones más comunes de la ultrasonografía en la reproducción bovina, debido a la importancia que tiene identificar vacas no gestantes en la eficiencia reproductiva, en las tasas de preñez y en el intervalo entre partos (España *et al.*, 2005). Este es un método que se realiza, comúnmente, entre los días 28 y 33 posinseminación, con una sensibilidad del 97% y una especificidad de 88%, lo cual demuestra que es un método confiable para el diagnóstico de hembras vacías; sin embargo,

estos porcentajes pueden variar dependiendo de la resolución del ecógrafo, de la experiencia del operador y del tamaño del útero; por ejemplo, los diagnósticos que resultan en falsos negativos pueden aumentar cuando el útero es grande y se ubica craneal al borde pélvico (Malmo *et al.*, 2003).

Durante la evaluación ecográfica el embrión se visualiza como una estructura ecogénica de aproximadamente 10 mm dentro de una zona anecogénica, correspondiente al líquido alantoideo, la cual se incrementa rápidamente después del día 28 y se extiende por todo el cuerno gestante; por su parte, después de los 30 días de gestación, la membrana amniótica se distingue en las imágenes ecográficas como una banda ecogénica alrededor del embrión (Romano *et al.*, 2006).

La ultrasonografía utilizada de forma experimental ha permitido identificar el día de aparición de características morfológicas del conceptus bovino, reportadas por primera vez por Curran *et al.* (1992), como se muestra en la Tabla 1.

Tabla 1. Detección de características morfológicas del conceptus bovino mediante ultrasonografía

CARACTERÍSTICA	DÍA DE DETECCIÓN
Embrión	20
Latido cardíaco	21
Alantoides	23
Cordón espinal	30
Amnios	30
Órbita ocular	30
Miembros	31
Placentomas	35

La forma del embrión cambia; en el día 21 aparece como una línea corta y recta; luego, en forma de C (día 24), hasta tomar forma de L. Entre los días 30 y 40 el latido cardíaco se hace visible como un punto ecogénico que aparece y desaparece constantemente con un ritmo de aproximadamente 145 latidos por minuto. Las imágenes circulares ecogénicas de los placentomas son detectadas después del día 35, y el día 60 miden aproximadamente 19 mm. Luego del día 44 se pueden identificar las hendiduras de las pezuñas, y el día 52, las costillas. Como se ve, existe una

información sobre el desarrollo embrionario que puede ser evaluada detalladamente por medio de ultrasonografía para determinar la edad del conceptus con un alto grado de certeza, incluso alrededor del día 60, ya que debido al desarrollo fetal se pueden identificar gestaciones dobles (Fricke P.M., 2002; Szenci et al., 1998).

En las preñeces avanzadas el volumen de los líquidos fetales aumenta, y el útero crece, lo cual dificulta observar el feto; la palpación rectal se utiliza para la confirmación, comúnmente pasados los dos meses de gestación, lo cual es muy importante, ya que existe una tasa normal de pérdida embrionaria. Desde este punto de vista, la ultrasonografía no es una técnica que sustituye el control de gestación por palpación rectal, pero sí es una ayuda valiosa para el diagnóstico temprano, particularmente en casos dudosos, de animales de alto valor, en programas de biotecnología y en vacas repetidoras, debido a que es una técnica menos invasiva y puede minimizar la incidencia de aborto inducido durante el diagnóstico (Nation et al., 2003; Romano et al., 2006).

Sexaje fetal

Aunque el sexo del embrión se determina en el momento de la fertilización, el desarrollo de los órganos reproductivos en el conceptus es relativamente lento, comparado con la expresión de los demás sistemas; en el bovino, la primera evidencia del sexo es la localización relativa del tubérculo genital, tejido embrionario precursor del pene o del clítoris, que en la evaluación ultrasonográfica aparece como una imagen hiperecogénica bilobulada (Curran, 1992).

La localización relativa se refiere a que durante la diferenciación sexual el tubérculo genital, ubicado inicialmente entre los miembros posteriores (día 48-50), migra hacia craneal en el feto macho, para ubicarse inmediatamente caudal al cordón umbilical (Figura 3), hacia el día 55-56; mientras que en la hembra se dirige hacia dorsal y hacia caudal, ubicándose ventral a la base de la cola (Díaz et al., 1995).

Por eso el sexaje fetal se realiza con mayor certeza entre los 55 y 70 días de gestación, cuando ha finalizado la migración del tubérculo genital, y no después de los 70 días, debido a que luego de este período la apariencia hiperecogénica se hace menos evidente. Se debe tener en cuenta,

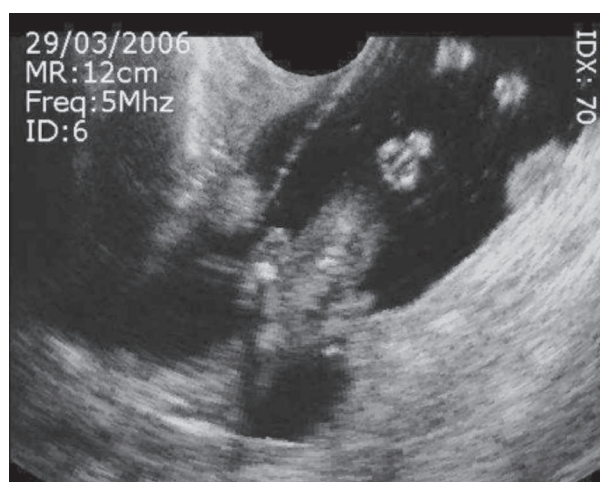


Figura 3. Feto macho, gestación de 70 días.

además, que el aumento del tamaño del útero y su desplazamiento hacia la cavidad abdominal hacen más dispendiosa la evaluación ultrasonográfica del feto en preñeces avanzadas, y hacia el día 80 de gestación ya no se identificaría el tubérculo, sino que se vería el desarrollo del pene y el escroto en el macho, y del clítoris y las mamas en la hembra (Díaz et al., 1995).

Para desarrollar esta técnica de forma adecuada se toman como puntos de referencia estructuras anatómicas como la cabeza, los miembros, el cordón umbilical y la base de la cola, dado que el feto puede verse en diversos cortes. Cuando se ubica una vista trasversal se debe identificar en primer lugar la cabeza y mover el transductor hacia caudal hasta el cordón umbilical; si el feto es macho, el tubérculo genital estará inmediatamente caudal a éste, y si es hembra se continúa hasta la cola para identificarlo ventral a ésta. En una vista frontal se puede ver la cabeza, el abdomen y la zona inguinal; el operador debe mover el transductor y enfocar la inserción del cordón umbilical; si el feto es macho, este corte permite ver el tubérculo genital, pero si es hembra puede confundirse con la base de la cola; los movimientos del transductor ayudarán a identificar las dos estructuras (Curran, 1992).

Aunque el índice de seguridad en el sexaje fetal es muy relativo, en condiciones adecuadas y con gran experiencia puede estar por encima del 96%, y es más eficaz la identificación del macho que la de la hembra (Díaz et al., 1995).

Patologías reproductivas identificables por ultrasonografía

Quistes ováricos

Los quistes son patologías dinámicas que pueden ser identificadas en uno o en los dos ovarios; en los bovinos hay una serie de factores predisponentes: genéticos, etéreos y nutricionales; además, la producción láctea y el período posparto han sido relacionados con su aparición. Los perfiles ultrasonográficos permiten, además del diagnóstico, una clara diferenciación entre los quistes foliculares y luteales, lo cual tiene gran importancia para seleccionar el tratamiento adecuado (Quintela *et al.*, 2002).

Los quistes foliculares se ven reflejados clínicamente por repetición de celos, ninfomanía y anestro; por medio de ultrasonografía son evidenciados como estructuras anecogénicas, generalmente, mayores de 2 cm. de diámetro, de paredes delgadas ecogénicas; pueden aparecer solos (quiste folicular simple) o en grupo (quistes foliculares múltiples), y, generalmente, persisten en el ovario durante más de diez días (Quintela *et al.*, 2002).

Los quistes luteales, en la mayoría de los casos, generan anestro, debido al aumento en los niveles de progesterona circulante; al igual que los quistes foliculares, estos aparecen como estructuras con tamaño mayor al de un cuerpo lúteo normal y persisten de forma anómala; sin embargo, su ecotextura es diferente, ya que la cavidad central anecogénica del quiste luteal es irregular y se encuentra rodeada de una capa gruesa (2 a 5 mm) de tejido luteinizado. Estos quistes pueden ser confundidos con un cuerpo lúteo cavitario normal, por lo cual es aconsejable realizar un perfil ultrasonográfico para identificar su persistencia; comúnmente este seguimiento va acompañado con mediciones de altos niveles de progesterona (Stevenson y Tiffany, 2004).

Una patología ovárica que se diagnostica con baja frecuencia en bovinos es el tumor de las células de la granulosa, que aparece como una imagen compacta ecogénica en cuyo interior se pueden observar vasos sanguíneos anecogénicos (Fricke y Shaver, 2001).

Patologías uterinas

En condiciones patológicas del tracto genital, tales como piometra o endometritis por medio de la ultrasonografía, se puede identificar contenido

intrauterino cuya ecotextura varía dependiendo de la entidad; es así como en los casos de piometra y endometritis crónica, el útero, cuya luz ha aumentado de tamaño, se encuentra lleno de un contenido francamente purulento y denso, que aparece como una imagen que varía desde ecogénica nubosa (*cloudí*) hasta hiperecogénica fácilmente diferenciable de las paredes uterinas, cuya ecotextura es menos ecogénica. En los casos de endometritis subclínica, un fluido en poca cantidad puede ser visto por ultrasonografía en el lumen uterino como un contenido ecogénico, el cual debe ser diferenciado del moco producido durante el estro, del útero grávido o de úteros de gran tamaño que almacenan líquido (Drillich, 2006; Fricke y Shaver, 2001; Mateus *et al.*, 2002; Gnemmi, 2005).

Ultrasonografía en biotecnologías reproductivas

Superovulación

La ultrasonografía ha sido determinante para estimar el inicio adecuado del tratamiento superovulatorio y su respuesta en las vacas donantes; además, permite el chequeo reproductivo de las posibles receptoras (Peters *et al.*, 2004; Santl *et al.*, 1998). En general, se denomina superovulación el aumento del número fisiológico de ovulaciones propio de una especie, provocado mediante la administración de gonadotropinas. En el bovino se considera que hubo respuesta al tratamiento cuando se producen más de dos ovulaciones. La administración de gonadotropinas en estos casos tiene por objeto incrementar el número de folículos preantrales que se convierten en antrales y reducir, a la vez, el número de folículos antrales que sufren atresia; una mayor proporción de estos folículos se encuentra en los ovarios entre los días 0-5 y 9-13 en ciclos de dos ondas. Esto hizo suponer una alta respuesta a tratamientos realizados durante estos días; sin embargo, se han obtenido mejores resultados cuando el tratamiento comienza el día antes o el mismo día del inicio de la onda que cuando comienza uno o dos días después, siendo la ultrasonografía una técnica muy útil para determinar ese momento con precisión (Díaz *et al.*, 1999).

Además del número de folículos receptivos a las gonadotropinas, la respuesta superovulatoria depende de otros factores; entre ellos, la presencia de un folículo dominante al inicio del tratamiento, el cual es capaz de afectar la respuesta superovulatoria solo cuando se encuentra en crecimiento; al ser identificado un folículo dominante, la ultrasonografía transvaginal

posibilita su eliminación mediante aspiración folicular, aumentando así el número de folículos pequeños inmediatamente antes de comenzar el tratamiento superovulatorio (Singh *et al.*, 2004).

Inseminación artificial a tiempo fijo (IATF)

En la última década la caracterización de la dinámica folicular del bovino mediante ultrasonografía ha generado bases para la manipulación farmacológica del ciclo estral, para lograr la sincronización de la ovulación en un tiempo predecible e inseminar a tiempo predeterminado o tiempo fijo (Huanca, 2001; Villa *et al.*, 2007). De manera práctica, el día cero del tratamiento de IATF se utiliza la ultrasonografía transrectal con el objetivo de descartar posibles alteraciones reproductivas y evaluar las estructuras ováricas, y con esto determinar el estado de ciclicidad. El diagnóstico de gestación por ultrasonografía transrectal ha sido determinado 35 días (Villa *et al.*, 2007) ó 45 días (Cuatía *et al.*, 2003) después de la IATF. Según Boyezuk (2007), si bien puede realizarse después del tratamiento una detección de preñez más precoz (20 días posinseminación), carece de sentido práctico, ya que entre los 20 y 56 días posinseminación el porcentaje de pérdida de gestación en el ganado oscila entre el 2 y el 8%; por lo tanto, como rutina, todas las hembras diagnosticadas preñadas por ultrasonografía a los 25 días posinseminación deben ser exploradas nuevamente entre los 55-60 días, momento en el cual disminuye significativamente la tasa de pérdida, pudiendo realizar, en el caso de diagnósticos negativos, un manejo estratégico de las hembras bovinas, asignándolas a protocolos de resincronización o determinando su descarte.

Aspiración folicular transvaginal

En 1988, Pieterse y cols. modificaron la técnica de punción transvaginal guiada por ultrasonografía, originalmente desarrollada en reproducción humana, para su utilización en bovinos, con el objetivo primario de producir más embriones y preñeces por vaca donante, que por superovulación y programas de transferencia de embriones de forma clásica. Esta técnica, denominada hoy "punción folicular transvaginal", "recuperación de ovocitos transvaginal guiada por ultrasonografía" u "transvaginal ovum pick up" (OPU), resultó ser poco invasiva y tener un alto grado de repetibilidad, con aplicación en hembras que no responden a tratamientos superovulatorios, en vacas viejas de alto valor genético o clínicamente infértiles, lo cual es una de sus ventajas, ya que en estas últimas no es aplicable la transferencia de embriones de forma

clásica; incluso se ha realizado durante el primer tercio de gestación y en el período posparto.

En general, un sistema de OPU está compuesto por un ecógrafo con transductor, una bomba de aspiración y una aguja, con su sistema de guía, conectada a un recipiente de recolección. Independiente del transductor que se utilice (lineal, sectorial o convexo), la sonda debe incluir un diseño que posibilite la manipulación de la aguja de punción desde el exterior; así mismo, la unidad operacional para OPU debe permitir que el extremo de la aguja pueda ser visualizado para penetrar los folículos ubicados cerca al transductor (Bols *et al.*, 1995; Bergfelt *et al.*, 1998; Ryan *et al.*, 1992).

Durante el procedimiento de OPU, la cabeza del transductor es ubicada inmediatamente caudal al orificio externo del cérvix y hacia la derecha o izquierda, dependiendo del ovario que será puncionado; el dispositivo tiene un mango que permite su manejo con una mano desde el exterior de la vaca; introduciendo la otra mano en el recto, el operario fija el ovario contra la cabeza del transductor, de esta manera el ovario y los folículos pueden ser visualizados en la imagen ecográfica; posteriormente, la aguja se visualiza en el sector escaneado, y con movimientos cuidadosos el operario mueve la aguja para atravesar la pared vaginal y puncionar los folículos, cuyo contenido es aspirado gracias a la bomba de vacío. El líquido folicular y el ovocito son recolectados; los ovocitos son identificados y expuestos a maduración para la fertilización *in vitro* (Bols *et al.*, 1995; Carter *et al.*, 2002).

Aunque la punción folicular puede realizarse en cualquier momento del ciclo estral, la cantidad y calidad de los ovocitos recolectados varía ampliamente en animales que no han sido estimulados con hormonas exógenas; la fase de reclutamiento que se da al comienzo de una onda folicular es el momento más adecuado. En la práctica, las vacas pueden ser tratadas con gonadotropinas exógenas, cuando se busca aumentar el número de folículos aspirados o cuando la actividad ovárica es más baja de lo normal, o con agentes luteolíticos (Prostaglandina F_{2α}), cuando se evidencia un cuerpo lúteo maduro (Chaubal *et al.*, 2005; Brüggerhoff *et al.*, 2002).

En forma experimental se ha realizado OPU el día 5 del ciclo estral, inicialmente, y luego con

una frecuencia de dos veces por semana durante 3 meses, sin evidenciar efectos adversos sobre la fertilidad posterior de las vacas estudiadas, con una tasa de colección de ovocitos de 60 al 70% de folículos puncionados, y una producción de embriones in vitro de 1-3 por cada OPU en donadoras que no fueron estimuladas (Chaubal et al., 2005; Hidalgo et al., 2002).

Conclusiones

La ultrasonografía se basa en la impedancia acústica de los tejidos; estructuras densas como el embrión, el útero o el cuerpo lúteo son ecogénicas y se ven como imágenes claras; los líquidos, como el encontrado en el antro folicular o en la vesícula embrionaria, son anecogénicos, visualizándose como estructuras oscuras o negras.

Desde cuando se produjo la primera imagen ultrasonográfica en modo B, se le han dado diversas aplicaciones a esta técnica en el campo de la Medicina Veterinaria, destacándose en la reproducción bovina el diagnóstico temprano de gestación, con la visualización de la vesícula embrionaria y del embrión en desarrollo a partir de los 28 días posinseminación.

El seguimiento de las estructuras transitorias del ovario, especialmente la visualización por ultrasonografía de los folículos, ha sido de gran importancia en el marco de la aplicación de protocolos de sincronización, inseminación artificial a tiempo fijo, superovulación, así como en la aspiración folicular transvaginal; esto gracias a la optimización de los recursos técnicos, profesionales y animales.

Literatura Citada

- Beal, W.; R. C. Perry y L.R. Corah (1992). "The use of ultrasound in monitoring reproductive physiology of beef cattle". *J. Animal Sci.* 70: 924-929.
- Bergfelt, R.D.; G. M. Brogliatti y G. P. Adams (1998). "Gamete recovery and follicular transfer (GRAFT) using transvaginal ultrasonography in cattle". *Theriogenology*, 50(1): 15-25.
- Bo, G.A. y M. Caccia (2000). "Ultrasonografía reproductiva en el ganado bovino". *Rev. Taurus* 2(5): 23-39.
- Bols, P. E.; J. M. Vandenheede y A. Van Soom (1995). "Transvaginal Ovum Pick-up in the cow". *Theriogenology*, 43(3): 677-687.
- Boyezuk, A. (2007). "Diagnóstico precoz de gestación por ultrasonografía en programas de inseminación artificial a tiempo fijo (IATF)". *Producir XXI*, 16(193): 51-55. Bs. As.
- Brüggerhoff, K.; V. Zakhartchenko, H. Wenigerkind, H. Reichenbach, K. Prella, W. Scherthaner, R. Alberio, H. Küchenhoff, M. Stojkovic, G. Brem, S. Hiendleder y E. Wolf (2002). "Bovine Somatic Cell Nuclear Transfer Using Recipient Oocytes Recovered by Ovum Pick-Up: Effect of Maternal Lineage of Oocyte Donors". *Biology of Reproduction* 66: 367-373.
- Carter, J.A.; S. Bellow, M. Meintjes, O. Pérez, E. Ferguson y R.A. Godke (2002). "Transvaginal ultrasound-guided oocyte aspiration for production of embryos in vitro". *Arch. Tierz.* 45(1): 99-108.
- Curran, S. 1992. Fetal sex determination in cattle and horses by ultrasonography. *Theriogenology*, 37 (1): 17-21.
- Chaubal, S.A.; J.A. Molina, C.L. Ohlrichs, L.B. Ferre, D.C. Faber, P.E.J. Bols, J.W. Riesen, X. Tian y X. Yang (2005). "Comparison of different transvaginal ovum pick-up protocols to optimise oocyte retrieval and embryo production over a 10-week period in cows". *Theriogenology*, 65(8): 1631-1648.
- Díaz, C.; L. A. Quintela, A. I. Peña, J. J. Becerra y P.G. Herradón (1999). "Influencia del día de inicio del tratamiento en los resultados de superovulación en vacas lecheras". *Arch. Zootec.* 48: 43-50.
- Díaz, C.; J. L. Suárez; L.A. Quintela; A.I. Peña; F. Barrio; M.E. García; J.J. Becerra; P.G. Herradón (1995). "Precisión de la técnica ecográfica en la determinación del sexo fetal en ganado vacuno". *Archivos de Zootecnia*, 44: 55-62.
- Drillich, M. (2006). "An update on uterine infections in dairy cattle". *Slov. Vet. Res.* 43(1): 11-15.
- Duggavathi, R.; P. M. Bartlewski; D. M. W. Barrett y N. C. Rawlings (2003). "Use of high-resolution transrectal ultrasonography to assess changes in numbers of small ovarian antral follicles and their relationships to the emergence of follicular waves in cyclic ewes". *Theriogenology*, 60(3): 495-510.
- España, F.; C. C. Pérez; I. Rodríguez; J. Dorado y

- M. Hidalgo (2005). "Estudio comparativo de la eficiencia del diagnóstico precoz de gestación en vacuno mediante ecografía luteal y progesterona plasmática". *Veterinaria* 4(1): 1-13.
- Fricke, P.M. (2002). "Scanning the future ultrasonography as a reproductive management tool for dairy cattle". *J. dairy Sci.* 85: 1918-1926.
- Fricke, P.M. y R.D. Shaver (2001). "Managing reproductive disorders in dairy cows". *Reproduction and Genetics*, 603.
- Gaur, M. y G.N. Purohit (2007). "Follicular dynamics in Rathí (Bos indicus) cattle". *Vet Archiv.* 77: 177-186.
- Giraldo, C. (2003). "Principios básicos de la ultrasonografía veterinaria". *MVZ-Córdoba*, 8(2): 303-309.
- Gnemmi, G. (2005). "Ultrasonografía en ginecología buiátrica". *Veterinaria Argentina*, 22(220): 753-756.
- Griffin, P. G. y O. J. Ginter (1992). "Research applications of ultrasonic imaging in reproductive biology". *J. Anim. Sci.* 70: 953-972.
- Gutiérrez, A. C.; L. Zarco; C. S. Galina; I. Rubio and H. Basurto (1996). "Predictive value of palpation per rectum for detection of the CL in Zebu cattle as evaluated by progesterone concentrations and ultrasonography". *Theriogenology*, 46(3): 471-479.
- Henaó, G.; L.E. Trujillo y J.F. Vásquez (2000). "Cambios en la dinámica folicular en vacas cebú anéstricas sometidas a suspensión temporal de la lactancia". *Rev. Col. Cienc. Pec.* 13(2): 121-129.
- Hidalgo, C.O.; I. Fernández, P. Duque, E. Díaz, y C. Díez (2002). "Primeros terneros producidos in vitro tras punción ecoguiada de folículos ováricos". *Archivos de Zootecnia*, 51: 411-422.
- Huanca, L. (2001). "Inseminación artificial a tiempo fijo en vacas lecheras". *Rev Inv Vet*, 12(2): 161-163; Perú.
- Kayacik, V.; M. Salmanoglu, B. Polat y A. Ozuder (2005). "Evaluation of the corpus luteum size throughout the cycle by ultrasonography and progesterone assay in cows". *J. Vet. Anim. Sci.* 29: 1311-1316; Turk.
- Mateus L.; L. Lopes da Costa, F. Bernardo y J. Robalo Silva (2002). "Influence of Puerperal Uterine Infection on Uterine Involution and Postpartum Ovarian Activity in Dairy Cows". *Reproduction in Domestic Animals*, 37: 31.
- Miyamoto, A.; K. Shirasuna, K.G. Kayashi, D. Kamada, E. Kanero, T.J. Acosta y M. Matsui (2006). "A potencial use of color ultrasound as a tool for reproductive management: New observations using color ultrasound scanning that were not possible with imaging only in black and white". *J. of Reproduction and Development*, 52 (1): 153-160.
- Nation, D. P.; J. Malmo, G. M. Davis y K. L. Macmillan (2003). "Accuracy of bovine pregnancy detection using transrectal ultrasonography at 28 to 35 days after insemination". *Aust. Vet. J.*, 81(1-2): 63-65.
- Pancarci, S. M. (1999). "Monitoring and comparing follicular and luteal function between genetically high and low producing dairy cows by ultrasonography". *J. of Veterinary and Animal Science*, 23: 141-147.
- Peters, M. W.; J. R. Pursley y G. W. Smith (2004). "Inhibition of intrafollicular PGE2 synthesis and ovulation following ultrasound-mediated intrafollicular injection of the selective cyclooxygenase-2 inhibitor NS-398 in cattle". *J. Anim. Sci.* 82: 1656-1662.
- Pierson, R. A. ; J. P. Kastelic y O. J. Ginther (1988). « Basic principles and techniques for transrectal ultrasonography in cattle and horses". *Theriogenology*, 29(1): 3-20.
- Pieterse, M. C.; K. A. Kappen., T. A. Kruij y M. A. Taverne (1988). "Aspiration of bovine oocytes during transvaginal ultrasound scanning guided follicular aspiration of bovine oocytes". *Theriogenology*, 35: 19-24.
- Pieterse, M.C. (1999). "Ultrasonido en la reproducción bovina: aplicaciones en diagnóstico y tratamiento". *Rev. Taurus* 1(1): 18-26.
- Quintela, L.A.; A.I. Peña, F. Barrio, C. Díaz y P.G. (2002). "Correlación entre el perfil sérico bioquímico y la producción lechera con la presencia de folículos quísticos en vacas holstein". *Arch. Zootec.* 51: 351-360.
- Ribadu, A.Y. y T. Nakao (1999). "Bovine Reproductive Ultrasonography: A Review". *J. Reprod. Dev.* 45: 13-28.
- Romano, J. E.; J. A. Thompson, D. W. Forrest, M. E. Westhusin, M. A. Tomaszewski y D. C. Kraemer (2006). "Early pregnancy diagnosis by transrectal ultrasonography in dairy cattle". *Theriogenology*, 66(4): 1034-1041.
- Ryan D.P.; H.F. Rodríguez., D.L. Thompson, A.M. Saxton y R.A. Godke (1992). "Luteal