

Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego
Warsaw University of Life Sciences

ISBN 978-83-930662-2-3

Problemy w rozrodzie bydła – aktualne poglądy

Problems in Bovine Reproduction
– Current Views

MONOGRAFIA – MONOGRAPH

redakcja: Zdzisław Gajewski, Edward Malinowski, Axel Wehrend

wydawca: Lecznica dużych zwierząt

WARSZAWA – 2011

Zastosowanie ultrasonografii w diagnostyce klinicznej układu rozrodczego u bydła

Zdzisław Gajewski¹, Małgorzata Domino¹, Bartosz Pawliński¹, Edward Malinowski²
Axel Wehrend³, Christian Hanzen⁴, Reiner Hospes³

¹Zakład Rozrodu Zwierząt, Andrologii i Biotechnologii Rozrodu, Katedra Chorób Dużych Zwierząt z Kliniką, SGGW w Warszawie, ul. Nowoursynowska 100, 02-797 Warszawa, ²Zakład Fizjopatologii Rozrodu i Gruczołu Mlekowego, Państwowy Instytut Weterynaryjny – PIB w Puławach, Oddział w Bydgoszczy, Al. Powstańców Wlkp. 10, 85-090 Bydgoszcz, ³Klinikum Veterinärmedizin Klinik für Geburtshilfe, Gynäkologie und Andrologie der Groß- und Kleintiere mit Tierärztlicher Ambulanz der Justus-Liebig-Universität Gießen, Frankfurter Straße 106, 35392 Gießen, ⁴Université de Liège, Faculté de Médecine Vétérinaire, Service de Theriogenologie des animaux de reproduction Bld. de Colonster, 20, Bât. B42, 4000 Liège, ³Klinikum Veterinärmedizin Klinik für Geburtshilfe, Gynäkologie und Andrologie der Groß- und Kleintiere mit Tierärztlicher Ambulanz der Justus-Liebig-Universität Gießen, Frankfurter Straße 106, 35392 Gießen

Summary

Real-time ultrasonography is an essential diagnostic tool in the bovine reproductive tract examination. It is a simple, reliably and non invasive imaging technique that provides information beyond transrectal palpation of the ovarian and the non pregnant as well as the pregnant uterus. The ultrasound examination admits of estimation the normal structures, anomalies and homodynamic changes in reproductive organs and the embryo and fetus development. To obtain a good quality and detailed images of the reproductive tract is preferred a 5.0 to 7.5 MHz probes. This paper has focused the principles of ultrasound imaging use in a cow's theriogenology.

Key words: ultrasonography, reproductive tract, cow

Wstęp

Klasyczną metodą rozpoznawania ciąży i zmian w obrębie układu rozrodczego u bydła jest badanie *per rectum*. Ta niekosztowna metoda jest możliwa do zastosowania pomiędzy 5-9 tygodniem ciąży. Wczesna diagnostyka ciąży możliwa jest również za pomocą badania poziomu progesteronu we krwi lub w mleku, test ten wykonuje się między 20-24 dniem po kryciu (inseminacji). Metoda ta jest bardziej skuteczna w stwierdzaniu braku ciąży niż jej obecności. Wynika to z faktu, iż wyniki negatywne są bardziej dokładne (57). Pewne zastosowanie znalazł również test oznaczania PAG (Pregnancy Associated Glycoprotein) (115), który daje możliwość diagnostyki ciąży od 35 dnia po kryciu.

Ultrasonografia znalazła duże zastosowanie w rozrodzie zwierząt, gdzie jest wykorzystywana m.in.:

– w codziennej praktyce lekarsko-weterynaryjnej w zakresie oceny jajników, kontroli ciąży, ustalania płci zarodków,

– w selekcji, przygotowaniu i kontroli dawców i biorców w biotechnicznych programach hodowli bydła, w metodzie „ovum pick up”,

– w badaniach naukowych dotyczących różnych problemów rozrodu.

Ultrasonografia jest badaniem nieinwazyjnym, pozwalającym na obserwację struktur organizmu w czasie rzeczywistym (daje dynamiczny obraz tkanek bez istotnych opóźnień czasowych oraz obraz nieruchomy przy użyciu funkcji zamrażania). Technika ta wymaga jednak dużego doświadczenia oraz dobrej znajomości anatomii poszczególnych struktur organizmu i ich obrazowania na monitorze przy zastosowaniu różnych rodzajów głowic diagnostycznych (6, 38, 63, 73, 75).

Nowoczesne urządzenia ultrasonograficzne mają zdolność wytwarzania obrazu o 16, a nawet 64, czy 128 odcieniach szarości i generują około 30 projekcji na sekundę, dzięki czemu tworzą ruchomą ekspozycję czasu rzeczywistego podobną w odbiorze do obrazu uzyskiwanego w rentgeno-

telewizji (87). Badania ginekologiczno-położnicze z użyciem USG umożliwiają precyzyjną diagnostykę schorzeń narządu rodnego i dróg rodnych oraz monitorowanie cyklu rujowego i ciąży. Metoda USG pozwala na uzyskanie informacji dotyczących charakterystyki tkanek, struktury topograficznej danego obszaru, charakteru przepływu krwi oraz ruchu określonych struktur organizmu. Można obrazować anatomiczną strukturę organu podczas analizy jego kolejnych przekrojów, monitorować ruchy płodów, falę perystaltyczną jelit lub pracę zastawek serca. Dzięki znajomości echogenności poszczególnych tkanek możliwa jest ich identyfikacja na ekranie. Fale dźwiękowe stosowane w ultrasonografii klinicznej mają częstotliwość od 1 do 10 MHz (105). Wybór częstotliwości zależy od badanego obszaru organizmu, głębokości badanych organów oraz jakości obrazu jaką chcemy uzyskać.

Dla uwidocznienia szczegółowej struktury narządów leżących blisko głowicy stosujemy częstotliwości 3,0-3,5 MHz; aby zaobserwować większy obszar lub cały narząd stosujemy mniej dokładne głowice 5,0-7,5 MHz, mające dużo większy zasięg.

Istnieją trzy rodzaje prezentacji (38, 105):

a) prezentacja A – fale powracające obrazowane są w postaci wykresu różnic ich amplitud. Powstaje wówczas obraz jednowymiarowy. Taki sposób przetwarzania danych wygodny jest w trakcie przeprowadzania bardzo precyzyjnych badań, np. narządu wzroku.

b) prezentacja B – różnice amplitud echa obrazowane są w postaci punktów o różnych stopniach szarości i tworzą na monitorze charakterystyczny dwuwymiarowy obraz topograficzny narządu lub zespołu narządów i tkanek.

c) prezentacja M – precyzyjnie odwzorowująca zmienność ruchu badanego narządu w czasie. Jest podstawową prezentacją w obrazowaniu czynności i struktur serca. (10, 73, 79, 110).

Podstawą działania ultrasonografu jest praca głowicy wykonanej z materiałów piezoelektrycznych (kryształów ferroelektrycznych – ceramików, polimerów). Przyłożone do piezoelektryków napięcie wywołuje mechaniczne drgania na ich powierzchni, co generuje falę akustyczną (ultradźwiękową) emitowaną przez głowicę. Fala odbita przez badane tkanki powraca w postaci echa ultradźwiękowego i wprowadza w drgania przetwor-

nikli głowicy, co indukuje na elektrodach zmienne pole elektryczne o natężeniu proporcjonalnym do amplitudy echa. Uzyskany sygnał jest przetwarzany na ekranie monitora i prezentowany w postaci świecących punktów w różnych stopniach szarości (10, 73, 79, 110). Nadal nie jest możliwe uzyskanie idealnego obrazu o dużym zasięgu i znacznej rozdzielczości. Uzyskanie wysokiej rozdzielczości i dokładności obrazu wymaga więcej czasu na przetworzenie, co niekorzystnie odbija się na możliwości obserwacji ruchu (93, 105, 113). Większa rozdzielczość wymaga podniesienia częstotliwości wysyłanych fal, tym samym uniemożliwiając obserwację struktur położonych głębiej.

Najczęściej stosuje się cztery rodzaje głowic systemu czasu rzeczywistego (93):

1. Głowicę linearną.
2. Fazową głowicę sektorową.
3. Mechaniczną głowicę sektorową.
4. Głowicę typu convex (wirujące koło).

Charakterystyczne dla wszystkich głowic sektorowych jest wytwarzanie obrazu o kształcie wycinka koła. Ponadto, w niektórych sytuacjach, stosowane są głowice specjalistyczne, jak np. głowica z torem wizyjnym stosowana podczas zabiegu ovum pick up.

W ocenie badania ultrasonograficznego, aby zwiększyć trafność diagnozy, należy uwzględnić ewentualność powstawania różnego rodzaju artefaktów. Pojawiają się one w obrazie USG jako echa od obiektów, które nie istnieją w rzeczywistości lub są odwzorowane w niewłaściwym położeniu, wymiarze, kształcie czy jaskrawości. Obecność artefaktów jest wynikiem fizycznych właściwości rozchodzenia się fal w tkankach (wielokrotne odbicie, załamanie fali, cień akustyczny) lub niewłaściwego ustawienia parametrów aparatu. Najwięcej artefaktów pojawia się w okolicy ograniczonych struktur wypełnionych płynem lub powietrzem. Do najczęściej obserwowanych artefaktów należą:

- pozorne zwiększenie echogenności tkanek o średniej gęstości, otaczających strukturę wypełnioną płynem,
- pozorne zwiększenie echogenności obszarów leżących pod strukturą wypełnioną płynem, a zmniejszenie echogenności obszarów leżących na drodze fragmentów wiązki,
- pozorne zwiększenie echogenności tkanek nad górną i dolną powierzchnią blastocysty – wy-

nik błąkania się refleksów powstałych podczas przechodzenia przez wiązkę granicy ośrodków o znacznej różnicy gęstości,

– interferencja fal ponad ośrodkami o znacznej gęstości, np. nad kręgosłupem płodu,

– brak ostrości obrazu przy obecności gazu w prostnicy i złym kontakcie głowicy ze ścianą prostnicy.

Artefakty charakteryzują się m.in. tym, że powstają w konkretnej odległości od struktury odbijającej oraz mają tendencję do stopniowego zmniejszania swojej intensywności. (73, 93, 105, 113)

Schemat i technika badania ultrasonograficznego w diagnostyce układu rozrodczego u bydła

W technikach rektalnego badania metodą USG narządu rodnego krów istotny wpływ mają: doświadczenie, wiedza i sprawność operatora ultrasonografu oraz jakość użytego sprzętu. Największe zastosowanie znajdują głowice liniowe o częstotliwości 5 MHz, rzadziej 7,5 do 10 MHz – stosowane do dokładnej oceny jajników i bardzo wczesnej ciąży. Głowice sektorowe i convexowe, ze względu na rozmiar, sprawiają trudności w manipulacji przezprostniczej i rzadko są wykorzystywane w diagnostyce układu rozrodczego krowy (26, 41).

Jakość obrazu podczas badania USG u krów zależy często od ich fazy cyklu (82). Czas przeznaczany na badanie ultrasonograficzne narządu rodnego krowy jest zwykle zbliżony do czasu rektalnego badania palpacyjnego. Przed badaniem należy opróżnić prostnicę z kału, zwłaszcza, gdy wykonujemy badanie wymagające szczególnej precyzji (wczesna diagnostyka ciąży, określanie płci płodu). W ocenie układu rozrodczego najważniejsze jest dokładne i systematyczne podejście do badania. Część lekarzy rozpoczyna badanie od łatwej do zlokalizowania szyjki macicy poprzez trzon, rogi, aż do jajników, które należy poddać wnikliwej analizie. Inni rozpoczynają badanie od jednego z jajników kierując się na wierzchołek rogu, róg i dalej przez trzon macicy przechodzą na drugi róg i jajnik. Zazwyczaj na końcu badania oceniana jest szyjka macicy i pochwa. Zaleca się za każdym razem powtarzanie tego samego, wybranego przez siebie, schematu badania. Głowica USG powinna być dokładnie i powoli przesuwana po grzbietowej powierzchni szyjki i trzonu narzą-

du, oglądając macicę w różnych planach, jednak tak, aby zachować ciągłość badania. Jajniki oceniamy ustawiając głowicę bocznie. Podczas badania była trudno uzyskać idealne obrazy przekrojów poprzecznych. Zwykle są one nieco skośne. Jednak, tak długo jak zachowujemy ciągłość, ułożenie sondy ma małe znaczenie.

Dla uzyskania lepszej jakości obrazu powierzchnia głowicy powinna znajdować się jak najbliżej ocenianego narządu. Wydaje się on wtedy większy i jest dokładnie uwidoczniiony (w odległości powyżej 8 cm traci się wiele szczegółów obrazu). Głowica powinna ściśle przylegać do ściany prostnicy, gdyż kał, gaz, palce badającego obecne na linii emisji ultradźwięków zaburzają uzyskiwany obraz. Również obracanie głowicą w celu uzyskania wielu przekrojów narządu daje lepszy wgląd w badaną strukturę, przy czym najbardziej wierny obraz daje środkowa część głowicy. Obraz z wierzchołka głowicy liniowej częściej zawiera artefakty. Nie bez znaczenia jest też właściwe ustawienie parametrów ultrasonografu jak i monitora, tak by był wystarczająco zacieniony (26, 41). W ultrasonografii można stosować specjalne techniki, takie jak badanie po podaniu środka cieniującego. Środek taki podawany jest doświadczalnie do pęcherzyków jajnikowych podczas laparotomii bocznej. Metoda pozwala na monitorowanie wzrostu pęcherzyków jajnikowych. Pod kontrolą głowicy ultrasonografu możliwe jest także wykonanie biopsji organów leżących w jamie brzusznej. Końcówka igły biopsyjnej jest widoczna na monitorze, jako struktura hyperechogenna. Możliwe jest również przeprowadzanie katetyzacji macicy w celu pobrania płynu obecnego w rogach i trzonie narządu. W chwili obecnej badania ultrasonograficzne stosowane są coraz powszechniej nie tylko w kontroli przebiegu ciąży, ale także w programie transferu zarodków i podczas monitorowania schorzeń narządu rodnego (38).

Badanie jajników metodą ultrasonograficzną

Jednym z istotnych zastosowań metody USG jest diagnostyka jajników. Badania te dokonuje się najczęściej drogą przezprostniczą oceniając palpacyjnie ich fakturę oraz obrazując strukturę za pomocą USG. Adaptowana z ginekologii ludzkiej metoda przezpochwowa może być stosowana dla lepszego uwidocznienia jajników. Metoda ta wymaga wprowadzenia do pochwy specjalnej

przewodnicy, przy jednoczesnym przytrzymywaniu jajnika drugą ręką drogą przezodbytniczą.

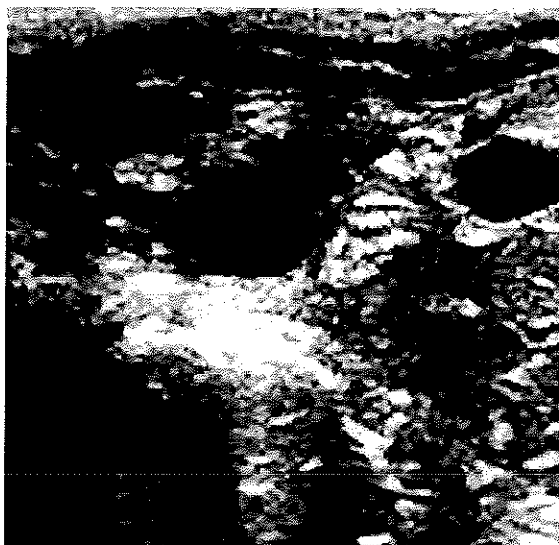
Diagnostyka jajnika obejmuje badanie poszczególnych struktur, procesów fizjologicznych i patologicznych na nim zachodzących. Wykonując badanie USG jajnika oceniamy: pęcherzyk, przebieg owulacji, ciało żółte, torbiele jajnika, guzy i nowotwory jajnika (38).

Pęcherzyki jajnikowe

W badaniu ultrasonograficznym pęcherzyki jajnikowe rozpoznawane są stosunkowo łatwo (28, 54, 79, 84, 85, 90, 96). Na monitorze są widoczne jako czarne strefy, mniej lub bardziej ograniczone, nieechogenne, o wielkości poniżej 25 mm, otoczone cienką ścianką. Badanie ultrasonograficzne pozwala na oszacowanie średnicy pęcherzyka na ok. 2-3 mm poniżej jego wielkości anatomicznej (92), ponieważ dokładnie obserwowana może być tylko jama pęcherzyka. Niektórzy autorzy (28, 79) utrzymują, iż pęcherzyki o średnicy 2 mm i więcej zaobserwować można za pomocą sondy o częstotliwości 5 Mhz, podczas gdy sonda o częstotliwości 3,5 Mhz pozwala dostrzec jedynie pęcherzyki o wielkości powyżej 6 mm. Inni przyjmują 5 mm za granicę wykrywalności pęcherzyków sondą 5 MHz, ponieważ pęcherzyki o wielkości od 2 do 4 mm można łatwo pomylić z naczyniami krwionośnymi (90). Umownie średnicę pęcherzyka ustala się umieszczając punkty pomiaru ultrasonograficznego na ściance wewnętrznej pęcherzyka. W ten sposób mierzymy jamę pęcherzyka, a nie sam pęcherzyk. Jeśli występuje więcej pęcherzyków, przyczyną ich nieregularnego kształtu jest ucisk pomiędzy pęcherzykami lub przylegającym ciałkiem żółtym, lub też brak widoczności ścianki pęcherzyka (79). W tym przypadku oblicza się średnią arytmetyczną ze zmierzonej najmniejszej i największej średnicy pęcherzyka (84). Pęcherzyki zaobserwować można w fazie estralnej cyklu lub w trakcie indukowanej owulacji (112). Badanie ultrasonograficzne jest metodą, która pozwala śledzić wzrost pęcherzyków w trakcie cyklu lub w początkowym okresie ciąży (32, 75, 80, 81, 84, 88) (ryc. 1, 2).

Rozwój falowy pęcherzyków i owulacja

Za pomocą metody USG można pośrednio oceniać owulację poprzez stwierdzenie zaniku pęcherzyka przedowulacyjnego lub gwałtowne zmniejszenie



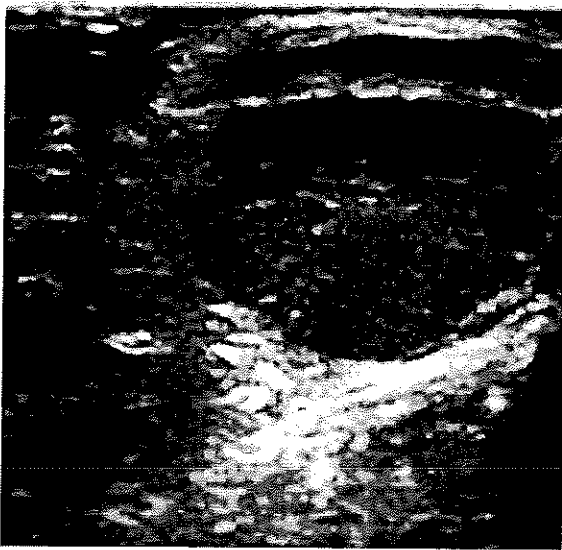
ryc. 1. Jajnik krowy z kilkoma pęcherzykami różnej wielkości.



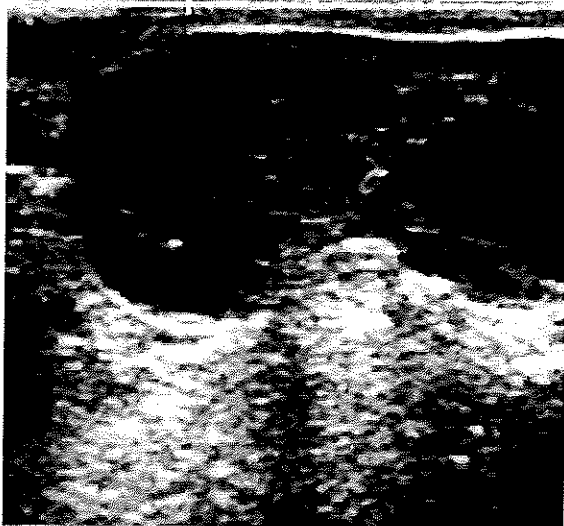
ryc. 2. Jajnik krowy z kilkoma rosnącymi pęcherzykami jajnikowymi. Jajniki wielkości: I – 26,5 mm, II – 44,1 mm.

szanie się jego średnicy (75, 84). Dzięki rozwojowi ultrasonografii i innych metod monitorowania, w ostatnich latach znacznie pogłębiono badania nad falowym rozwojem pęcherzyków jajnikowych i nad pęcherzykami dominującymi (5, 30, 47, 67, 83, 96, 101). W celu dokładnej oceny rozwoju pęcherzyka dominującego i fali wzrostu pęcherzyków niezbędne jest wielokrotne badanie USG.

Falowy wzrost pęcherzyków trwa u krowy nieprzerwanie podczas fazy pęcherzykowej i fazy ciała żółtego w cyklu rujowym, jak również podczas ciąży. Małe pęcherzyki zatokowe rosną z 1,5 mm do 3,8 mm w ciągu 30 dni, duże pęcherzyki rosną od 4 mm do 8 mm w ciągu mniej



ryc. 3. Jajnik krowy z widocznym ciałkiem żółtym.



ryc. 4. Jajnik krowy z widocznym ciałkiem żółtym jamistym (po lewej) oraz torbielą lutealną (po prawej).

niż 7 dni. Jednak tylko nieliczne fale wzrostowe są zakończone owulacją, większość prowadzi do atrezji pęcherzyków, co jest niezbędne do selekcji pęcherzyka dominującego w korelacji ze wzrostem stężenia FSH (104). Podczas cyklu rujowego rozwijają się zwykle dwie lub trzy fale wzrostowe pęcherzyków, przy czym z ostatniej wyselekcjonowany jest pęcherzyk dominujący (12-15 mm), który ulega owulacji (11, 12, 65, 104). Przewidywanie czasu owulacji jedynie na podstawie wielkości pęcherzyka dominującego może prowadzić do błędnych wyników. Zaleca się, aby moment owulacji szacować wraz ze zmianami zachodzącymi w pozostałych częściach układu rozrodczego (obecność ciałka żółtego, zmiany echogenności

ściany i tonusu macicy, obecność wydzieliny endometrialnej w świetle macicy, pojawienie się śluzu szyjkowego) oraz zmianami zachowania krwi (11, 26, 32, 109).

Wykonanie badania USG jest korzystne podczas indukcji superowulacji. Wykonanie badania pierwszego dnia stymulacji superowulacji pozwala na wykrycie obecnych w tym czasie małych (o średnicy 2 mm), niedojrzałych pęcherzyków oraz diagnozowanie torbieli jajnikowych u krów dawczyń. Częste badania w kolejnych dniach stymulacji pozwalają na dokładną ocenę rozwoju pęcherzyków dominujących i falowego wzrostu pęcherzyków. Zwłaszcza, że do wywołania superowulacji najlepszy jest wzrost kilku pęcherzyków równocześnie. Obecność dużej liczby dojrzałych pęcherzyków nie gwarantuje owulowania wszystkich, ale daje pewne pojęcie o zachodzących procesach (26, 32, 39, 78, 109).

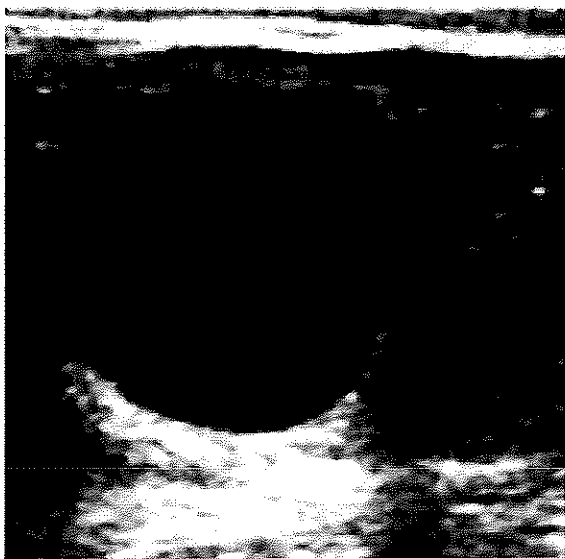
Pobieranie oocytów metodą przezpochwową

W późnych latach 80. XX wieku wykorzystano metodę ultrasonografii czasu rzeczywistego do pobierania oocytów (24, 89). Wynaleziono niechirurgiczną metodę pobierania oocytów przy pomocy 50-centymetrowej kalibrowanej (No. 17-18) igły wprowadzanej przez pochwę (24, 48, 70, 89). Gdy na monitorze ukaże się jajnik do pochwy wprowadzana jest igła okryta odpowiednią pochewką. W momencie dotarcia do pęcherzyka jajnikowego i przebicia jego ściany przez igłę zasysana jest zawartość pęcherzyka wraz z oocytom za pomocą aspiratora. Wtedy nieechogeny pęcherzyk znika z obrazu na monitorze. Następnie igłę przesuwa się do kolejnego pęcherzyka i powtarza wszystkie czynności. Około 60% pobranych oocytów przetrwa tę metodę pozyskiwania i posłuży do zapłodnienia *in vitro* (24, 48, 66, 70, 89).

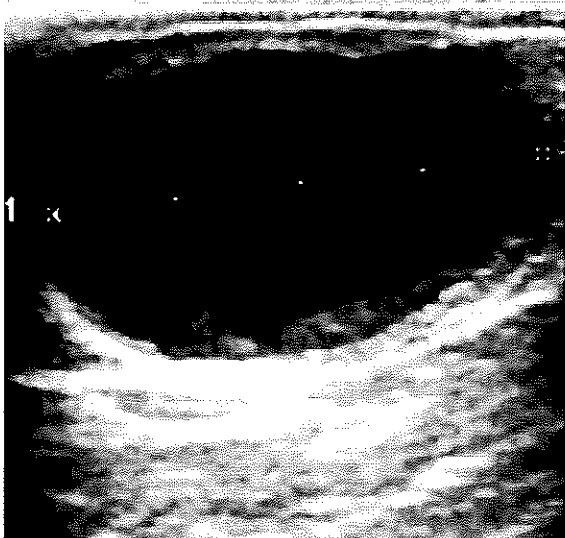
Ciałka żółte

W 3 lub 4 dniu po owulacji zidentyfikować można wyraźną strukturę lutealną (ciałko żółte krwotoczne), obrazowaną w formie nieechogenicznej strefy z kilkoma punktami hyperechogenicznymi, wyraźnie odróżniającą się od zrębu jajnika (28, 58, 79) (ryc. 3, 4).

Echogenność struktury lutealnej wzrasta w fazie diestralnej (65, 90). Ocena wieku ciałka żółtego może być pomocna w wyznaczaniu terminu synchronizacji rui (OvSynch) lub rozpoczęcia leczenia



ryc. 5. Jajnik krowy z widoczną torbielą pęcherzykową.



ryc. 6. Jajnik krowy z widoczną torbielą pęcherzykową wielkości 1-39,1 mm.

prostaglandyną. Ciało żółte pojawia się jako szara strefa, mniej lub bardziej echogenna, odwrotnie niż w przypadku nieechogenicznego pęcherzyka czy bardziej echogenicznej tkanki jajnika. Obecność ciała żółtego na prawym lub lewym jajniku daje wskazówkę badającemu, w którym rogu macicy powinien spodziewać się obecności zarodka/płodku podczas badania na ciążę (109). Ciało żółte, w czasie cyklu, rozpoznawalne jest zarówno w fazie regresji, jak i w okresie do około 1-3 dni po kolejnej owulacji (*corpus albicans*) (26, 58, 79, 102). W tym stadium cyklu obraz ciała żółtego nie różni się u zwierząt ciężarnych i nieciężarnych. Ultrasonografia umożliwia ocenę rozwoju tkanki lutealnej w trakcie cyklu, dzięki pomiarowi jej

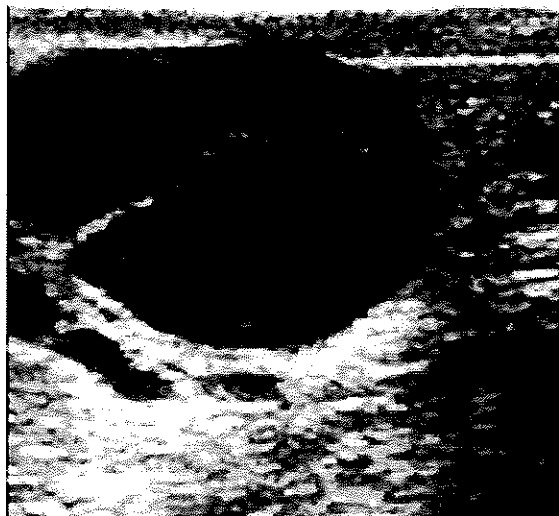
powierzchni. Istnieje ścisły związek pomiędzy powierzchnią tkanki lutealnej, a stężeniem progesteronu w surowicy krwi w pierwszej połowie cyklu, zarówno u zwierząt ciężarnych jak i nieciężarnych. W drugiej połowie cyklu zależność obserwuje się wyłącznie u zwierząt ciężarnych (11, 57).

Bardzo ważne jest właściwe różnicowanie ultrasonograficznego obrazu przypominającego ciało żółte. Przy nieuwważnym badaniu za ciało żółte można uznać łożyszcza, ropnie lub krwiaki jajnika, a nawet poprzeczny przekrój rogu macicy (26, 102, 109).

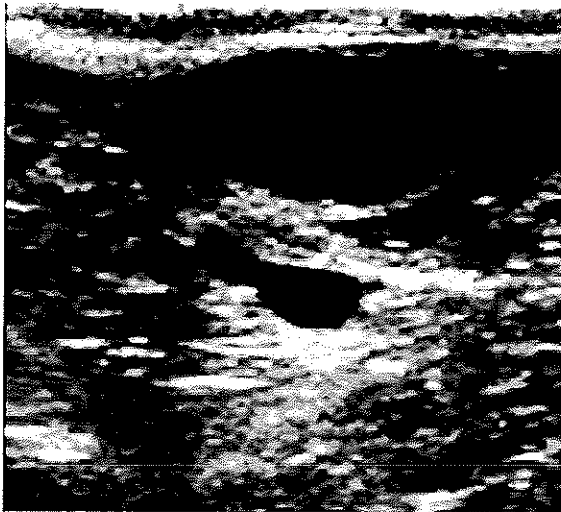
Torbiele jajnika

Torbiele jajnikowe są przyczyną zaburzeń płodności u bydła (40, 45). Częstotliwość ich występowania ocenia się między 3 a 29%, średnio 12% w okresie poporodowym (99). Badanie rektalne jajników pozwala rozpoznać torbiele jako pęcherzyki, których wymiary przekraczają 2,5 cm i/lub których obecność stwierdzana jest przez co najmniej jeden tydzień. Ścianki torbieli są obserwowane jako cienkie. Badania hormonalne wykazały, że w 23% pęcherzyków torbielowatych widoczne są ślady luteinizacji (torbiel pęcherzykowa złuteinizowana), która przyczynia się do powiększenia grubości ścianki torbieli (4, 40, 66, 71) (ryc. 5, 6).

W badaniu ultrasonograficznym torbiele pęcherzykowe dają taki sam obraz jak pęcherzyk, różniąc się od niego jedynie średnicą. Torbiele posiadają średnicę powyżej 25 mm, przy czym grubość ich ścianki zazwyczaj nie przekracza 5 mm. Ich kształt może być sferyczny, owalny lub wieloboczny (54).



ryc. 7. Jajnik krowy z widoczną torbielą pęcherzykową przed manualnym wygnieciem.



ryc. 8. Ten sam jajnik krowy z torbielą pęcherzykową po zabiegu manualnego wygniecenia.

Kształt sferyczny spotyka się najczęściej, gdy występuje tylko jedna torbiel. Torbiele pęcherzykowe nie są echogenne. (ryc. 7, 8).

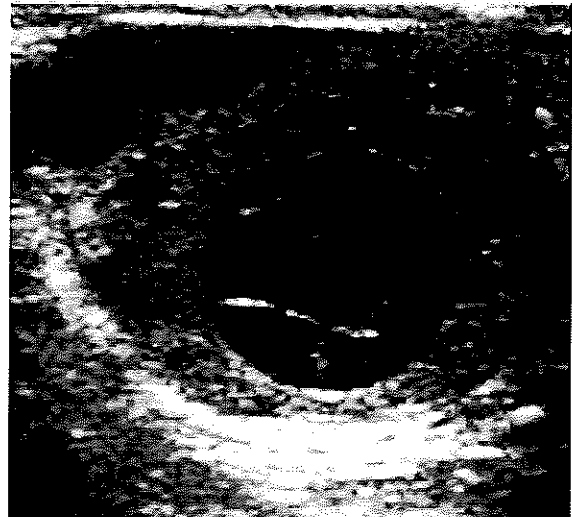
Tak, jak w przypadku pęcherzyków, w części brzusznej torbieli obserwować można strefę hyperechogenną (jest to na ogół artefakt). Torbiel pęcherzykowa złuteinizowana lub torbiel lutealna posiada w swej części obwodowej tkankę lutealną o grubości kilku mm (5 mm lub mniej), która otacza centralną jamę nieechogenną o średnicy równej lub większej 25 mm. W niektórych przypadkach jama ta bywa poprzecinana echogennymi beleczkami tkanki łącznej (66, 90) (ryc. 9, 10).

W odróżnieniu od innych torbieli jajnikowych, występowanie ciałek żółtych torbielowatych nie jest spowodowane brakiem owulacji. Rozpoznanie różnicowe pomiędzy ciałkiem żółtym torbielowatym a torbielą pęcherzykową złuteinizowaną opiera się na wielu elementach (54). Jama ciałka żółtego torbielowatego zazwyczaj nie przekracza 25-30 mm, przy czym grubość tkanki lutealnej obwodowej jest rzędu 5-10 mm. Jama centralna ciałka żółtego torbielowatego posiada formę owalną, w odróżnieniu od torbieli pęcherzykowej złuteinizowanej, która jest bardziej sferyczna. Jama torbieli pęcherzykowej złuteinizowanej częściej zawiera beleczki tkanki łącznej, a warstwa obwodowa tkanki lutealnej posiada bardziej nieregularną formę (90). Ponadto jama centralna ciałka żółtego torbielowatego ma tendencję do ustępowania w czasie od 10 do 15 dnia cyklu. Do tego czasu jamka w ciałku żółtym jest obserwowana u 30-50% krów. Ciałko żółte torbielowate (CCL) jest

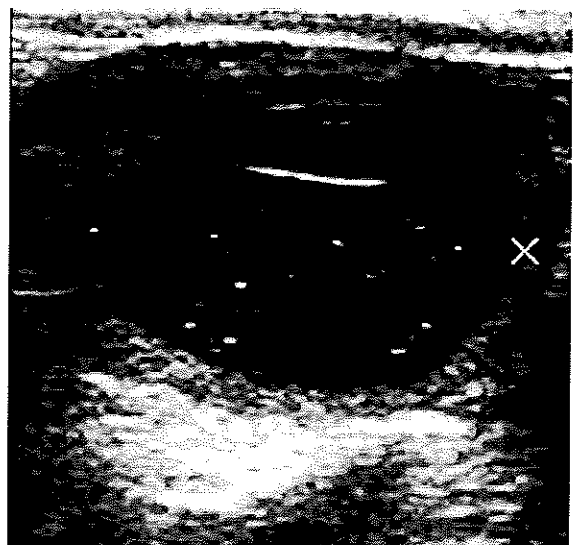
uznawane za strukturę prawidłową, produkującą normalną ilość progesteronu. W produkcji progesteronu istotna jest objętość tkanki lutealnej, nie zaś obecność czy też brak jamki. Obecność ciałka żółtego torbielowatego nie zmienia długości cyklu, jak również nie zmniejsza możliwości utrzymania ciąży. Sporadycznie CCL występuje u krów ciężarnych, a całkiem wyjątkowo powyżej 30 dnia ciąży (19, 26, 66, 69).

Nowotwory i guzy jajnika

Nowotwory i guzy jajnika występują stosunkowo rzadko u bydła, najczęstszym z nich jest guz z komórek ziarnistych jajnika (*Granulosa Cell Tumor*). Na ogół wykazują mieszaną echogenność w odróżnieniu od prawidłowej tkanki i doprowa-



ryc. 9. Jajnik krowy z widoczną torbielą lutealną.



ryc. 10. Jajnik krowy z widoczną torbielą lutealną wielkości 35,1 mm.

działają do jednostronnego powiększenia jajnika, większego niż 10 cm średnicy. Powierzchnia jajnika w badaniu rektalnym może być zarówno gładka, szorstka, jak i zrazikowa. Guzy są zazwyczaj wielotorbielowe i nieechogenne oraz bywają otorbione bardziej echogenną tkanką łączną (19, 48, 54, 78).

Brak aktywności jajników

Brak aktywności jajników jest związany z *anestrus*. Charakteryzuje się nieobecnością pęcherzyka dominującego, jak również ciała żółtego. W tym czasie na jajniku można zaobserwować jedynie małe pęcherzyki jajnikowe o średnicy mniejszej niż 4 mm. (19, 26, 29, 109).

Zastosowanie kolorowej ultrasonografii dopplerowskiej w monitorowaniu jajnikowego przepływu krwi

Kolorowa ultrasonografia dopplerowska jest nieinwazyjną metodą przydatną w ocenie funkcji naczyń jajnikowych poprzez obserwację przepływu krwi w ścianie pęcherzyka jajnikowego oraz wewnątrz ciała żółtego. Zmiany hemodynamiczne w obrębie jajnika są zaangażowane w okresową przebudowę tkanki jajnikowej podczas falowego wzrostu pęcherzyków, selekcji pęcherzyków dominujących, owulację oraz formowanie ciała żółtego (1, 2, 3, 26, 77).

Zjawisko Dopplera polega na zmianie częstotliwości i długości fali ultradźwiękowej podczas ruchu źródła fali względem odbiornika, przy czym zmiana częstotliwości fali jest proporcjonalna do prędkości poruszającego się źródła. Jego zastosowanie pozwala na rejestrację prędkości przepływów oraz analizę widmową uzyskanego sygnału. Daje to informacje o funkcjonowaniu i dynamice tkanek będących w ruchu (np. krwi). Sygnał dopplerowski jest sumą ech fali ultradźwiękowej rozproszonych na krwinkach będących w ruchu. Przy czym echom przypisywany jest kolor – zależnie od kierunku i prędkości przepływu. Echom dodatnim – przepływ w kierunku głowicy, odpowiada kolor czerwony, zaś echom ujemnym – przepływ w stronę przeciwną, odpowiada kolor niebieski (73).

Zmiany w zaopatrywaniu dojrzewających pęcherzyków w krew są bezpośrednio powiązane ze wzrostem, selekcją i atrezią pęcherzyków. Podczas falowego wzrostu pęcherzyków przepływ krwi jest notowany w ścianie pęcherzyków małych, pierwszego rzędu i drugiego rzędu do

momentu wyselekcjonowania pęcherzyka dominującego. Po selekcji, przepływ krwi pozostaje wykrywalny jedynie w ścianie pęcherzyka dominującego. W pęcherzyku przedowulacyjnym przepływy krwi gwałtownie wzrastają w bliskości piku LH i osiągają wartości maksymalne tuż przed owulacją. Podczas rozwoju ciała żółtego przepływy krwi towarzyszące ciałku krwotocznemu stopniowo rosną wraz ze wzrostem objętości ciała żółtego oraz stężenia progesteronu we krwi. Sugeruje się, że wielkość przepływów krwi jest mocno związana z możliwością produkcji progesteronu. Ponadto PGF 2a uwalniana z macicy, powoduje drastyczny wzrost przepływów krwi w tkance lutealnej, co jest kluczowe dla zapoczątkowania luteolizy (1, 2, 3, 26, 77).

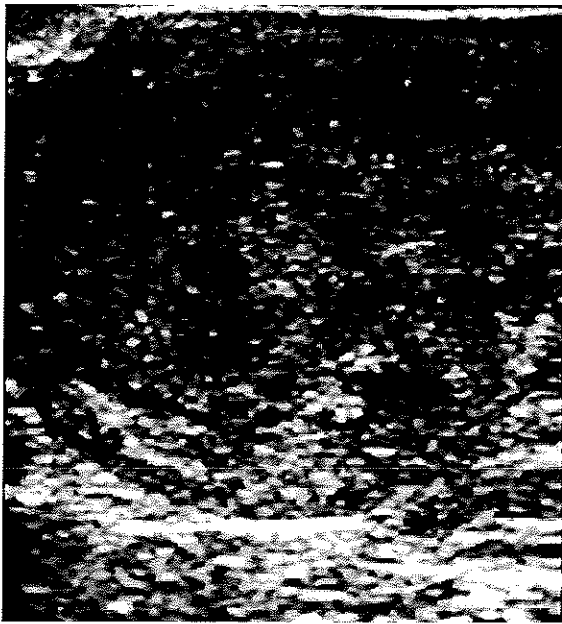
Badanie macicy metodą ultrasonograficzną

Metoda USG znalazła szerokie zastosowanie w diagnostyce klinicznej macicy. Ultrasonograficznie diagnozujemy macicę nieciążarną i ciężarną. W ramach diagnostyki USG dotyczącej macicy nieciążarnej zwraca się uwagę na elementy fizjologiczne i patologiczne (7, 26, 27, 41).

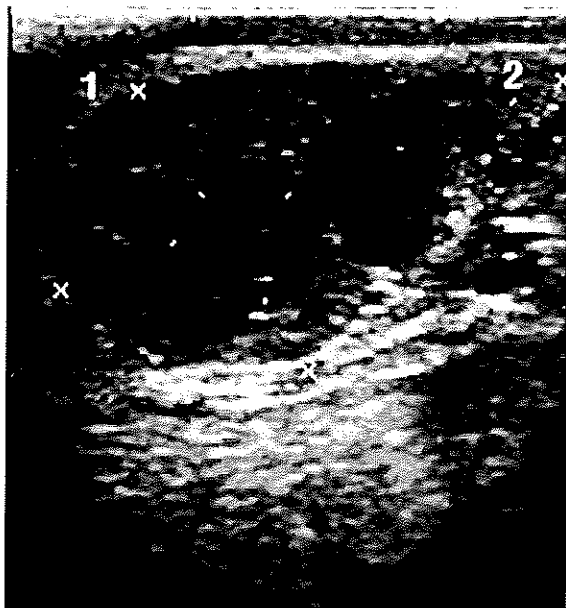
Macica nieciążarna

Badanie macicy przy użyciu sondy linearnej pozwala otrzymać podłużny obraz dwóch trzecich tylnych części lewego lub prawego rogu macicy oraz obraz poprzeczny części przedniej, której kształt jest bardziej spiralny. Otrzymane w badaniu ultrasonograficznym obrazy ulegają zmianom w czasie trwania cyklu (31, 88). Grubość ściany trzonu macicy powiększa się na 3 lub 4 dzień przed owulacją, tzn. w 17 dniu cyklu, po czym zmniejsza się, począwszy od dnia poprzedzającego owulację aż do 3 dnia następnego cyklu, pozostając bez zmian w okresie diestralnym. W fazie *proestrus* echostruktura ścianki macicy jest bardziej jednolita niż obserwowana w fazie *diestrus*, co jest następstwem zwiększonego unaczynienia i obrzęku rogów macicy (ryc. 11 i 12). Ilość płynu w macicy i pochwie wzrasta pomiędzy 17 a 18 dniem cyklu. W fazie *diestrus* błona śluzowa macicy jest zwykle mniej echogenna niż błona mięśniowa (14, 27, 31).

Różnicowanie ultrasonograficzne błony śluzowej i błony mięśniowej macicy możliwe jest również w okresie *inwolucji* macicy (74). Przy braku komplikacji (zatrzymanie błon płodowych, *metritis*, *endometritis*, torbiele jajnikowe) macica krowy



ryc. 11. Przekrój poprzeczny przez róg macicy krowy w proestrus.



ryc. 12. Jajnik tej samej krowy, o wymiarach I – 26,5 mm, II – 44,1 mm, w proestrus, z widocznymi rosnącymi pęcherzykami jajnikowymi.

zakończą inwolucję średnio 23 dnia u pierworódek oraz 27 dnia u wieloródek, a najpóźniej do 42 dnia po porodzie. W pierwszych dniach po porodzie, w obrazie USG pogrubiały róg macicy wygląda na obrzęknięty manifestując niejednorodną echogenność oraz obecność płynu w świetle macicy. Z czasem dochodzi do zmniejszenia średnicy rogu oraz ilości płynu w świetle macicy. Pogrubiałe endometrium i mniej rozbudowane myometrium (bardziej echogenne) stopniowo powraca do grubości właściwej dla rogu nieciążarnej (7, 26).

Głównymi stanami patologicznymi macicy nieciążarnej są problemy infekcyjne – ostre poporodowe *metritis*, *endometritis*, *pyometritis* oraz ropnie, rzadziej problemy sprawiają stany nieinfekcyjne – *mycometra*, *hydrometra*, *pneumometra* oraz *limfosarcoma*. Badanie ultrasonograficzne jest przydatne w różnicowaniu stanów patologicznych, jakkolwiek wartość rutynowego badania poporodowego krowy jest dyskusyjna, ze względu na indukowane koszty niewspółmierne do niewielkich korzyści, jakie wnosi. Zazwyczaj badanie poporodowe krów w stadzie ogranicza się do sztuk, u których wystąpiły problemy przy porodzie, jak zatrzymanie błon płodowych, poporodowe *metritis* bądź zaburzenia metaboliczne (7, 14, 26).

We wczesnym okresie poporodowym (pierwszych 10 dni) nie występują istotne różnice w ultrasonograficznym obrazie macicy fizjologicznej i patologicznej. Przy podejrzeniu infekcji macicy miarodajny obraz można uzyskać po 10 dniu po porodzie, a po 15 dniu badanie jajników może uwidoczniać ciało żółte, przy obecności którego podanie PGF_{2α} może zwiększyć efektywność leczenia stanów zapalnych macicy (27, 42).

Zapalenie błony śluzowej macicy rozpoznaje się zazwyczaj za pomocą USG poprzez uwidocznienie obecności płynnej zawartości w jamie macicy zawierającej zawieszone cząsteczki echogenne (efekt płatków śniegu) oraz pogrubienia błony śluzowej. Dokładność rozpoznania uzależniona jest od ilości płynu znajdującego się w jamie macicy, a więc od stopnia *endometritis* (54). W przypadku *metritis* proces zapalny obejmuje zarówno błonę śluzową jak i mięśniową, przez co obydwie są pogrubiałe (7, 26).

Przy pyometrze, mukometrze i hydrometrze, ilość płynu zwiększa się (31). Duża ilość niejednorodnie echogenicznego płynu, który przy baltowaniu wypełnionej macicy daje efekt płatków śniegu jest charakterystyczna dla pyometry. Towarzyszy jej, podobnie jak przy *endometritis*, pogrubienie ścian macicy, przy czym średnica światła macicy powiększa się zwykle do 5-20 cm (26, 29).

Zastosowanie kolorowej ultrasonografii dopplerowskiej w monitorowaniu macicznego przepływu krwi

W badaniu przezprostopadym, za pomocą ultrasonografu dopplerowskiego, można oceniać dynamikę przepływu krwi w obydwu tę-

nicach macicznych. Oceniane parametry, to: maksymalna prędkość przepływu uśredniona w czasie (TAMV), wskaźnik oporności (RI) oraz współczynnik pulsacji (PI). Z powodu ograniczonej wielkości tętnicy macicznej wiarygodny pomiar pola przekroju naczynia nie jest możliwy, dlatego pomiar przepływów u krwi w cyklu może być obarczony błędem. W czasie cyklu, TAMV jest związana ze stężeniem estrogenów we krwi i przyjmuje najwyższe wartości w proestrus i estrus, aby spaść we wczesnym diestrus. Podczas pierwszych trzech tygodni ciąży zaopatrzenie macicy w krew jest porównywalne z przepływami krwi podczas cyklu. Dlatego zastosowanie USG dopplerowskiego nie jest przydatne we wczesnej diagnostyce ciąży (13, 26, 49, 76).

Macica ciężarna

Zastosowaniu metody USG w diagnostyce ciąży jest poświęconych wiele publikacji (20, 43, 51, 91, 103, 106, 108). Technika ta posłużyła również do określenia morfologii zarodka (21, 22, 53, 55, 56), wieku płodu (50, 106), jego płci (24, 72) oraz struktur normalnych i patologicznych macicy. W badaniu USG macicy ciężarnej, ocenie podlega m.in.: pęcherzyk zarodkowy, zarodek, jego wielkość i kształt oraz wiek, łożysko, rozwój poszczególnych struktur anatomicznych płodu, płeć płodu, zmiany położenia płodu (54, 81, 83, 90, 94, 98).

Pęcherzyk zarodkowy

Pęcherzyk zarodkowy u bydła stwierdzić można za pomocą sondy 7,5 MHz już w dziewiątym dniu licząc od dnia owulacji (16), a od dwunastego dnia – przy użyciu sondy 5 MHz. Zarodek ukazuje się wtedy w formie echogenicznej strefy o wymiarach 2 mm x 7 do 12 mm. Jego kształt na ogół jest sferyczny lub owalny (21, 83). Badanie ultrasonograficzne wykonywane w tym stadium nie jest wystarczająco dokładne, by móc je stosować w sposób rutynowy (59, 60). Badania (60) wykazały, że okrągłe strefy nieechogeniczne pojawiają się pomiędzy 10 a 14 dniem po inseminacji zarówno u zwierząt ciężarnych, jak i nieciężarnych. Niemniej, stref nieechogenicznych jest więcej u krów ciężarnych niż u krów nieciężarnych. W obydwu przypadkach ilość stref zmniejsza się w czasie następujących dni. Średnica pęcherzyka zarodkowego pozostaje niezmienna pomiędzy 12 a 20 dniem ciąży (średnio wynosi od 2 do 4 mm), podczas gdy

on sam ulega znacznemu wydłużeniu (83). Obserwuje się duże zróżnicowanie stopnia wydłużenia pęcherzyka zarodkowego, który w 16 dniu ciąży może mierzyć od 70 do 240 mm długości. Wydłużenie jest konieczne dla zwiększenia powierzchni kontaktu pomiędzy pęcherzykiem zarodkowym a błoną śluzową.

Zarodek

Okres zarodkowy trwa od zapłodnienia do zakończenia organogenezy w 42 dniu ciąży, jednak rozwój narządów płodu odbywa się wcześniej niż możemy to zobrazować za pomocą głowicy ultrasonografu. Typowy obraz płodu jest możliwy do uwidocznienia dopiero po 55 dniu ciąży, kiedy to badane struktury osiągają odpowiednią wielkość dla miarodajnej oceny prawidłowości rozwoju płodu (26, 64).

Za pomocą metody ultrasonograficznej, przy badaniu sondą 5 MHz, zarodek wykrywany jest najczęściej ok. 20 dnia ciąży (21). Widoczny jest w formie linii bardziej echogenicznej, o długości ok. 4 mm. Jednakże wykrycie go jest zwykle skuteczne dopiero ok. 28 dnia ciąży (31, 83, 94). Pierwsze uderzenia serca wykrywane są ok. 25 dnia ciąży (22). Uwidocznienie akcji serca stanowi ważny element przy określaniu żywotności zarodka czy płodu. Pomędzy 22 a 30 dniem zarodek przyjmuje kształt litery C, co powodowane jest wygięciem się jego części przednich i tylnych. 26 dnia zarodek



ryc. 13. Obraz macicy krowy ok. 21 dnia ciąży.



ryc. 14. Obraz macicy krowy ok. 29 dnia ciąży.

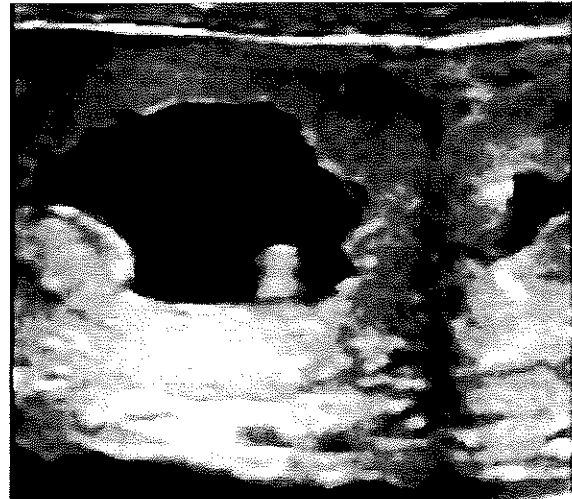
mierzy już 7-8 mm długości i do 50 dnia ciąży rośnie średnio 1,1 mm dziennie (26, 64) (ryc.13 i 14).

W następnym tygodniu, na skutek wydłużenia szyi i wyprostowania głowy zarodka, przybiera on kształt litery L (17, 22). W kolejnych tygodniach zaobserwować można za pomocą ultrasonografu różne zmiany w zarodku, płodzie i błonach płodowych (22, 53, 55) (ryc. 15, 16).

Ustalanie wielkości i wieku zarodka

Ocena wielkości zarodka jest bardzo pomocna w określaniu wieku ciąży. W drugim i trzecim miesiącu ciąży wielkość zarodka, szacowana na podstawie odległości pomiędzy podstawą głowy a nasadą ogona, systematycznie wzrasta, odpowiednio ok. 1,1-1,4 mm oraz 2,5-3 mm dziennie (50, 53, 56, 79). Wiele publikacji poświęcono zagadnieniu ustalania wielkości zarodka na podstawie pomiaru jego struktur anatomicznych (22, 53, 106). Jako klasyczny przyjmuje się pomiar odległości pomiędzy podstawą głowy a przyczepem ogona. Odległość ta wynosi ok. 15 mm w 35 dniu, 28 mm w 45 dniu oraz 48 mm w 55 dniu ciąży. Około 45 dnia ciąży u zarodka można zaobserwować liczne ruchy rozciągające i wyginające, co stanowi dodatkową trudność w dokonywaniu pomiaru (116). Pomiar tego parametru jest ograniczony, z jednej strony głębokością penetracji fali ultradźwiękowej, z drugiej – niemożnością uwidocznienia płodu o wielkości przekraczającej 10 mm. W ten sposób parametr może być mierzony tylko do 70 dnia ciąży.

Poza pomiarem wielkości, przy ocenie prawidłowości rozwoju zarodka i dalej płodu do 55 dnia ciąży, zwraca się uwagę na pracę serca i ruchy płodu oraz występujący charakter wód płodowych. Bicie serca zarodka zaczyna być widoczne około 25 dnia ciąży, jako pulsujący, jasny punkt usytuowany centralnie w ciele zarodka. Częstotliwość pracy serca może stanowić podstawę do szacowania wieku zarodka. Rozpoczynając od 140-150 uderzeń/min. w 25 dniu ciąży, stopniowo zwiększa się do 170-180 uderzeń/min. między 35 a 45 dniem ciąży i dalej do 180-200 uderzeń/min. od 50 dnia ciąży. Pierwsze ruchy płodu można zaobserwować 45 dnia ciąży. W trzecim miesiącu ciąży ruchy płodu nasilają się, co jest związane ze zmianą przodowania, postawy oraz położenia płodu. Wreszcie należy zwrócić uwagę na klarowność



ryc. 15. Obraz macicy krowy w 32 dniu ciąży.



ryc. 16. Obraz macicy krowy w 37 dniu ciąży.

wód płodowych otaczających zarodek lub płód. Wody płodowe prawidłowo rozwijającego się zarodka są przejrzyste i nieechogeniczne (18, 26).

Łożysko

Owodnia rozpoznawalna jest dopiero ok. 30-32 dnia ciąży (31, 83, 95). Płyn owodniowy w czasie pierwszych dwóch miesięcy ciąży jest nieechogeniczny. Strefy bardziej echogenne uwidaczniają się nie wcześniej niż pod koniec drugiego miesiąca, a ich echogenność staje się coraz bardziej wyraźna. Omocznia, w przeciwieństwie do owodni, przez pierwszą połowę ciąży pozostaje nieechogeniczna, po czym jej echogenność wzrasta od 6 miesiąca ciąży. Łożyszcza w 35 dniu ciąży posiadają średnio 6 mm długości i 2 mm grubości. Mają postać małych zgrubień w ścianie macicy i są widoczne na obrazie USG. Wraz z rozwojem ciąży ich wielkość wzrasta (31, 83, 95, 97).

Wykrywanie i monitorowanie ciąż mnogich

Występowanie ciąż bliźniaczych szacuje się na ok. 10% ciąż u bydła mlecznego, przy dodatniej zależności pomiędzy wydajnością mleczną, a ciążami mnogimi. U bydła mięsnego ciąż bliźniacze zdarzają się rzadziej (26, 68). Wykrycie ciąży mnogiej u krowy, zarówno tradycyjną metodą palpacji *per rectum*, jak również za pomocą rektalnego badania ultrasonograficznego, jest dość trudne ze względu na to, że pęcherzyk zarodkowy jest zwykle wydłużony i nie przybiera kształtu właściwego dla pojedynczej lub bliźniaczej ciąży. Jedynie u 50% krów z dwoma ciałkami żółtymi na jajnikach stwierdza się ciążę bliźniaczą. Podczas badania ultrasonograficznego ciężarnej macicy doświadczony lekarz może stwierdzić zwiększoną ilość wód i błon płodowych w stosunku do ciąży pojedynczej. Wspólny dla dwóch zarodków fragment kosmówkoomocznicy może być widoczny w postaci linii bliźniaczej, oddzielającej dwa zarodki. Linia bliźniacza nie zawsze jest widoczna, jednak jej stwierdzenie jednoznacznie wskazuje obecność bliźniąt (26, 68).

Zdarza się, że podczas transferu zarodków do jednej biorczyzny przeniesione zostaną bliźnięta. Po 60 dniu ciąży, krytycznym dla utrzymania ciąży bliźniaczej, wykonywane jest kontrolne badanie USG mające na celu ustalenie płci zarodków bliźniaczych. Jeżeli jeden płód jest płci męskiej lub, gdy płód płci męskiej obumarł po okresie zarodkowym, istnieje ryzyko frymartyzmu.

Ciąża bliźniacza predysponuje krowy do poronień, trudnych porodów oraz zaburzeń poporodowych (zatrzymanie błon płodowych, zapalenie macicy, przemieszczenie trawieńca, ketozy, stłuszczenia wątroby). Zaleca się uważną obserwację krowy podczas ciąży oraz okresu poporodowego (26, 68).

Diagnostyka ultrasonograficzna ciąży

Głównym celem wszystkich metod diagnostyki ciąży jest wczesne rozpoznanie zwierząt nieciężarnych. Zmaksymalizowanie stopnia dokładności badań, pozwala uniknąć przerywania ciąży czy też brakowania zwierząt uznanych za nieciężarne. Wiele publikacji zostało poświęconych diagnostyce ciąży metodą ultrasonograficzną (8, 20, 46, 51, 59, 103, 106, 108). Metoda okazuje się bardziej przydatna do wykrycia zwierząt ciężarnych, niż nieciężarnych. Stopień dokładności w przypadku stwierdzenia ciąży jest większy, niż w przypadku braku ciąży (33, 44).

Diagnostyka ultrasonograficzna wczesnej ciąży

We wczesnych stadiach ciąży jama macicy zawiera różną ilość nieechogenicznego płynu produkowanego przez zarodek. Ilość płynu zależy zarówno od długości trwania ciąży, jak i od osobniczych uwarunkowań ciężarnej krowy, m.in. od wielkości narządu rodowego. Dla przykładu, ciąża u pierwiastki może zostać wykryta już 12 dnia (86), natomiast z potwierdzeniem diagnozy ciąży u krowy wieloródki należy poczekać do około 25 dnia (52, 64). Niektórzy autorzy (100) postulują wykonywanie badań u krów wieloródek dopiero 27 dnia ze względu na: a) niewielką (czasem) ilość płynu produkowaną przez zarodek, b) dużą objętość macicy w stosunku do rozwijającego się pęcherzyka zarodkowego, c) mały odsetek diagnoz niepewnych, wymagających powtórnego badania. W każdym przypadku diagnozę można także potwierdzić badaniem jajników. Na jednym z nich będzie można zaobserwować rozwinięte ciałko żółte ciążowe. Ze względu na różny kształt, jaki przybiera róg ciężarny macicy, zaleca się badanie narządu podłużnie oraz poprzecznie. Poprzeczna projekcja nie pozwala czasem na potwierdzenie istnienia ciąży ze względu na spłaszczenie często owalnego światła narządu. Przyjęło się sądzić, że manipulacja *per rectum* narządem rodowym krowy przed badaniem USG potwierdzającym obecność

tab. 1. Porównanie wyników diagnostyki ciąży metodą ultrasonografii (sonda 5 MHz)				
stadium ciąży (dni)			27-35	>35
USG	badanie rektalne	wynik	liczba uzyskanych wyników	
+	+	a	120	210
+	-	b	46	16
-	+	c	11	7
-	-	d	86	56
liczba badań			263	289
liczba zwierząt			263	289
czułość			92	97
swoistość			65	77
pozytywna wartość prognostyczna			72	92
negatywna wartość prognostyczna			88	89

płodu jest niewskazana, jednakże nowsze badania (100) wskazują na dużą przydatność takiego działania, szczególnie w przypadku zwierząt, u których rogi macicy i jajniki mają tendencję do wsuwania się pod więzadło szerokie macicy. Manipulacja palcami pozwala na ułożenie narządu w taki sposób, aby umożliwić odpowiednie ułożenie na nim głowicy ultrasonografu (tab. 1).

W analizie wyników badań ultrasonograficznych zastosowanie znajdują 4 kryteria, do których zalicza się: czułość (precyzyjność), swoistość (specyficzność), stopień dokładności (pozytywna wartość prognostyczna i negatywna wartość prognostyczna):

	zwierzęta	
	ciężarne (+)	nieciążarne (-)
diagnoza (+)	a	b
diagnoza (-)	c	d

Sytuacja a: wynik diagnozy ciąży prawidłowy – prawdziwie pozytywna.

Sytuacja b: wynik diagnozy ciąży nieprawidłowy – fałszywie pozytywny.

Sytuacja c: wynik diagnozy braku ciąży nieprawidłowy – fałszywie negatywny.

Sytuacja d: wynik diagnozy braku ciąży prawidłowy – prawdziwie negatywna.

Czułość metody (sensitivity) – określa zdolność wykrycia zwierząt pozytywnych (np. ciężarnych)

poprzez stosunek $a/a+c$. Wyraża procent zwierząt ciężarnych spośród wszystkich ciężarnych badanych daną metodą. Swoistość metody (specyfity) – określa możliwość wykrycia zwierząt negatywnych (np. nieciążarnych) poprzez relację $d/b+d$. Stosunek ten wyraża procent stwierdzonych zwierząt nieciążarnych spośród badanych zwierząt nieciążarnych. Stopień dokładności metody (+ lub -) jest wartością prognostyczną. Stopień dokładności badania ciąży określa relacja $a/a+b$. Stosunek $d/c+d$ daje obraz o zwierzętach nieciążarnych. Relacje te wyrażają prawdopodobieństwo postawionej diagnozy jako zgodnej lub niezgodnej. Należy zwrócić uwagę na istniejące różnice między nową metodą a stopniem dokładności diagnoz pozytywnych. W przypadku ciąży, im stadium zaawansowania niższe, tym dokładność diagnozy mniejsza (34, 64).

Interpretacja wyników diagnostyki ciąży

Interpretacja wyników diagnostyki ciąży zależy od tego, w jakim stadium ciąży została ona dokonana, ponadto od częstotliwości obumierania zarodków, częstości emisji sondy, ustalonych kryteriów diagnostycznych oraz od wieku zwierzęcia. Porównanie wyników diagnostyki ciąży i braku ciąży dokonanych przed i po 35 dniu ciąży pozwala stwierdzić, iż czułość tej metody zwiększa się w drugiej połowie o 47%, przy utrzymaniu jej specyficzności. Specyficzność metody jest zazwy-

czaj większa przed 35 dniem. Po 35 dniu czułość metody jest większa niż jej specyficzność. Słaba czułość diagnostyki ciąży metodą ultrasonografii dokonanej przed 35 dniem tłumaczy się dużą liczbą fałszywych diagnoz, jakie przypadają na to stadium ciąży (34, 44).

Diagnostyka ciąży opiera się w głównej mierze na ustaleniu zmian w macicy. Zależy więc ona od wielkości zmian związanych ze stanem ciąży, ale także od możliwości uwidocznienia tych zmian. Ważnym czynnikiem jest zatem częstość emisji sondy. Specyficzność diagnostyki ultrasonograficznej, jak również współczynnik przewidywalności uwarunkowane są wieloma czynnikami. Obecność płynów macicznych może być oznaką okresu rui zwierzęcia, bądź też zdradza stan patologiczny macicy (59, 86). W przypadku wątpliwości warto sprawdzić za pomocą ultrasonografu charakter czynnościowy ciała żółtego oraz ewentualną obecność pęcherzyka (34, 59). Specyficzność metody można podnieść poprzez systematyczne badanie zarodka, który przy użyciu sondy 5 MHz zwykle wykrywalny jest ok. 28 dnia ciąży (31, 83, 94). Niemniej, w ten sposób czas badania ulega wydłużeniu. Częstotliwość umieralności zarodków może mieć wpływ na stopień dokładności diagnostyki dokonanej za pomocą ultrasonografu. Badania Hanzena i Laurenta (46) wykazały, że w okresie pomiędzy 28 i 59 dniem ciąży umieralność zarodków wynosi 9%. Najczęstszą oznaką śmierci zarodka jest zanik akcji serca (22, 54, 83), który zwykle poprzedzony jest zmniejszeniem jej częstotliwości. Umieralność wtórna zarodków spowodowana jest luteolizą i charakteryzuje się nagłym wydalaniem zarodka i jego osłon. W przypadku umieralności pierwotnej, ciało żółte utrzymuje się, natomiast zarodek wykazuje oznaki zwyrodnienia, zaś płyny zatrzymane są w macicy przez 4 do 5 tygodni. Niemniej, w obydwu przypadkach zarówno zarodek, jak i jego osłony częściej wydalone są poprzez szyjkę macicy niż wchłaniane (61). Wiek zwierzęcia nie ma żadnego wpływu na skuteczność metody. Nie stwierdzono żadnej znaczącej różnicy w specyficzności i czułości metody zarówno u krowy, jak i u jałówki (9, 46). Inni autorzy (50) zaobserwowali jednak zmniejszanie się dokładności diagnostyki w stosunku do wieku. Nie wydaje się, by na dokładność wyników miały wpływ takie czynniki, jak wielkość zmian ciążyowych w stosunku do

rogów macicy, trudne warunki badania, czy też częstotliwość patologii macicy, które u krowy są częściej spotykane.

Patologia ciąży.

Diagnostyka obumierania zarodków

Jako wczesne obumarcie zarodka rozumie się okres obejmujący rozwój zarodkowy, tzn. okres do zakończenia organogenezy (42 dzień ciąży). Śmierć zarodka w tym okresie może być spowodowana m.in. przez: niewłaściwe żywienie, choroby zakaźne (8, 15, 35, 36, 111, 114). Większość przypadków zamierania zarodków występuje do 25 dnia ciąży, okres między 25 a 42 dniem ciąży jest krytyczny dla właściwego połączenia błon płodowych ze ścianą macicy (26, 35, 36).

Nie jest możliwe diagnozowanie tego stanu palpacją *per rectum* (62). Jest to spowodowane obecnością pęcherzyka płodowego wypełnionego płynem, sugerującego istnienie prawidłowo rozwijającej się ciąży. Z użyciem USG tak wczesna diagnoza jest możliwa (31). Badanie przeprowadzane jest około 25-30 dnia, kiedy możemy spodziewać się znalezienia bijącego serca płodu. W tym okresie jest już także możliwe odróżnienie błon płodowych od ściany macicy oraz echogenych części obumarłej tkanki płodowej pływającej w klarownym płynie zarodkowym, od żywego zarodka rozwijającego się w pęcherzyku płodowym.

Po zakończeniu organogenezy utrata ciąży określana jest jako zamieranie czy też śmiertelność płodów. Obumarcia płodu diagnozuje się często przy okazji badania płci. W obrazie USG można stwierdzić brak widocznego bicia serca, zmiany degeneracyjne płodu wraz z gromadzeniem się szczątków płodu w płynie owodniowym. Wokół martwego płodu owodnia oraz łożyszcza stają się nieregularne i hyperechogeniczne. W późniejszych stadiach obumierania obraz płodu może być rozproszony lub niewidoczny (26, 37).

W przypadku maceracji płodu zaobserwować można wyraźne pogrubienie ściany macicy oraz obecność hyperechogenych struktur (54). Nie zawsze widoczny jest sam płód (31). Obecność płodu zmacerowanego wykryć można dzięki różnej echogenności płynów omocznego i owodniowego. Płyn omoczniowy najczęściej nie jest echogeny, podczas gdy owodniowy zawiera cząsteczki różnej echogenności, powstałe z rozkładającego się płodu (31, 54).

Wykorzystanie metody ultrasonografii do pobierania płynów z błon płodowych

Pobieranie płynu owodniowego i omocznio-
wego uzasadnione jest w przypadku konieczności ustalenia płci płodu oraz badania fizjopatologii ciąży. Została opisana metoda ultrasonograficzna, podobna do tej, jaką stosuje się przy nakłuciach pęcherzyków jajnikowych (87). Pobranie płynu omocznioowego lub owodniowego możliwe jest odpowiednio od 32 i 44 dnia ciąży. Należy jednak wziąć pod uwagę, iż istnieje niebezpieczeństwo śmierci wtórnej płodu w następstwie zakażenia bakteryjnego lub nieodpowiedniej manipulacji macicy.

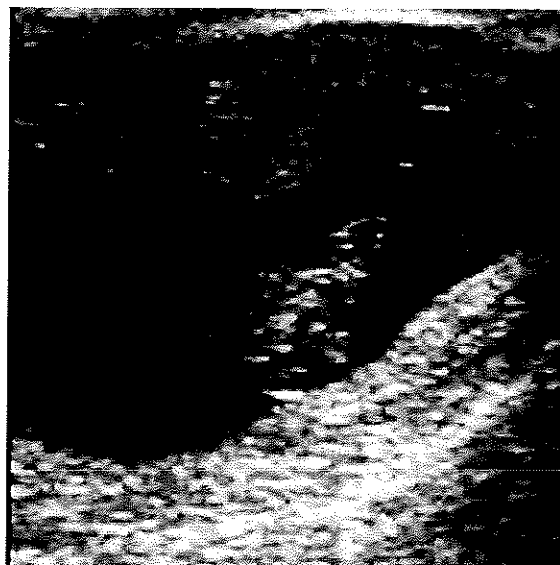
Ocena płodu

Po zakończeniu organogenezy płód rozpoczyna długi okres wzrostu. Poszczególne narządy mogą być oceniane, gdy echogenność poszczególnych tkanek będzie możliwa do odróżnienia, a płód osiągnie wymiary stosowne do rozdzielczości głowicy. Zazwyczaj po 55 dniu ciąży można określić stopień rozwoju płodu, oceniając: głowę, kręgosłup, klatkę piersiową, brzuch, narządy płciowe, miednicę i kończyny, ruchliwość płodu oraz położenie w macicy (ryc. 17 i 18). Ocena rozwoju płodu nie jest wykonywana rutynowo. Kliniczne znaczenie ma jedynie ustalenie płci płodu oraz rzadziej badanie zmian położenia płodu (18, 26).

Ustalenie płci płodu

Ustalenie płci płodu jest dobrym momentem dla kontrolowania prawidłowości przebiegu ciąży. Dlatego, przed przystąpieniem do badania płci płodu, warto dokładnie zbadać macicę w celu wykrycia ewentualnej ciąży mnogiej oraz upewnić się, czy płód jest żywy i rozwija się właściwie (26).

Kliniczne badania płci płodów są miarodajne między 60 a 100 dniem ciąży. Potem płód znajduje się zbyt głęboko w jamie brzusznej, aby stwierdzić z całą pewnością obecność któregoś ze wzgórków płciowych. Wzgórki te są widoczne jako hyperechogenne, dwupłatowe struktury. Każdy z płatów jest owalny i odróżnia się od otaczających tkanek (23, 25). Męski wzgórek płciowy znajduje się bezpośrednio za sznurem pępowinowym, wzgórek żeński natomiast umiejscowiony jest pod ogonem. Należy ustalić położenie głowy płodu, sprawdzić czy serce płodu pracuje, a następnie odnaleźć sznur pępowinowy. Czasem



ryc. 17. Obraz macicy krowy w 45 dniu ciąży.



ryc. 18. Obraz macicy krowy w 64 dniu ciąży.

trudność sprawia rozróżnienie przednich kończyn od tylnych. Jeśli za sznurem pępowinowym nie znajdziemy wzgórka płciowego męskiego, badania nie można uznać za zakończone. Należy przemieścić głowicę w okolice ogona i szukać pod nim wzgórka płciowego żeńskiego. Ogon jest strukturą jednolitą, natomiast żeński wzgórek płciowy jest podzielony na dwie lub trzy części. Jeśli badamy płód w pozycji przedniej, znalezienie zawiązków męskich narządów płciowych nie nastręcza trudności, ale identyfikacja zawiązków żeńskich

wymaga doświadczenia badającego. Zawiązki żeńskie mogą być zakryte przez ogon, który – podwijając się i umiejscawiając pomiędzy tylnymi kończynami płodu – może imitować zawiązek narządów płciowych męskich (44). Zawiązki płciowe męskie są łatwo wykrywalne już od 60 dnia ciąży, a od 90 dnia widoczny jest ukształtowany penis. Od 80-90 dnia ciąży płody można identyfikować także na podstawie obecności drugorzędowych cech płciowych. U płodów męskich rozwija się moszna, którą można łatwo zaobserwować pomiędzy tylnymi kończynami w projekcji przednio-tylnej poprzecznej. U płodów żeńskich widoczne są brodawki sutkowe. Pomiędzy 100 a 120 dniem ciąży, płód przybiera pozycję ostateczną, co jeszcze bardziej utrudnia, a wręcz uniemożliwia ustalenie płci płodu. Pomiędzy 73 a 120 dniem ciąży płeć określić można na podstawie uwidocznienia (samiec) lub nie (samica) zgrubienia mosznowego, zawierającego jądra lub poprzez zlokalizowanie grudki sutkowej u samicy (72). Na ustalenie płci płodu metodą ultrasonograficzną doświadczony lekarz potrzebuje średnio nie więcej niż 2 minuty, przy czym stopień dokładności wynosi średnio 94-100% (23, 25, 72, 107).

Badanie ruchliwości i zmian położenia płodu

Płód jest aktywny około 60% trwania ciąży. Poziom ruchliwości pozostaje stabilny pomiędzy 65 a 175 dniem ciąży, decydując o przyjmowanym przez płód położeniu w macicy krowy (26). Metoda ultrasonograficzna pozwala ocenić zmiany położenia płodu w czasie ciąży. Początkowo częściej obserwuje się położenie tylne (60%) niż przednie (30%), co w 3 i 4 miesiącu ciąży praktycznie się wyrównuje (43 : 44%). W 5 miesiącu ciąży dominuje przodowanie główkowe i częstość występowania tego położenia zwiększa się aż do momentu porodu. Położenie poprzeczne występuje w 10-15% przypadków i można je zaobserwować od 5 miesiąca ciąży (44).

Piśmiennictwo:

- Acosta T.J., Hayashi K.G., Matsui M., Miyamoto A.: Changes in follicular vascularity during the first follicular wave in lactating cows. *J. Reprod. Dev.* 2005, 51, 273-280.
- Acosta T.J., Hayashi K.G., Ohtani M., Miyamoto A.: Local changes in blood flow within the preovulatory follicle wall and early corpus luteum in cows. *Reproduction* 2003, 125, 759-767.
- Acosta T.J., Yoshizawa N., Ohtani M., Miyamoto A.: Local changes in blood flow within the early and midcycle corpus luteum after prostaglandin F(2 alpha) injection in the cow. *Biol. Reprod.* 2002, 66, 651-658.
- Al Dahash S.Y.A., David J.S.E.: Histological examination of ovaries and uteri from cows with cystic ovaries. *Vet. Rec.* 1977, 101, 342-347.
- Athey P.A., McClendon P.L.: Diagnostic ultrasound for radiographers. Multi-Media Publishing, Inc., Denver, CO, 1983, 121.
- Ayalon N.: A review of embryonic mortality in cattle. *J. Reprod. Fertil.* 1978, 54, 483-493.
- Barlunda C.S., Carruthers T.D., Waldner C.L., Palmer C.W.: A comparison of diagnostic techniques for postpartum endometritis in dairy cattle, *Theriogenology* 2008, 69, 714-723.
- Bartum, R.J., Crow H.C.: Real-time Ultrasound. W.B. Saunders Co., Philadelphia, PA, 1983, 184.
- Batram G.A. et al.: Factors influencing the accuracy of early pregnancy detection in cattle by real-time ultrasound scanning of the uterus. *Theriogenology* 1991, 35, 1153-1167.
- Beal W.E., Meadows A.W.: Ideas about ultrasound you can use. *Proc. II Th Annual Conv. Am. Embryo. Trans. Assoc.* 1992, 11-16.
- Beg M.A., Ginther O.J.: Follicle selection in cattle and horses: role of intrafollicular factors. *Reproduction* 2006, 132, 365-377.
- Beg M.A., Bergfelt D.R., Kot K., Ginther O.J.: Follicle selection in cattle: dynamics of follicular fluid factors during development of follicle dominance. *Biol. Reprod.* 2002, 66, 120-126.
- Bollwein H., Meyer H.H.D., Maierl J., Weber F., Baumgartner U., Stolla R.: Transrectal doppler sonography of uterine blood flow in cows during the estrous cycle. *Theriogenology* 2000, 53, 1541-1552.
- Boryczko Z., Bostedt H., Katkiewicz M., Gajewski Z., Witkowski M., Seweryn T., Zając S., Giziński S.: Endometritis u bydła: etiologia, diagnostyka i leczenie. *Wydawnictwo PIW, Puławy* 2003, 31-37.
- Bostedt H., Max A., Gajewski Z.: Wpływ żywienia na płodność krów mlecznych. *Nowa Weterynaria* 1997, II, 14-18.
- Boyd J.S. et al.: B-mode ultrasound scanning to identify early pregnancy in cows. *Vet. Rec.* 1988, 123: 8-11.
- Bracket, B.G et al.: Normal development following in vitro fertilization in the cow. *Biol. Reprod.* 1982, 27, 147-158.
- Buczinski S., Fecteau G., Comeau G., Boysen S.R., Lefebvre R.C., Smith L.C.: Ultrasonographic fetal well-being assessment, neonatal and postpartum findings of cloned pregnancies in cattle: a preliminary study on 10 fetuses and calves. *Can. Vet J.* 2009, 50, 261-269.
- Carričre P.D., Amaya D., Lee B.: Ultrasonography and endocrinology of ovarian dysfunctions induced in

- heifers with estradiol valerate. *Theriogenology* 1995, 15, 43, 1061-1076.
20. Chaffaux S. et al.: Transrectal real-time ultrasound scanning for diagnosing pregnancy and monitoring embryonic mortality in dairy cattle. *Anim. Reprod. Sci.* 1986 10, 193-200.
21. Curran S. et al.: Ultrasonic appearance of the bovine conceptus days 10 through 20. *J.A.V.M.A.* 189, 1289-1294.
22. Curran S. et al.: Ultrasonic appearance of the bovine conceptus days 20 through 60. *J.A.V.M.A.* 189, 1295-1302.
23. Curran S., Ginther O.J.: Ultrasonic determination of fetal gender in horses and cattle under farm condition. *Theriogenology* 1991, 36, 809-814.
24. Curran S. et al.: Determining sex of the bovine fetus by ultrasonic assessment of the relative location of the genital tubercle. *Animal Reproduction Science* 1989, 19, 217-227.
25. Curran, S.: Fetal sex determination in cattle and horses by ultrasonography. *Theriogenology* 1992 37, 17-21.
26. Des Coteaux L., Gnemmi G., Colloton J.: Practical atlas of ruminant and camelid reproductive ultrasonography, Blackwell Publishing, 2010.
27. DesCôteaux L, Gnemmi G., Colloton J.: Ultrasonography of the bovine female genital tract., *Vet Clin North Am Food Anim Pract.* 2009, 25, 733-752.
28. Edmondson A.J. et al.: The use of ultrasonography for the study of the bovine reproductive tract. Normal and pathological ovarian structures. *Anim. Reprod. Sci.* 1986, 12, 157-165.
29. El-Gawad A., El-Tahawya S., Fahmy M.M.: Partial budgeting assessment of the treatment of pyometra, follicular cysts and ovarian inactivity causing postpartum anoestrus in dairy cattle. *Res. Vet. Sci.* 2011, 90, 44-50.
30. Feichtinger W. Kemetz P.: Transvaginal sector scan sonography for needle guided transvaginal follicle aspiration and other applications in gynecologic routine and research. *Fert. Steril.* 1986, 45, 722-725.
31. Fissore R.A. et al.: The use of ultrasonography for the study of bovine reproductive tract. II. Non-pregnant, pregnancy, and pathological conditions of the uterus. *Animal Reprod. Sci.* 1986, 12, 167-177.
32. Fortune J.E., Rivera G.M., Evans A.C., Turzillo A.M.: Differentiation of dominant versus subordinate follicles in cattle. *Biol. Reprod.* 2001, 65, 648-654.
33. Gajewski Z., Hanzen Ch., Olszewska M., Pawliński B., Kleczkowski M., Petrajtis M.: Diagnostyka ciąży u bydła – wybrane aspekty. Wydaw. ŁTN im. Wągów, Monografia Aktualne problemy zdrowotne u bydła 2009, 65-84.
34. Gajewski Z., Petrajtis M., Kleczkowski M., Pawliński B., Domańska D., Melo de Sousa N., Beckers J.F., Jakubowski T.: Comparison of accuracy of sonography, rectal examination, and pregnancy-associated glycoproteins tests for pregnancy diagnosis in cows. *Vetreinarstvi* 2010, 60, 23-26.
35. Gajewski Z., Faundez R., Jurka P., Lorin D., Spohr I., Boryczko Z.: Effect of adrenoreceptors and inhibitors on superovulation and subsequent embryo recovery in heifers. XVIII World Buiatrics Cong., Bolonia, 29.08-2.09, 1994, Proc., II, 1087-1090.
36. Gajewski Z., Faundez R.: Characteristics and analysis of the uterus electrical activity in the pregnant cows. *Theriogenology* 1992, 37, 1133-1145.
37. Gajewski Z., Faundez R., Jędruch J., Lorin D.: Electrical activity of the myometrium from cows in the last trimester of pregnancy and the level of 17 beta estradiol, progesterone and some ions. *Int. Cong. Anim. Reprod. Hague, 23-27.08.1992, Cong. Proc. 1992, 251-253.*
38. Gajewski Z., Hanzen Ch., Thun R., Jędruch J., Jaworek A., Giziński Sł.: Zastosowanie ultrasonografii w diagnostyce klinicznej układu rozrodczego u bydła. *Nowa Wet.* 1997, 2, 33-49.
39. Gajewski Z., Thun R., Pawliński B.: Follicular dynamics, reproductive endocrinology and parameters during superovulation in heifers under the influence of stimulation and blocking of adrenergic receptors. *J. Physiol. Pharmacol.* 2006, 57, 173-188.
40. Gajewski Z., Hanzen Ch., Pawliński B., Petrajtis M., Domańska D., Kleczkowski M.: Wybrane zagadnienia z etiologii i diagnostyki torbieli jajników u krów. ŁTN Monografia 2010, 175-187.
41. Ginther O.J.: Ultrasonic Imaging and Animal Reproduction: Equiservices Publishing, Wisconsin, 1995.
42. Hajurka J., Macak V., Hura V.: Influence of health status of reproductive organs on uterine involution in dairy cows. *Bull Vet Inst Pulawy* 2005, 49, 53-58.
43. Hanzen Ch., Delsaux B.: Use of transrectal B-mode ultrasound imaging in bovine pregnancy diagnosis. *Vet. Rec.* 1987, 121, 200-202.
44. Hanzen Ch.: Applications de l'échographie en reproduction bovine. 2. L'uterus gestant et non-gestant. *Ann. Med. Vet.* 1993, 137, 93-101.
45. Hanzen Ch.: Aspects épidémiologiques, cliniques, pathogéniques, hormonaux, histologiques du kyste ovarien dans l'espèce bovine. *Spectrum.* 1988, 31, 1-8.
46. Hanzen Ch., Laurent Y.: Application de l'échographie bidimensionnelle au diagnostic de gestion et l'évaluation de l'incidence de la mortalité embryonnaire dans l'espèce bovine. *Ann. Med. Vet.* 1991, 135, 481-487.
47. Hasler J.F.: Applications of in vitro fertilization technology to infertile dairy cows. *Proc. 12th Annu. Conv. Am. Embryo. Trans. Assoc.* 1993, 43-52.
48. Hawk H.W.: Gamete transport in the superovulated cow. *Theriogenology* 1988, 29, 125-142.
49. Honnens A., Voss C., Herzog K., Niemann H., Rath D., Bollwein H.: Uterine blood flow during the first 3 weeks of pregnancy in dairy cows, *Theriogenology* 2008, 70, 48-56.

50. Hughes E.A., Davies D.A.R.: Practical uses of ultrasound in early pregnancy in cattle. *Vet. Rec.* 1989, 124, 56-458.
51. Humbolt P., Thibier M.: Evaluation compare des methodes de diagnostic de gestion chez les bovins. *Elevage et Insemination.* 1984, 200, 3-18.
52. In Taverne M.M., Willemse A.H.: Eds. Diagnostic ultrasound and animal reproduction. Kluwer Academic Publisher 1989, 67-72.
53. Kaehn W.: Sonographie fetometry in the bovine. *Theriogenology* 1989, 31, 1105-1121.
54. Kaehn W., Leidl W.: Ultrasonic characteristics of pathological conditions of the bovine uterus and ovaries. Diagnostic ultrasound and animal reproduction. Taverne M.M. and A.H. Wil- lcmse Eds. Kluwer Academic Publisher 1989, 53-65.
55. Kaehn W.: Sonographie imaging of the bovine fetus. *Theriogenology* 1990, 33, 385-396.
56. Kastelic J.P. et al.: Ultrasonic evaluation of the bovine conceptus. *Theriogenology* 1988, 29, 39-54.
57. Kastelic J.P. et al.: Relationship between ultrasonic assessment of the corpus luteum and plasma progesterone concentrations in heifers. *Theriogenology* 1990, 33, 1269-1278.
58. Kastelic J.P. et al.: Ultrasonic morphology of corpora lutea and central luteal cavitis during the estrus cycle and early pregnancy in heifers. *Theriogenology* 1990, 34, 487-498.
59. Kastelic J.P. et al.: Accuracy of ultrasonography for pregnancy diagnosis on days 10 to 22 in heifers. *Theriogenology* 1989, 31, 813-820.
60. Kastelic J.P. et al.: Ultrasonic detection on the conceptus and characterization of untrauterine fluid on days 10 to 22 in heifers. *Theriogenology* 1991, 35, 569-581.
61. Kastelic J.P., Ginther O.J.: Fate of conceptus and corpus luteum after induced embryonic loss in heifers. *J.A.V.M.A.* 1989, 194, 922- 928.
62. Kemkau F.W.: Diagnostic ultrasound, physical principles and exercises. Grune and Stratlon, New York, NY, 1980, 287.
63. Knopf L. et al.: Ovarian follicular dynamics in heifers: Test of two wave hypothesis by ultrasonically monitoring individual follicles. *Domestic Animals Endocrinology* 1989, 6, 111-119.
64. Kolour A.K., Batavani R.A., Ardabili F.F.: Preliminary observations on the effect of parity on first day ultrasonic detection of embryo and its organs in bovine. *J Vet. Med. A Physiol. Pathol. Clin. Med.* 2005, 52, 74-77.
65. Kot K., Ginther O.J.: Ultrasonic characterization of ovulatory follicular evacuation and luteal development in heifers. *J. Reprod. Fertil.* 1999, 115, 39-43.
66. Kot K., Anderson L.E., Tsai S-J., Wiltbank M.C., Ginther O.J.: Transvaginal, ultrasound-guided biopsy of the corpus luteum in cattle, *Theriogenology* 1999, 52, 987-993.
67. Laing F.C.: Commonly encountered artifacts in clinical ultrasound. *Seminars in Ultrasound.* 1983, 4, 27-43.
68. López-Gatius F., Hunter R.H.: Spontaneous reduction of advanced twin embryos: its occurrence and clinical relevance in dairy cattle. *Theriogenology* 2005, 63, 118-125.
69. López-Gatius F., Santolaria P., Yániz J., Fenech M., López-Béjar M.: Risk factors for postpartum ovarian cysts and their spontaneous recovery or persistence in lactating dairy cows. *Theriogenology* 2002, 58, 1623-1632.
70. Lutz H., Mcudt R.: Manual of Ultrasound. Springer-Verlag, New York, NY, 1984, 140.
71. Marion C.B. et al.: Micromorphology of the bovine ovarian system. *J. Anim. Sci.* 1968, 27, 451-465.
72. Mueller E., Wittkowski G.: Visualisation of male and female characteristics of bovine fetuses by real time ultrasonics. *Theriogenology* 1986, 25, 571-574.
73. Nowicki A. *Wstęp do ultrasonografii*, Medipage, Warszawa 2003.
74. Okano A., Tomizuka T.: Ultrasonic observation of post partum uterine involution in the cow. *Theriogenology* 1987, 27, 369-376.
75. Ophir J. et al.: Quantitative assessment of in vivo backscatter enhancement from gelatin microspheres. *Ultrasonic Imaging* 1985, 7, 293-299.
76. Panaracea M., Garnilb C., Marfila M., Jaureguia G., Lagioiaa J., Lutherc E., Medinaa M.: Transrectal Doppler sonography for evaluation of uterine blood flow throughout pregnancy in 13 cows. *Theriogenology* 2006, 66, 2113-2119.
77. Pancarcya S.M., Güngörf Ö., Atakisib O., Cigremisc Y., Arýd U.C., Bollweine H.: Changes in follicular blood flow and nitric oxide levels in follicular fluid during follicular deviation in cows. *Anim. Reprod. Sci.* 2011, 123, 149-156.
78. Petera A.T., Levineb H., Droste M., Bergfeltd D.R.: Compilation of classical and contemporary terminology used to describe morphological aspects of ovarian dynamics in cattle. *Theriogenology* 2009, 71, 1343-1357.
79. Pierson R.A., Ginther, O.J.: Ultrasonography of the bovine ovary. *Theriogenology* 1984, 21, 495-507.
80. Pierson R.A., Ginther O.J.: Ovarian follicular populations during early pregnancy in heifers. *Theriogenology* 1986, 26, 649-659.
81. Pierson R.A., Ginther O.J.: Reliability of diagnostic ultrasonography for identification and measurement of follicles and detecting the corpus luteum in heifers. *Theriogenology* 1987, 28, 929-936
82. Pierson R.A. et al.: Basic principals and techniques in transrectal ultrasonography in horses and cattle. *Theriogenology* 1988, 29, 3-20.
83. Pierson R.A., Ginther O.J.: Ultrasonography for the detection of pregnancy and study of embryonic development in heifers. *Theriogenology* 1984, 22, 225-233.

84. Pierson R.A., Ginther O.J.: Follicular population during the estrus cycle in heifers. 3. Time of selection of the ovulatory follicle. *Anim. Reprod. Sci.* 1988, 16, 81-95.
85. Pierson R.A., Ginther O.J.: Ultrasonic imaging of the ovaries and uterus in cattle. *Theriogenology* 1988, 29, 21-37.
86. Pierson R.A., Ginther O.J.: Ultrasonographic appearance of the bovine uterus during the estrous cycle. *J. Am. Med. Vet. Assoc.* 1987, 190, 995-1001.
87. Pierson R.A.: Applications of diagnostic ultrasonography in embryo transfer programs, in *Embryo Transfer*, Vol. 4, ed. 2. Lawrenceville, NJ, Veterinary Learning Systems, 1989, 1-4.
88. Pierson L., Ginther O.J.: Follicular population during the estrus cycle in heifers. 2. Influence of right and left sides and intraovarian effects of corpus luteum. *Anim. Reprod. Sci.* 1987, 14, 177-186.
89. Pietcrse M.C. et al.: Repeated transvaginal ultrasound-guided ovum pick up in ECG created cows. *Theriogenology* 1991, 35, 19.
90. Pietcrse M.C., Ultrasonic characteristic of physiological structures on bovine ovaries. [W:] Taverne M.M., Willemse A.H., Eds. *Diagnostic ultrasound and animal reproduction*. Kluwer Academic Publisher. 1989, 37-52.
91. Pietersc M.C. et al.: Early pregnancy diagnosis in cattle by means of linear-array real time ultrasound scanning of the uterus and a qualitative and quantitative milk progesterone test. *Theriogenology* 1990, 33, 697-708.
92. Quirk S.M. et al.: Growth and regression of ovarian follicles during the follicular phase of the estrous cycle in heifers undergoing spontaneous and PGF 2 alpha induced luteolysis. *J. Reprod. Fert.* 1986, 77, 211-219.
93. Rantanen N.W., Ewing R.L.: Principles of ultrasound application in animals. *Veterinary Radiology* 1981, 22, 196-203.
94. Reeves J.J. et al.: Transrectal real-time ultrasound scanning of the cow reproductive tract. *Theriogenology* 1984, 21, 485-494.
95. Schlafer D.H., Fisher P.J., Davies C.J.: The bovine placenta before and after birth: placental development and function in health and disease, *Anim. Reprod. Sci.* 2000, 60-61, 145-60.
96. Sirois J., Fortune J.E.: Ovarian follicular dynamics during the estrous cycle in heifers monitored by real-time ultrasonography. *Biol. Reprod.* 1988, 39, 308-317.
97. Sousa N.M., Beckers J.F., Gajewski Z.: Current trends in follow-up of trophoblastic function in ruminant species. *J. Physiol. Pharmacol.* 2008, 59, 65-74.
98. Sprecher D.J. et al.: The predictive value, sensitivity and specificity of palpation per rectum and transrectal ultrasonography for the determination of bovine luteal status. *Theriogenology* 1989, 31, 1165-1172.
99. Stevenson J.S., Cali E.P.: Reproductive disorders in the periparturient dairy cow. *J. Dairy Sci.* 1988, 71, 2572-2583.
100. Stroud B.K.: Bovine reproductive ultrasonography: A Video Training Tutorial. Weathford, TX, 1994.
101. Stroud, B.K.: Gamete intrafallopian transfer to produce embryos and ultimately pregnant recipients from clinically infertile cows. *Proc. 8th Annu. Conv. Am. Embryo. Trans. Assoc.* 1989, 62-68.
102. Taniguchi M., Ikeda A., Arikawa E., Shimizu R., Seki M., Karaki M., Rajamahendran R., Otoi T.: Ovarian follicular and corpus luteum changes, progesterone concentrations, estrus and ovulation following estradiol benzoate/progesterone based treatment protocol in cross-bred cows. *Animal Reprod. Sci.* 2007, 99, 389-394.
103. Tavernc M.M. et al.: Pregnancy diagnosis in cows with linear-array real time ultrasound scanning a preliminary note. *Vet. Quart.* 1985, 7, 264-270.
104. Thun R., Gajewski Z.: *Endokrynologia cyklu u bydła*. Nowa Wet. 1997, 2, 2-10.
105. Walton J.S. et al.: Evaluation of frequency of ultrasonically guided follicle aspiration on ovarian dynamics. *Theriogenology* 1993, 39, 336.
106. White I.R. et al.: Real time ultrasonic scanning in the diagnosis of pregnancy and the estimation of gestational age in cattle. *Vet. Rec.* 1985, 117, 5-8.
107. Wiedeman D. et al.: Sex determination of the bovine fetus using linear array real-time ultrasonography. *Theriogenology* 1989, 31, 272.
108. Willemse A.H., Taverne M.A.M.: Early pregnancy diagnosis in cattle by means of transrectal real-time ultrasound scanning of the uterus. *Diagnostic ultras. Anim. Reprod.* Kluwer Academic Publisher 1989, 67-72.
109. Wiltbank M.C., Gümen, A. Sartori R.: Physiological classification of anovulatory conditions in cattle. *Theriogenology* 2002, 57, 21-52.
110. Winsberg F., Cooperberg P.L.: *Real-Time Ultrasonography*. Churchill Livingstone, New York, NY. 1982, 321.
111. Wolfe D.: Management of the repeat breeder female, [W:] Howard J.L. (ed): *Current Veterinary Therapy* ed. 2. Philadelphia, W.B. Saunders Co. 1986, 785-790.
112. Wright J.M.: Nonsurgical embryo transfer in cattle. *Theriogenology* 1981, 15: 43.
113. Zagzebski J.A.: Physics of diagnostic ultrasound. [W:] *Textbook of Diagnostic Ultrasound*. S. Hagcn-Ansert (ed) C.V. Mosby, St. Louis, MO, 1983: 1-12.
114. Zagzebski J.A.: Pulseecho ultrasound instrumentation. [W:] *Textbook of Diagnostic Ultrasound*. S. Hagen Ansert (ed) C.V. Mosby, St. Louis, MO, 1983: 23-43.
115. Ziskin M.C. et al.: Contrast agents for diagnostic ultrasound. *Investig. Radiol.* 1972, 7, 500-505.