

La ultrasonografía en los programas de sincronización

G. Gnemmi ⁽¹⁾ y C. Maraboli ⁽²⁾

1. Introducción

La ecografía ya no es una novedad en ginecología bovina ^(17, 20, 21). Desde hace casi tres décadas, la ultrasonografía se está utilizando en el manejo reproductivo del ganado bovino, tanto carnícano como lechero ^(8, 9, 10, 11, 19, 42, 43, 44, 45, 46, 56, 57, 58, 59, 61, 62, 75, 76). Sin embargo, sólo el 70% de los reproductólogos utiliza esta herramienta y la mayoría sólo para el diagnóstico precoz de gestación ⁽²¹⁾.

El margen de error para un buen ginecólogo que realice el examen ginecológico por palpación rectal es del 40-45% y 70-80%, para evaluar la fisiopatología del ovario y del útero, respectivamente ⁽²¹⁾. Este margen de error causa una gran pérdida económica (aumentando los días abiertos y la tasa de descarte involuntario) y lleva a un uso inadecuado de hormonas y otros medicamentos.

A la luz de la creciente importancia que hoy en día están tomando conceptos como "seguridad alimentaria" y "bienestar animal", es crucial recurrir al uso de técnicas que mejoran la calidad del diagnóstico.

"Un burro con un ecógrafo no es un ginecólogo, pero todos los ginecólogos, hoy en día, deberían trabajar con un ecógrafo".

El manejo reproductivo ha cambiado profundamente en los últimos veinte años. La sincronización de la ovulación (Inseminación a Tiempo Fijo) revolucionó todo el sistema. En 1996, se registró el primer programa de sincronización de la ovulación ⁽⁶⁶⁾, que dio lugar a un extraordinario campo de investigación, que aclaró la dinámica folicular y en

especial el control hormonal de la propia dinámica.

Un análisis superficial de estos datos podría llevar a pensar que la sincronización tuvo un efecto negativo sobre la performance reproductiva y/o que la selección genética/genómica también tuvo una influencia negativa sobre la tasa de preñez. La realidad es muy diferente: no hay ninguna evidencia científica que permita correlacionar la alta producción (leche-carne) con baja fertilidad y, sobre todo, debemos preguntarnos cuál habría sido la evolución de la eficiencia reproductiva en ausencia de la sincronización.

El verdadero gran problema en el manejo reproductivo moderno (leche/carne) es la falta de eficiencia en la detección de los celos, que se ha desarrollado como resultado de la reducción de la atención y la capacidad de gestión. Es cierto que la fisiología del bovino cambió, con el aumento de la producción (aumento del flujo de sangre por hora, de 700-800 L/hora a 2200 a 2600 L/hora) se aceleró el catabolismo hepático de las hormonas esteroides ^(49, 80). El resultado fue una concentración más baja de estrógeno y progesterona, que es responsable de una serie de eventos ^(4, 80, 81):

1. Aumento de las ovulaciones múltiples (aumento de mellizos)
2. Reducción de la duración del celo
3. Reducción de la expresión del celo
4. Menores tasas de concepción
5. Mayores tasas de mortalidad embrionaria temprana
6. Mayores tasas de mortalidad embrionaria tardía

(1) DVM, Ph.D. Dipl. ECBHM. giovanni.gnemmi@bovinevet.com

(2) DVM.

BOVINEVET Bovine Ultrasound Services.

En resumen, se justifica, incluso por esta vía, el deterioro de la eficiencia reproductiva.

Es un error relacionar la IATF con el empeoramiento de la eficiencia reproductiva, sin embargo, es igualmente errónea la tendencia de los últimos años, de considerar como "manejo reproductivo" exclusivamente a la IATF ⁽²²⁾. El manejo reproductivo es mucho más complejo y no puede ser limitado al control hormonal del ciclo ovárico. Por lo tanto, la sincronización debe ser vista como una herramienta y no como una solución al problema reproductivo ⁽²²⁾. Como todas las herramientas, permite dar una respuesta en el corto y mediano plazo; pero una solución a largo plazo debe pasar necesariamente a través de un enfoque/inversión en la gestión de los recursos humanos y del ambiente en la producción ⁽²²⁾.

2. El ciclo ovárico

El ciclo del bovino está caracterizado por el crecimiento de ondas foliculares, en general dos o tres ondas. El 60-80% de las hembras lecheras tiene dos ondas de crecimiento, mientras que el 60-80% de las hembras carniceras tiene tres ondas.

Las vaquillonas, tanto lecheras como carniceras, tienden a tener tres ondas de crecimiento ^(1, 22). Las ondas foliculares son típicas de las hembras bovinas cíclicas, pero no sólo ocurren en ellas. Tienen lugar durante el período prepuberal ⁽¹⁴⁾, durante la gestación ⁽¹⁶⁾ y también durante el período de anestro ⁽⁷⁾. En presencia de FSH, los folículos son reclutados en una "cohorte", escapando de la apoptosis a la que están condenados, convirtiéndose en una parte activa de una onda de crecimiento folicular. Aproximadamente el 99,9% de los folículos primordiales presentes en los ovarios al nacer, mueren por apoptosis ^(2, 54). Son necesarios alrededor de 180 días para que un folículo primerodial se convierta en folículo de Graf ^(2, 50), mientras que se

tarda alrededor de 42 para pasar de folículo antral a folículo de Graf ^(2, 50).

En resumen, podemos decir que el inicio de una nueva onda folicular siempre se determina a partir de un pico de FSH y que el desarrollo folicular hasta la desviación está influenciado por la FSH ⁽²²⁾. Después de la desviación, el crecimiento del folículo dominante (FD) depende de la LH. La liberación de LH es bifásica: a través de *pulsos*, que determinan el crecimiento del folículo dominante y por medio de un *pico* que desencadena la ovulación del FD ⁽²²⁾. La falta de pulsos, induce un estado de anestro tipo II, mientras que la falta de un pico es responsable de un anestro tipo III ^(55, 32, 33, 34). La actividad pulsátil de LH es inversamente proporcional a la concentración de progesterona: la progesterona inhibe el pico de LH a nivel hipotalámico, mediante el bloqueo de la secreción de GnRH (feedback largo) ⁽²²⁾.

- Alta concentración de P4 - baja frecuencia (1 pulso/6-8 horas) y baja amplitud del pulso de LH.
- Baja concentración de P4 - alta frecuencia (4-6 pulsos/hora) y alta amplitud del pulso de LH.

Las vacas con dos ondas de crecimiento tienen un ciclo más corto, con una fase de dominancia mayor a tres días, en comparación con aquellas de tres ondas de crecimiento, que tienen un ciclo más largo, pero con una fase de dominancia más corta ^(1, 41). Esta diferencia en la duración de la fase de dominancia ha llevado a algunos investigadores y veterinarios de campo, a pensar que las vacas con tres ondas de crecimiento tienen una fertilidad más alta que las vacas con dos ondas de crecimiento ^(1, 3, 41, 52, 69, 78).

3. Sincronización

Premisas:

La baja eficiencia/exactitud en la detección de celo ha impulsado el estudio de métodos que per-

miten inseminar en un intervalo de tiempo limitado (inseminación a tiempo fijo), próximo a la ovulación, con la intención de aumentar la tasas de concepción⁽²²⁾.

Es posible sincronizar a las vacas cíclicas o en anestro. Hay que distinguir entre la sincronización del estro y la sincronización de la ovulación.

3.1 Vacas lecheras cíclicas

3.1.1 Sincronización de los celos

La sincronización de los celos se lleva a cabo mediante la administración de prostaglandina en hembras cíclicas (vacas o vaquillonas)^(22, 29).

El uso de este método debería ser reservado para aquellos que conocen muy bien la dinámica folicular, sólo así es posible optimizar los resultados y dar una explicación de los eventuales fracasos. El resultado de la utilización de las prostaglandinas está fuertemente influenciado por la eficiencia y la exactitud con la que se detectan los celos; donde la eficiencia se define como la capacidad de ver una vaca en celo y la exactitud, como la capacidad de establecer el mejor momento para la inseminación⁽²²⁾.

Desafortunadamente, incluso hoy en día el uso de prostaglandinas se basa en un prejuicio: inseminar la vaca a las 72 y 96 horas de la administración, o sólo una vez después de 80 horas de la administración. Esto es obviamente una indicación incorrecta, pero pragmática: el intervalo entre la administración de la prostaglandina y el celo, no depende del tipo de prostaglandina (natural o sintética), ni del tipo de cuerpo lúteo (con cavidad o compacto) ni del diámetro del cuerpo lúteo (> 20 mm), sino exclusivamente de la presencia de un folículo dominante funcional y del diámetro del mismo^(22, 29).

Ecográficamente se puede evidenciar un cuerpo hemorrágico, tan pronto como seis horas después de la ovulación, mientras que 48 a 72 horas des-

pués de la ovulación es muy fácil evidenciar un cuerpo lúteo de 13-15 mm de diámetro^(13, 21, 34).

Al administrar una prostaglandina antes del cuarto día post ovulación, la vaca no va a entrar en celo: el problema está sólo indirectamente relacionado con la presencia del cuerpo lúteo^(13, 21, 22, 34). La prostaglandina es luteolítica, por lo tanto se necesita un cuerpo lúteo como blanco; la cascada de eventos hormonales que siguen a la caída de la progesterona, hacen que en ausencia de un folículo dominante activo, de al menos 8-10 mm de diámetro, no pase nada^(13, 21, 22, 34).

La desviación del folículo dominante se produce en el cuarto día posterior a la ovulación; el folículo tiene un diámetro medio de 8 mm⁽¹⁾. La medida de 8 mm se considera (en *Bos taurus* lecheros) el tamaño mínimo que un folículo dominante debe tener, para que en presencia de un cuerpo lúteo, podamos emplear una prostaglandina. Esta medida es capaz de garantizar un número suficiente de receptores de LH, capaces de responder a la LH adenohipofisaria, liberada gracias a la secreción de GnRH hipotalámica, y secundariamente a la caída de la progesterona^(22, 29).

La administración de prostaglandina, antes de la desviación del folículo dominante (tercer o cuarto día después de la ovulación), dará lugar a una luteólisis completa en poco más del 20% de las vacas, mientras que en el 80% de los casos ocurrirá una luteólisis parcial, con formación de un cuerpo lúteo pequeño, capaz de producir bajos niveles de progesterona, incapaz de sostener la gestación⁽¹²⁾.

La administración de prostaglandina al final de la onda folicular y antes de la desviación del folículo dominante de la siguiente onda, determina la luteólisis, pero no tendrá lugar la ovulación, por la falta de un folículo dominante activo: el de la onda anterior, si es mayor a 8 mm, está en regresión, pero todavía no hay un folículo dominante de la nueva onda^(22, 29).

Por ecografía, a través del estudio del mapa folicular y las características del útero, es posible predecir con una buena aproximación, cuántos días después de administrar una prostaglandina la vaca entrará en celo ^(22, 29). Esta evaluación, más fácil en vacas con dos ondas de crecimiento folicular, se basa en la identificación del folículo dominante funcional y en la medición de su diámetro ^(22, 29).

Esta evaluación, en particular en la segunda mitad del ciclo estral, sólo es posible gracias a la observación combinada de ambos ovarios y del útero (espesor y ecogenicidad del endometrio y miometrio, espesor de la túnica vascular, diámetro de la luz uterina, presencia de artefactos tales como las reflexiones especulares) ^(22, 29).

3.1.2 Sincronización de las ovulaciones

La primera GnRH del programa Ovsynch[®] sirve para sincronizar la onda folicular, reduciendo la longitud de la dominancia folicular: la GnRH debe inducir la ovulación del folículo dominante presente, con la formación de un cuerpo lúteo y el inicio de una nueva onda folicular ^(68, 79). Siete días después se administra la prostaglandina que induce la luteólisis, es decir la disminución de la progesterona, con aumento de la frecuencia de pulsátil de LH. La LH actuará sobre el folículo dominante seleccionado con la primera GnRH. Cincuenta y seis horas después se administra una segunda GnRH con el fin de determinar la ovulación del folículo dominante seleccionado. Dieciseis a dieciocho horas después se lleva a cabo la inseminación a tiempo fijo ⁽⁶⁴⁾.

Este programa de sincronización se puede utilizar en animales con dos ondas foliculares y sólo en presencia de un cuerpo lúteo. En hembras con tres ondas foliculares por ciclo (vaquillonas) se puede utilizar un Ovsynch 5, con doble PGF₂α (días cinco y seis).

El Ovsynch en ausencia de CL permite obtener tasas de concepción menores al 15% con altas tasas de muerte embrionaria ⁽⁷²⁾.

Aproximadamente el 30% de los animales seleccionados para Ovsynch no responde al tratamiento de sincronización, ovulan antes o después de la inseminación a tiempo fijo ^(7, 16, 50, 54).

El folículo dominante, independientemente del diámetro del cuerpo lúteo, debe ser mayor a 8 mm. Por esta razón, el Ovsynch no debe ser aplicado entre los días 1 y 4 post ovulación (aún sería utilizable en el día de celo, en presencia de folículos de Graf). Entre los días 1 y 4 después de la ovulación, la tasa de ovulación después de la administración de GnRH no es superior al 23% ⁽⁷⁹⁾.

Entre el quinto y el décimo día del ciclo, hay un folículo dominante > 8mm: esto explica una tasa de ovulación después de la GnRH del 96%. Esta ventana del ciclo estral es la mejor para comenzar un programa Ovsynch ⁽⁷⁹⁾.

La tasa de ovulación (después de la primera GnRH) desciende a 54% si la administración se realiza entre los días 11 y 15 del ciclo. Hasta el día 11, a veces el día 12 del ciclo, es posible que la respuesta ovulatoria sea todavía muy alta, si el folículo dominante de la primera onda es todavía activo ⁽⁷⁹⁾.

Entre los días 9-10 del ciclo, se inicia la segunda onda folicular: el folículo dominante de la primera onda entrará en atresia, mientras que sólo los días 14-15, ocurrirá la desviación del segundo folículo dominante.

Administrando la GnRH entre los días 16 y 21 del ciclo, la tasa de ovulación sube a 77%, más baja que en la ventana del ciclo estral 5-10, a pesar de una configuración folicular similar. Esta diferencia en la respuesta ovulatoria se explica por la diferencia en los niveles de progesterona (el día 16 la progesterona disminuye bruscamente) ⁽⁷⁹⁾.

Sin embargo, en los establecimientos comerciales, el Ovsynch encuentra justificación simplemente por la presencia de un cuerpo lúteo, independientemente del diámetro del folículo dominante. En la práctica habría un efecto de dilución del factor de riesgo, cuando la muestra es muy grande. En esencia, sólo 3-4 días de todo el ciclo estral no garantizan una respuesta ovulatoria a la primera GnRH^(53, 65), lo que explica por qué es posible simplificar el programa en el campo, a través de la selección de los animales sobre la base de la presencia de un CL; en el caso de grupos muy grandes, el efecto de dilución de la muestra, implicaría un efecto negativo mínimo.

La evaluación ecográfica del mapa folicular es importante para determinar el mejor momento para iniciar un Ovsynch, una re-sincronización, o un Short Synch, sin recurrir a una pre-sincronización⁽²⁹⁾.

La poca precisión de la palpación para la determinación del cuerpo lúteo (incluso más baja si se desea diagnosticar no sólo la presencia, sino la edad del cuerpo lúteo) hace que el examen ecográfico del ovario sea especialmente importante para asegurar tasas de concepción que hacen que sea económicamente justificable la inversión en un programa de sincronización⁽⁶⁷⁾.

La tasa de concepción está relacionada con el nivel de progesterona en el día de la administración de prostaglandina (día 7): un nivel de P4 ≤ 1 ng/ml permite predecir con una buena aproximación que la vaca no se preñará⁽⁷²⁾. Estas vacas son también más propensas a tener una fase lútea corta (<11 días)⁽⁷²⁾.

Sin embargo, la determinación de la edad del cuerpo lúteo sobre la base de su ecogenicidad⁽⁶²⁾ es imposible en la práctica trabajando con un transductor de 5-7,5 MHz. Teóricamente, es posible determinar la edad de la CL en función de su ecogenicidad. El cuerpo lúteo joven (los primeros cuatro días después de la ovulación: metaestro) es bri-

llante, heterogéneo y muy ecogénico: el CL está compuesto principalmente por tejido angiogénico y las células luteales son muy pequeñas^(16, 13, 32). El cuerpo lúteo del diestro (días 5 a 15 post ovulación), es poco brillante, homogéneo e hipo-ecogénico; el tejido luteal se compone sobre todo de las células luteales grandes. El cuerpo lúteo viejo (proestro) tiene características ecográficas comparables a las de CL jóvenes: en este cuerpo lúteo, el tejido lútea está formado por células luteales pequeñas y tejido conectivo⁽¹⁷⁾. La diferenciación de la edad del CL en función de la ecogenicidad del tejido luteal es posible utilizando sondas de 15 MHz (sondas no cavitarias para uso oftálmico), mientras que con las sondas 5 a 7,5 MHz, normalmente utilizados en ginecología búiátrica, es casi imposible esta diferenciación.

Es posible determinar la edad del CL sobre la base del mapa folicular de ambos ovarios: en el metaestro sólo habrá folículos pequeños (diámetro <8 mm), porque no se produjo todavía la desviación del folículo dominante, mientras que en el proestro habrá un folículo de Graf. Las características ecográficas del útero en metaestro y proestro son consistentes: habrá edema del endometrio, cuya pared aparecerá engrosada y ecogénica, la túnica vascular se engrosará (anillo ecogénico entre el endometrio y el miometrio), mientras que el miometrio se contrae, apareciendo ecogénico y con un espesor igual al 50% del espesor del endometrio⁽³³⁾. En la luz uterina hay líquido presente (anecoico) y reflexiones especulares (artefactos)⁽³³⁾.

Es posible predecir la edad del cuerpo lúteo, en otras palabras la ventana estral en la que se encuentra la vaca, a través de la evaluación Doppler color del propio cuerpo lúteo. Existe una correlación entre el flujo de sangre del cuerpo lúteo y la tasa de progesterona circulante⁽¹⁸⁾.

La ultrasonografía, si se aplica correctamente,

permite optimizar la tasa de concepción de los programas de sincronización. Pero lo más importante, no requiere la aplicación de pre-sincronización, que encontró su justificación en el bajo rendimiento de los programas de sincronización aplicado ciegamente y sin una pre-selección del bovino ^(13, 29).

3.1.3 Ultrasonografía y ReSynch®

El Resynch® es un Ovsynch aplicado a los animales que se encuentran vacíos durante el diagnóstico de gestación.

El diagnóstico precoz de preñez/vacuidad se debe hacer lo más temprano posible, para minimizar la pérdida de tiempo ^(30, 33). Es evidente que el concepto de "lo más temprano posible", está ligado al tipo de manejo reproductivo. Si los exámenes ginecológicos (y por tanto el diagnóstico de preñez) son semanales, se puede hacer el diagnóstico de preñez/vacuidad a los 28 a 30 días después de la inseminación. Si los exámenes ginecológicos tienen lugar cada dos semanas, o con un alcance mayor, a menos que se tenga una tasa de detección de celos >70% y una tasa de concepción >35%, se debe realizar el primer diagnóstico 25-26 días posteriores a la inseminación. El diagnóstico tan precoz es posible sólo si el técnico está realmente experimentado, cuenta con un buen equipo de ultrasonido, perfectamente calibrados y funcionando en condiciones ambientales óptimas ^(30, 33). De lo contrario, el riesgo de errores y el riesgo de muerte embrionaria tardía son muy altos ^(16, 26, 30, 32).

El diagnóstico de preñez a los 28-30 días de gestación es rápido; en el 85% de los casos es posible evidenciar el embrión sin ninguna manipulación del útero. Tanto el diagnóstico de muerte embrionaria, como el diagnóstico de mellizos, son fáciles/muy fáciles. Las vacas vacías, normalmente se encuentran en diestro, cuando es fácil visualizar la presencia de un cuerpo lúteo ⁽²²⁾.

Un diagnóstico de preñez a los 25-26 días de gestación, incluso para un técnico experimentado, requiere más tiempo, a menos que el diagnóstico se realice únicamente por la presencia de líquido en el cuerno uterino-ipsilateral al cuerpo lúteo. Pero esto aumenta muchísimo el margen de error. En el 45% de los casos se evidencia el embrión sin ninguna manipulación del útero; el diagnóstico tanto de muerte embrionaria como de mellizos, es muy difícil o imposible. Las vacas vacías normalmente se encuentran en metaestro, por lo que no es fácil ver el cuerpo lúteo, pudiendo confundir esta situación con anestro (Tipo I, II) ⁽²²⁾.

Es posible utilizar tres programas distintos de ReSynch ⁽¹⁵⁾:

1. GnRH al día 19 posterior a la inseminación; diagnóstico de preñez el 26 día después de la inseminación; administración de PGF₂α a las vacas vacías. La tasa de concepción del 23%.
2. Realización del diagnóstico de preñez el día 26° posterior a la inseminación; GnRH a las vacas vacías; administración de PGF₂α en vacas vacías en el día 33° después de la inseminación. La tasa de concepción del 33%.
3. Realización del diagnóstico de preñez a los 30-32 días post inseminación; administración de GnRH a las vacas vacías; PGF₂α a las vacas vacías al día 37-39° post inseminación. La tasa de concepción del 38%.

No hay diferencias estadísticas entre las tasas de concepción del segundo y tercer programa, y ambas son estadísticamente diferentes en comparación con el primero.

Considerando que entre los días 25° y 30° después de la inseminación hay una reducida mortalidad embrionaria, la tasa de concepción efectiva del tercer grupo de ReSynch sería mayor.

Por lo tanto, el mejor programa es el que se basa en iniciar el segundo Ovsynch entre los días 30-32° post

inseminación, en otras palabras en presencia de un folículo dominante funcional de gran diámetro^(15,73).

Realizar el diagnóstico de preñez al día 25 a 26, en caso de realizar controles ginecológicos semanales, es absolutamente inútil, siendo conveniente retrasar la re-sincronización (GnRH o PGF) por 4-5 días para conseguir mejores tasas de concepción⁽³⁴⁾.

Un algoritmo aplicable en los establecimientos lecheros con visitas ginecológicas semanales es realizar el diagnóstico ecográfico de preñez/vacuidad entre los días 28 y 32 después de la inseminación⁽²²⁾. Los posibles escenarios son:

1. Vacas preñadas (cuerpo lúteo, líquido intrauterino, embrión): confirmación del diagnóstico a partir del día 55 de la gestación y el sexaje.
2. Vacas preñadas con mellizos (mono o bilateral): confirmación del diagnóstico a partir del día 55 de gestación (riesgo de muerte embrionaria) y sexado (freemartinismo en caso de ser macho y hembra).
3. Vaca preñada, pero con embrión muerto: administración de prostaglandina, seguida por un Ovsynch® o un ShortSynch® después de 11-14 días.
4. Vaca vacía: Ovsynch® o ShortSynch® inmediatamente.

3.2 Vacas lecheras no cíclicas

Hay que distinguir entre el anestro ovulatorio y el anestro anovulatorio⁽³⁴⁾. En el primer caso, el verdadero problema es la falta de eficiencia en la detección de celos. Es necesario mejorar el manejo del rodeo, actuando en varios puntos críticos (ambiente zootécnico y ecológico, recursos humanos, etc.), con el objetivo de obtener una detección más eficiente e incluso, una mejor manifestación de los celos.

El anestro anovulatorio es un anestro verdadero. Existen cuatro formas clínicas: tipo I, tipo II, tipo

III, tipo IV^(34,55). Gracias al examen ecográfico es posible hacer un diagnóstico correcto, a menudo imposible con la palpación rectal, pero sobre todo, es posible hacer una distinción entre los cuatro tipos de anestro. El diagnóstico es importante no sólo para establecer la terapia, sino también para establecer un pronóstico.

3.2.1 Anestro Tipo I. Los ovarios son pequeños y carecen de tejido luteal. Los folículos se observan anecogénicos y pequeños (3-5 mm). Ningún folículo alcanza el diámetro de desviación (8 mm), ya que no ocurrió la selección del folículo dominante^(34,55).

3.2.2 Anestro Tipo II. Los ovarios carecen de tejido luteal. Los folículos tienen un diámetro superior a 8 mm. Como ocurrió la selección del folículo dominante se justifica la presencia de estructuras foliculares con un diámetro de 8-12 mm. Estos folículos dominantes persistentes, son conocidos como "pequeños quistes", para distinguirlos de los quistes foliculares de mayor dimensión (anestro tipo III)^(34,55).

3.2.3 Anestro tipo III. Los ovarios carecen de tejido luteal, pero presentan un folículo dominante que no ovuló y creció más allá de la medida normal (> 20-25 mm). Si bien en los quistes patológicos no hay CL, un 30% de las vacas quísticas presenta un cuerpo lúteo. La detección ecográfica del tejido luteal, independientemente de su tamaño, el número y de la ubicación de estos folículos dominantes persistentes (quistes), indica que el quiste es irrelevante: alrededor del 30% de los folículos dominantes persistentes, también a veces grandes, son contemporáneos a un cuerpo lúteo, por lo que el clínico debe centrarse en la presencia de tejido luteal, sin considerar el quiste. Ecográficamente, los quistes pueden evidenciarse en uno o en ambos

ovarios; es una estructura anecogénica de paredes delgadas, en la que puede haber trabéculas, que a veces alcanzan un espesor de 2-3 mm^(21, 26).

Estos trabéculas estabilizan la estructura quística interior, dándole una gran resistencia. A veces, los quistes están separados en diferentes compartimentos, otras veces están en el mismo ovario o se pueden encontrar en ambos ovarios como folículos dominantes persistentes de diferentes diámetros^(21, 26). El quiste folicular tiene una pared muy delgada, pero en el caso de luteinización, la pared puede engrosarse, llegando incluso a 2-3 mm^(21, 26). La existencia de quistes luteínicos ha sido cuestionada en varias ocasiones en la última década: se referían muchas veces a un quiste folicular luteinizado o un cuerpo lúteo con cavidad central^(21, 26). En cualquier caso, el diagnóstico diferencial entre un quiste y un cuerpo lúteo con cavidad central reside en la diferencia de 1-2 mm en el espesor de pared lúteal, ...¡muy poco incluso para un buen ecografista! La pared luteinizada del quiste se observa ecográficamente gris^(35, 55).

3.2.4 Anestro Tipo IV. Es la única forma de anestro verdadero, con presencia de tejido lúteal. Es posible encontrar uno o más CL, compacto y/o cavitario. El diagnóstico se realiza mediante la exploración del útero: siempre está presente la inflamación crónica del útero (endometritis purulenta, endometritis mucopurulenta, endometritis subclínica, piómetra, mucómetra). Se detecta un engrosamiento del endometrio > 8 mm y un lumen uterino > 3 mm; el contenido uterino, debido al contenido de polimorfonucleares (PMN), será de color gris, casi blanco, o negro con muchos puntos blancos (ventisca)^(22, 36).

El diagnóstico ecográfico del anestro Tipo I-II-III, se basa en la ausencia de un cuerpo lúteo, en dos exámenes ginecológicos sucesivos, con un

intervalo de 10-14 días^(55, 35).

El diagnóstico de cuerpo lúteo mediante palpación rectal tiene un margen de error de 40 a 50%^(22, 26).

La ausencia-presencia de un cuerpo lúteo no es exacta si se realiza de forma manual^(4, 23, 74).

El riesgo está en considerar como anovulatoria a una hembra cíclica, o a la inversa, cíclica (presencia de un CL) a una hembra anovulatoria (Tabla 1).

Tabla 1. Precisión a la palpación en la detección del CL⁽⁷⁰⁾

| Días | Frecuencia de detección del CL | |
|-------|--------------------------------|-----|
| Día 0 | 58/80 | 73% |
| Día 1 | 13/80 | 16% |
| Día 2 | 4/80 | 5% |
| Día 3 | 4/80 | 5% |
| Día 4 | 1/80 | 1% |

La identificación de la papila o la corona no es un método preciso para determinar la presencia/ausencia del cuerpo lúteo: el 80% de los cuerpos lúteos tiene una papila o corona incluida en el estroma ovárico, o carece de papila y/o corona, por lo que no es perceptible al tacto⁽³⁶⁾.

Tabla 2. Precisión en el diagnóstico del CL por palpación y por ecografía⁽⁶⁷⁾

| | Sensibilidad | Especificidad | Valor predictivo positivo |
|-----------------|--------------|---------------|---------------------------|
| Palpación | 85% | 95,7% | 89,5% |
| Ultrasonografía | 95% | 100% | 100% |

3.3 Ultrasonografía y sincronización en vacas carniceras

En Europa, la sincronización del ganado para carne tiene una orientación individual, en lugar de rodeo. Una aplicación sistemática de la IATF en el ganado vacuno es difícil, incluso en los países donde se hace ganadería extensiva.

Europa está sometida a una restricción en el uso de medicamentos: recientemente la Unión Europea

pidió a todos los países miembros regular (en sentido restrictivo) el consumo de cefalosporinas y quinolonas.

Incluso en lo que se refiere a las hormonas, las asociaciones de consumidores están elevando el tono del debate, exigiendo más transparencia en cuanto a los tratamientos a los que se ven sometidos los bovinos.

Hay muchos establecimientos que están orientados hacia la producción orgánica (biológica) de la carne. Las normas de producción de carne orgánica (ecológica) no permiten el uso de hormonas, ni para terapia ni para la sincronización. La inseminación artificial es posible, pero sólo si se puede demostrar que el toro utilizado no es el resultado de una transferencia de embriones.

En este contexto, el uso de la ultrasonografía tiene su lógica económica, para comprobar la ciclicidad de las vacas, para hacer un diagnóstico de preñez/vacuidad temprano (el valor de este diagnóstico se amplifica cuando se usa una inseminación estacional), para determinar el sexo fetal (especialmente en vaquillonas).

La situación en América del Sur y en Oceanía es muy diferente de la situación en Europa. Se trata de una producción extensiva, de gran/muy gran escala, con una inseminación estacional y en su mayoría con IATF.

Se puede decir, sin temor a equivocarse, que en la Argentina se han estudiado y desarrollado los principales programas de sincronización actualmente utilizados en el ganado vacuno ⁽⁶⁾.

Muchos de estos programas no son aplicables fuera de América Latina, debido a que incluyen el uso de estrógenos (EB y EC), que se considera ilegal en el resto del mundo.

En América Latina, se recurre a un uso sistemático de dispositivos intravaginales. Estos dispositivos son aplicados independientemente de la presen-

cia de un cuerpo lúteo. Las razones son de manejo y están basadas en que las tasas de concepción hacen que la relación costo/beneficio sea positiva.

También son ampliamente utilizados los programas de resincronización, que prevén la aplicación de dispositivos de liberación lenta de progesterona intravaginal, 14 días después de la inseminación. El día 23° se administra GnRH; se realiza el diagnóstico de gestación al día 30 después de la inseminación y en las vacas vacías se procede a la segunda parte del programa (PGF₂α + estrógeno) ⁽⁶⁾.

Dentro de un programa de manejo reproductivo en cría extensiva, la ecografía puede encontrar un espacio, justificado razonablemente a nivel económico.

Un examen ultrasonográfico, unos 30 días antes de la aplicación de los dispositivos, permitiría definir la incidencia de vacas sin cuerpo lúteo. Este hecho, asociado a la evaluación de la condición corporal, es un buen indicador del estado de energía del animal y permite hacer predicciones confiables sobre las tasas de concepción en el lote de animales examinados.

La selección de los animales sobre la base de la presencia/ausencia del cuerpo lúteo, también abre la posibilidad de otras formas de IATF, que no impliquen el uso de un dispositivo intravaginal.

El ultrasonido puede ser utilizado para el diagnóstico precoz de preñez/vacuidad; este servicio se introdujo en un programa de resincronización, lo que permite acortar el tiempo de las vacas no preñadas. El objetivo final es reducir el porcentaje de vacas no preñadas al final de la temporada de la inseminación.

El diagnóstico de preñez por ecografía también permite hacer una evaluación de la calidad del embrión. Hoy en día un buen ecografista, evaluando siete parámetros diferentes, puede evidenciar sufrimiento embrionario o muerte embrionaria tardía en 5-15 segundos ^(38, 39).

La ecografía también permite realizar el sexado fetal entre los 60 a 90 días de gestación (55-120)⁽³¹⁾. El diagnóstico del sexo fetal también representa una oportunidad para confirmar la preñez en curso⁽³¹⁾. Hay muy pocos datos acerca de la incidencia de muerte embrionaria tardía y muerte fetal temprana, sin embargo, puede ser un problema, que si está presente, deba ser diagnosticado con prontitud⁽³¹⁾. La determinación del sexo fetal tiene un impacto económico neto positivo por varias razones⁽³¹⁾:

1. Posibilidad de vender vacas/vaquillonas con preñez sexada, aumentando el valor de la preñez.
2. Posibilidad de planificar mejor el servicio, en función al número de hembras/machos encontrado.
3. Posibilidad de convenir una preñez macho para un centro de inseminación o para un criador interesado en el macho para servicio natural.
4. Posibilidad de planificar mejor los descartes.
5. Posibilidad de reducir las pérdidas fetales por distocia en vaquillonas.
6. Posibilidad de programar la gestión económica del establecimiento.

4 Conclusiones

Existen diferencias sustanciales entre las ganaderías extensiva e intensiva, como son muchas las diferencias entre la producción lechera y la de carne. Sin embargo, hay un denominador común: ambas deben ser capaces de generar rentabilidad.

La ecografía no es la solución del problema reproductivo, sólo es un examen complementario, que se adapta a las necesidades del clínico y a las necesidades del establecimiento. Sin embargo, pensar que la ecografía sirve solamente para anticipar unos días el diagnóstico de preñez/vacuidad no es correcto.

La introducción correcta de la ecografía dentro del programa de manejo reproductivo del estableci-

miento permite producir un beneficio económico.

No es absolutamente cierto, que el uso de la ecografía amplíe nuestra velocidad de trabajo: un gran ecografista, con una instalación funcional, puede ecografiar, incluso en un sistema extensivo, 60-70 hembras por hora.

La ultrasonografía es un examen complementario, cuyos beneficios están destinados al conocimiento de la fisiología y la patología de ovario y de útero por parte del técnico. Si se olvida de este "conocimiento", la ecografía se transforma en un simple juego de prestidigitación para engañar al productor.

En un futuro próximo, la regulación de la exportación de leche y carne será sometida a más restricciones. Los consumidores están exigiendo garantías: la "seguridad alimentaria", es el primer paso que hay que garantizar en el control de la cadena de alimentos.

El Mercosur garantiza la protección del medio ambiente y en ninguna parte del mundo, como América Latina, el concepto de bienestar animal está protegido y garantizado.

En un futuro próximo cercano, la exportación de carne y leche a Europa, e incluso a los países asiáticos (China), deberá respetar el "bienestar animal y la seguridad alimentaria"; en este contexto, la introducción de la ecografía en el manejo ginecológico, incluyendo ganado para carne, encuentra su razón de ser, tanto técnica como económicamente.

5 Bibliografía

1. Adams, G.P., Jaiswal, R., Singh, J., Malhi, P. Progress in understanding ovarian follicular dynamics in cattle. *Theriogenology* 69 (2008) 72-80
2. Aerts, J.M.J., Bols, P.E.J. Ovarian Follicular Dynamic. A review with emphasis on the bovine species: Part II: Antral development, exogenous influence and future prospects. *Reprod Dom Anim* 2008.
3. Austin, E.R., Mihn, M., Ryan, M.P., Williams, D.H., Roche,

- J.F. 1999. Effect of duration of dominance of the ovulatory follicle on onset of estrus and fertility in heifers. *Journal of Animal Sciences* 77:2219-2226
4. Bicalho, R.C., Galvao, K.N., Guard, C.L., Santos, J.E.P. 2008. Optimizing the accuracy of detecting a functional corpus luteum in dairy cows. *Theriogenology* 70:199-207
 5. Bisinotto, R.S., Ribeiro, E.S., Santos, J.E.P. 2014. Synchronisation of ovulation for management of reproduction in dairy cows. BSAS Annual Meeting Westport 18-21/05/2014.
 6. Bo, G., Baruselli, P.S. Synchronization of ovulation and fixed-time artificial insemination in beef cattle. BSAS Annual Meeting Westport 18-21/05/2014.
 7. Bossis, I., Wettemann, R.P., Welty S.D., Vizcarra J., Spicer L.J. Nutritionally induced anovulation in beef heifers: ovarian and endocrine function during realimentation and resumption of ovulation. *Biolreprod* 2000, 62: 1436-1444
 8. Curran, S., Ginther, O.J. 1991. Ultrasonic determination of fetal gender in horses and cattle under farm conditions. *Theriogenology* 36: 809-814
 9. Curran, S., Kastelic, J.P., Ginther, O.J. 1989. Determining sex of the bovine fetus by ultrasonic assessment of the relative location of the genital tubercle. *Anim.reprod.Sci.* 19:217-227
 10. Curran, S., Pierson, R.A., Ginther, O.J. 1986. Ultrasonographic appearance of the bovine conceptus from das 10 through 20. *J.Amer.Vet.Med.Assoc.* 189:1289-1294
 11. Curran, S., Pierson, R.A., Ginther, O.J. 1986. Ultrasonographic appearance of the bovine conceptus from das 20 through 60. *J.Amer.Vet.Med.Assoc.* 189:1295-1302
 12. Curvo-Arago, J., Garcia-Rosellò, E., Garcia-Munoz, A., Vallcabres-Torres, X., Martinez-Ros, P., Gonzàles-Bulnes, A. 2011. The effect of a single high dose of PGF2a administered to dairy cattle on luteal function, morphology and follicular dynamic. *Theriogenology* 76:1736-1743
 13. DesCoteaux, L., Colloton, J., G. Gnemmi. 2010. Practical Atlas of Ruminant and Camelid Reproductive Ultrasonography. Chapter 4: 35-62. Wiley-BlackWell 2010.
 14. Evans, A.C., Adams G.P., Rawlings N.C. Endocrine and ovarian follicular changes leading up to the first ovulation in prepuberal heifers. *J ReprodFertil* 1994, 100: 187-194
 15. Fricke, P.M., Caraviello, D.Z., Weigel, K.A., Welle, M.L. Fertility of dairy cows after resynchronization of ovulation at three intervals following first timed insemination. *J Dairy Sci.* 2003; 86: 3941-3950
 16. Ginther O.J., Knopf, K., Kastelic, J.P. Ovarian follicular dynamics in heifers during early pregnancy. *BiolReprod* 1989, 41: 247-254
 17. Ginther, O.J. 1998. Ultrasonic Imaging and Animal Reproduction: Cattle. Book 3. Equiservices Publishing.
 18. Ginther, O.J. 2007. Ultrasonic Imaging and Animal Reproduction: Cattle. Book 4. Equiservices Publishing.
 19. Gnemmi, G. 1997. Ultrasonografia in ginecologia bovina. WHS. XXIX Congresso Nazionale Società Italiana di Buaitria. Bergamo 30 Maggio, 1 Giugno, 1997.
 20. Gnemmi, G. 1999. Ultrasonografia in ginecologia buiatica. *Summa Veterinaria* 8:1999, 59-62
 21. Gnemmi, G. 2004. Atlante di ultrasonografia ginecologica buiatica. Point Veterinarie Italie
 22. Gnemmi, G. 2013. Zastosowanie Usg w wykrywaniu populacji bezowulacyjnych. *Lecznica n°2/2013: 36-37* (Articolo in Polacco)
 23. Gnemmi, G. Analisi economica dell'uso dell'ultrasonografia in ginecologia buiatica. *Summa* 2001: N° 6: 61-64
 24. Gnemmi, G. Fisiopatologia delle ovaie e del ciclo. Cap. 5 pp 89-118. Gestione clinica della riproduzione bovina, a cura di G.Sali. La Point Veterinaire Italie 2013.
 25. Gnemmi, G. Practical uses for transrectal ultrasonography in reproductive management of cattle. XXVI Worl Buiatric Congress. Santiago Chile 2010
 26. Gnemmi, G. Ultrasonografia riproduttiva in buiatria. Applicazioni di campo nell'allevamento del bovino da latte. *Summa* 2000; N° 1: 61-67
 27. Gnemmi, G., Ferrari, E. Maraboli, C. 2013. Endometrite clinica e subclinica. Significato della diagnosi e prospettive terapeutiche. *Summa* N°7: 29-33
 28. Gnemmi, G., Ferrari, E., Maraboli, C. 2013. Clinical and subclinical endometritis: meaning of the diagnosis and therapeutic perspectives. Oct. 6-8, 2013; Olsztyn, POLAND
 29. Gnemmi, G., Maraboli, C. 2007. Ultrasonografia e gestione riproduttiva. Parte I: Programmi di sincronizzazione. *Summa* n°8 2007: 38-44
 30. Gnemmi, G., Maraboli, C. 2008. Diagnosi ultrasonografica precoce di gravidanza. *Summa animali da reddito* 3, n. 3: pp. 1-6.
 31. Gnemmi, G., Maraboli, C. 2008. Il sessaggio fetale. *Summa* n°2: 3-6
 32. Gnemmi, G., Maraboli, C. 2010. Diagnosi ultrasonografica delle patologie uterine nella bovina. *Summa Veterinaria Animali da Reddito*, N°2 Marzo: 9-15
 33. Gnemmi, G., Maraboli, C. 2010. Anaestro nella bovina da latte ad alta produzione: approccio diagnostico. *Summa*

- Veterinaria 2010 n°1: 1-6
34. Gnemmi, G., Maraboli, C. 2012. L'anaestro nella bovina: diagnosi e terapia. Rivista di medicina Veterinaria Vol.46, n°1/2012:21-26
 35. Gnemmi, G., Maraboli, C. 2012. L'anaestro nella bovina: fisiopatologia di un evento multifattoriale. Rivista di medicina Veterinaria Vol.46, n°1/2012: 17-20
 36. Gnemmi, G., Maraboli, C. 2013. Algoritmo di lavoro in presenza di morte embrionale. Summa Anno 8, n°4/2013: 4-7
 37. Gnemmi, G., Maraboli, C. 2013. Diagnosi precoce di sofferenza e/o morte embrionale tardiva. Summa Anno 8, n°4/2013: 52-61
 38. Gnemmi, G., Maraboli, C. 2013. Morte embrionale: diagnosi ultrasonografica. Parte Prima. Summa Anno 8, n°4/2013: 62-67
 39. Gnemmi, G., Maraboli, C. 2013. Morte embrionale: diagnosi ultrasonografica. Parte Seconda. Summa Anno 8, n°4/2013: 68-72
 40. Gnemmi, G., Maraboli, C. 2012. Il corpo luteo nella diagnosi di gravidanza. Summa n°5/2012: 1-7
 41. Gnemmi, G., Maraboli, C. Inseminazione a tempo fisso: ultime novità in tema di sincronizzazione dell'ovulazione. Summa Veterinaria N°5 Giugno 2011
 42. Kastelic, J.P., Bergfelt, D.R., Ginther, O.J. 1990. Relation between ultrasonic assessment of the corpus luteum and plasma progesterone concentration in heifers. *Theriogenology* 33:1269-1278
 43. Kastelic, J.P., Bergfelt, D.R., Ginther, O.J. 1991. Ultrasonic detection of the conceptus and characterization of intrauterine fluid on days 10 to 22 in heifers. *Theriogenology* 35: 569-581
 44. Kastelic, J.P., Curran, S., Ginther, O.J. 1989. Accuracy of ultrasonography for pregnancy diagnosis on day 10 to 22 in heifers. *Theriogenology* 31: 813-820
 45. Kastelic, J.P., Curran, S., Pierson, R.A., Ginther, O.J. 1988. Ultrasonic evaluation of the bovine conceptus. *Theriogenology* 29: 39-54
 46. Kastelic, J.P., Ginther, O.J. 1989. Fate of conceptus and corpus luteum after induced embryonic loss in heifers. *J.Amer.Vet.Med.Assoc.* 194:922-928
 47. Kastelic, J.P., Northey, D.L., Ginther, O.J. 1991. Spontaneous embryonic death on days 20 to 40 in heifers. *Theriogenology* 35: 351-363
 48. Kastelic, J.P., Pierson, R.A., Ginther, O.J. 1990. Ultrasonic morphology of corpora lutea and central luteal cavities during estrous cycle and early pregnancy in heifers. *Theriogenology* 34: 487-498
 49. Lopez, H., Satter, L.E., Wiltbank, M.C. 2004. Relationship between level of milk production and estrous behavior of lactating dairy cows. *Animal Reproduction Science* 81, 209-223
 50. Lussier, J.G., Matton, P., Dufur, J.J. Growth rates of follicles in the ovary of the cow. *J ReprodFertil* 1987, 81: 301-307
 51. McSweeney, K.D. 2008. DCRC Omaha Nebraska.
 52. Mihn, M., Baguisa, A., Boland, M.P., Roche, J.F. 1994. Association between the duration of dominance of the ovulatory follicle and pregnancy rate in beef heifers. *Journal of Reproduction and Fertility* 102: 123-130
 53. Monge Veterinarios S.L.P. Eficiencia Reproductiva en Ganado Vacuno Lechero. Curso Teórico Práctico, 30 Sep-01 Oct 2010
 54. Morita, Y., Tilly, J.L. Oocyte apoptosis: like sand through an hourglass. *DevBiol* 1999, 213: 1-17
 55. Peter, A.T., Vos, P.L.A.M., Ambrose, D.J. 2009. Postpartum anestrus in dairy cattle. *Theriogenology* 71:1333-1342
 56. Pierson, R.A., Ginther, O.J. 1984. Ultrasonography for the detection of pregnancy and study of embryonic development in heifers. *Theriogenology* 22:225-233
 57. Pierson, R.A., Ginther, O.J. 1984. Ultrasonography of the bovine ovary. *Theriogenology* 21: 105-112
 58. Pierson, R.A., Ginther, O.J. 1986. Ovarian follicular population during early pregnancy in heifers. *Theriogenology* 26: 649-659
 59. Pierson, R.A., Ginther, O.J. 1987. Reliability of diagnostic ultrasonography for identification and measurement of follicles and detecting the corpus luteum in heifers. *Theriogenology* 28:929-936
 60. Pierson, R.A., Ginther, O.J. 1987. Ultrasonographic appearance of the bovine uterus during the estrus cycle. *J.Amer.Vet.Med.Assoc.* 190:995-1001
 61. Pieterse, M.C. 1989. Ultrasonic characteristics of physiological structures on bovine ovaries. In: *Diagnostic ultrasound and animal reproduction*. Edited by Taverne M.A.M., Willemsse A.H. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, NL. Pp37-51
 62. Pieterse, M.C., Szenci, O., Willemsse, A.H., Bajcsy, C.S.A., Dieleman, S.J., Taverne, M.A.M. 1990. 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* 33:697-707
 63. Pieterse, M.C., Taverne, M.A.M., Kruij, T.A.M. Willemsse, A.H. 1990. Detection of corpora lutea and follicles in cows: a comparison of transvaginal ultrasonography and rectal

- palpation. *Vet Rec.* 126:552-554
64. Pursley, J.R., Kosorok, M.R., Wiltbank, M.C. 1997. Reproductive management of lactating dairy cows using synchronization of ovulation. *J Dairy Sci* 80: 301-306
65. Pursley, J.R., Martin, J.N. Control farmacológico de la función del folículo y del cuerpo lúteo para mejorar la fertilidad en las vacas lecheras en lactación. XVI Congreso Internacional ANEMBE DE MEDICINA BOVINA. Avila 11-13 de Mayo 2011. Pag: 180-185
66. Pursley, J.R., Mee, M.O., Wiltbank, M.C. 1995. Synchronization of ovulation in dairy cows using PGF2a and GnRH. *Theriogenology* 44:915-923
67. Ribadu, A.Y. Ward, W.R., Dobson, H. 1994. Comparative evaluation of ovarian structures in cattle by palpation per rectum, ultrasonography and plasma progesterone concentration. *Vet Rec Nov* 5; 135(19): 452-457
68. Santos, J.E.P., Narciso, C.D., Rivera, F, Thatcher, W.W., Chebel, R.C. 2010°. Effect of reducing the period of follicle dominance in a timed AI protocol on reproduction of dairy cows. *J. Dairy Sci.* 93:2976-2988
69. Santos, J.E.P., Thatcher, W.W., Chebel, R.C., Cerri, R.L., Galvao, K.N. 2004. The effect of embryonic death rates in cattle on the efficacy of estrus synchronization programs. *Animal Reproduction Science* 82-83, 513-535
70. Sprecher, D.J., Nebel, R.L., Whitman, S.S. 1989. The predictive value, sensitivity and specificity of palpation per rectum and transrectal ultrasonography for the determination of bovine luteal status. *Theriogenology* 31: 1165-1172
71. Sterry, R.A., Silva, E., Kolb, D., Fricke, P.M. Strategic treatment of anovular dairy cows with GnRH. *Theriogenology* 71 (2009) 534-542
72. Sterry, R.A., Silva, E., Kolb, D., Fricke P.M. 2009. Strategic treatment of anovular dairy cows with GnRH. *Theriogenology* 71: 534-542
73. Sterry, R.A., Welle, M.L., Fricke, P.M. Effect of interval from timed artificial insemination to initiation of resynchronization of ovulation on fertility of lactating dairy cows. *J Dairy Sci* 2006; 89: 2099-2109
74. Stevenson JS1, Tenhouse DE, Krisher RL, Lamb GC, Larson JE, Dahlen CR, Pursley JR, Bello NM, Fricke PM, Wiltbank MC, Brusveen DJ, Burkhardt M, Youngquist RS, Garverick HA. 2008. Detection of anovulation by heatmount detectors and transrectal ultrasonography before treatment with progesterone in a timed insemination protocol. *J Dairy Sci* 91(7):2901-2915
75. Stroud, B.K. 1994. Clinical applications of bovine reproductive ultrasonography. *Comp. Cont. Ed.* 16:1085-1097
76. Stroud, B.K. 1996. Using ultrasonography to determine bovine fetal sex. *Vet Med.* 91:663-672
77. Thatcher, W.W., Bilby, T.R., Bartolome, J.A., Silvestre, F., Staples, C.R., Santos, J.E.P. 2006. Strategies for improving fertility in the modern dairy cow. *Theriogenology* 65:30-44
78. Townson, D.H., Tsang, P.C., Butler, W.R., Frajblat, M., Griel Jr, L.C., Johnson, C.J., Milvae, R.A., Niksic, G.M., Pate, J.L. 2002. Relationship of fertility to ovarian follicular waves before breeding in dairy cows. *Journal of Animal Sciences* 80:1053-1058
79. Vasconcelos, J.L.M., Silcox, R.W., Rosa, G.J., Pursley, J.R., Wiltbank, M.C. 1999. Synchronization rate, size of the follicle and pregnancy rate after synchronization of ovulation beginning on different days of the estrus cycle in lactating cows. *Theriogenology* 52:1067-1078
80. Wiltbank, M.C., Lopez, H., Sartori, R., Sangsritavong, S., Gumen, A. 2006. Changes in reproductive physiology of lactating dairy cows due to elevated steroid metabolism. *Theriogenology* 65:17-29
81. Yañiz, J.L., Santolaria, P., Giribet, A., López-Gatiús, F. 2006. Factors affecting walking activity at estrus during postpartum period and subsequent fertility in dairy cows. *Theriogenology* 66:1943-1950