

LA ECOGRAFIA COMO MEDIO DIAGNOSTICO Y EVALUACION DE LOS PROCESOS REPRODUCTIVOS EN EL BOVINO.

Dr. Manuel Tamayo Torres
Prof. de Reproducción y Biotecnología de la Reproducción.
Departamento de Clínica, Facultad de Medicina Veterinaria,
Universidad Agraria de La Habana. San José, La Habana.

INTRODUCCION

La ecografía o ultrasonografía es una técnica en la que se emplea ondas de sonido de alta frecuencia para producir imágenes de los tejidos blandos y órganos internos, las cuales podemos visualizar a través de la pantalla del ecógrafo. La aplicación del ultrasonido en las especies bovina y equina corresponde a los años 80, sin embargo su desarrollo y perfeccionamiento para el estudio de los eventos reproductivos se ha acelerado en la presente década.

La técnica de ecografía en reproducción bovina se incrementa cada día por el veterinario clínico y el especialista en biotecnología de la reproducción, pues su utilización es demandada cada vez más por los ganaderos y los centros científicos, ya que su aplicación confirma o desestima la valoración realizada por palpación rectal, constituyendo un medio diagnóstico de certeza en la dinámica de las ondas foliculares, desarrollo del cuerpo lúteo, la determinación del estado de gestación precoz, sexado de las crías y la evaluación de los procesos patológicos del sistema reproductor, entre otros usos.

La ecografía es una técnica de diagnóstico por imagen sobre la base de la emisión de ultrasonidos y la recepción de ecos. Estos ecos se producen por la reflexión de los ultrasonidos a nivel de los distintos tejidos. Cuanto mayor sea la reflexión, mayor intensidad tendrán los ecos, pero menor cantidad de ultrasonidos serán capaces de seguir avanzando y mandar información. En el formato de imagen llamado modo B, estos ecos van e ser presentados como puntos de brillo, que serán tanto más brillantes cuanto mayor sea la reflexión, y serán en una posición proporcional al tiempo que han tardados en ser recibidos. La imagen ecográfica se corresponde con el conjunto de puntos de brillo, que representa un corte anatómico de la región examinada. Los órganos o tejidos serán hiper, hipo o anaecogénicos, según la cantidad de ultrasonidos que reflejen. Sin embargo, en la imagen aparecen puntos de brillo que no se corresponden con ecos producidos a nivel de estructuras reales del paciente, son los denominados artefactos, y es importante conocerlos y aprender a

diferenciarlos de los ecos reales, para poder interpretar correctamente las imágenes (Díez, 1997).

El objetivo del presente trabajo es ofrecer una información actualizada y resumida de la utilización de la técnica de ecografía en el diagnóstico y valoración de los procesos reproductivos y biotecnológicos de la reproducción bovina.

PRINCIPIOS BASICOS DE LA ULTRASONOGRAFIA

La máquina de ultrasonidos o ecógrafo utilizan ondas de sonido de alta frecuencia, cuya magnitud de medida es el megahertz (MHz), 1 MHz = 1'000 000 de ondas de sonido por segundo, para producir imágenes de órganos internos y de tejidos blandos. El ecógrafo está integrado por la consola y el transductor. La consola está compuesta por el monitor, los mandos y el teclado, y en su interior posee los mecanismos que transforman las señales eléctricas provenientes del transductor en imágenes visualizables en la pantalla del monitor. El transductor posee una gran cantidad de pequeños cristales piezoeléctricos, cuya vibración por el paso de la corriente eléctrica produce la emisión de ondas que se transmiten a través de los tejidos en diferentes ángulos e intensidad.

La ecografía se fundamenta en el principio impulso - eco donde los impulsos viajan a través de los tejidos a una velocidad constante hasta encontrarse una superficie reflectante, que envía de regreso parte de ellos a la fuente emisora. Las ondas de sonido tienen las características siguientes:

- Período: es el tiempo que demora en completarse un ciclo.
- Amplitud: es la altura de la onda, equivalente a la intensidad o volumen del sonido, y se mide en decibelios (dB).
- Velocidad: depende del medio que el sonido atraviese, en tejido blando es de 1 540 m/s.
- Frecuencia: es el número de ciclos o períodos por segundo (entre 2 y 10 MHz).
- Longitud: es la distancia que la onda recorre en un segundo, o sea, 0,3 - 1,5 mm en el caso de los ultrasonidos.

En correspondencia con el tejido escaneado, el color de las imágenes se traduce en distintas tonalidades de grises desde el blanco hasta el negro, donde se puede precisar imágenes con zonas hiperecogénicas - más blancas en el monitor - anecogénicas - negras o hipoecogénicas - oscuras. Los líquidos ofrecen una imagen en negro, pero los gases, músculos, huesos y estructuras sólidas se muestran en blanco. Los límites entre dos tejidos adyacentes de distintas densidades se denominan interfase, las cuales nos posibilitan delimitar los órganos y tejidos objeto de investigación; mientras las densidades nos propician evaluar los cambios normales o anormales de los órganos correspondientes.

TIPOS DE ECOGRAFOS

Los equipos ultrasonográficos utilizados en bovino son conocidos como scanners de modo B y tiempo completo con transductores lineales o sectoriales de 3,5 , 5,0 o 7,5 MHz. Modo B indica la modalidad de brillo en el que la imagen es un corte bidimensional del órgano que se analiza. Por su parte, tiempo completo expresa que los impulsos se transmiten sucesivamente para conformar una visión instantánea de los tejidos examinados.

Los ecógrafos sectoriales trabajan con transductor sectorial y producen una imagen tipo pirámide. Los lineales funcionan con transductores lineales conformando imágenes de tipo rectangular. Los transductores lineales son usados más frecuentemente en reproducción bovina, ya que el recto tiene una amplia superficie plana. La ventaja de los transductores de sector es que necesitan una pequeña superficie de contacto. En la actualidad los ecógrafos emplean transductores convexos que son de frecuente aplicación en la tecnología de aspiración folicular y obtención de ovocitos para la fertilización in vitro.

Las sondas lineales tienen más superficie de contacto, las hay externas y transrectales. Para la práctica de ecografía en la reproducción de vacas y yeguas es más conveniente una sonda lineal transrectal, esta misma sonda puede ser también aplicada para ecografía externa del aparato reproductor de las ovejas, cerdas y perras, así podemos decir que es la sonda más versátil y amortizable económicamente. En la vaca es recomendable utilizar sondas transrectal lineales de 5,0 MHz, aunque los ovarios, útero y preñeces hasta los 40 días se ven mejor con las sondas de 7,5 MHz, a la hora de sexar o en animales con el útero descolgado, falta penetración con la sonda de 7,5 MHz. Se aconseja trabajar con sondas de una sola frecuencia, que poseen mejor calidad de imágenes que las multifrecuencias.

El profesor Campo (1998) señala que ha empleado la técnica de ecografía en UNOPAR. Brasil para evaluar los procesos fisiológicos y el diagnóstico de diferentes patologías del sistema reproductor de la vaca y de especies menores con el uso de los equipos de ultrasonido de Esaote-Pie Medical con un alto nivel de eficacia y diversidades de aplicación.

Actualmente Esaote-Pie Medical ofrece gran variedad de equipamientos de ultrasonido veterinario para uso específico o múltiple en bovinos, equinos, ovinos, cerdos y pequeños animales. Entre los tipos de mayor aplicación se encuentran: Scanner 100LC, Scanner 200 Vet, Scanner 240 Vet y Scanner 480 Vet.

MODO DE UTILIZACION DEL ECOGRAFO

En el diagnóstico y valoración ecográfica del sistema reproductor de la vaca es imprescindible lograr imágenes de alta calidad, disminuyendo la proporción de artefactos, por lo que la preparación de la hembra a examinar y de las condiciones de trabajo y protección

contribuyen notablemente a obtener una mayor precisión en la interpretación de dichas imágenes.

En la práctica de rutina, la ecografía se realiza parecido a la exploración del sistema reproductor por vía rectal; generalmente no es necesario vaciar la ampolla del recto de su contenido de heces fecales, pero sí es recomendable hacerlo en estado de gestación de poco tiempo o en caso de vacas difíciles de ecografiar. Previamente a la introducción de la sonda debemos efectuar una breve exploración rectal con el propósito de conocer la ubicación del útero y de los ovarios, pues no es recomendable palpar y ecografiar simultáneamente ya que el ecografista debe concentrar su atención en la observación y valoración de las imágenes registradas en la pantalla del ecógrafo. Debemos precisar un buen contacto del transductor con la mucosa rectal para obtener imágenes de mejor calidad.

La sonda se introduce por vía transrectal sujeta entre los dedos pulgar, índice y corazón y se sitúa sobre la localización del útero y ovarios, desplazándola suavemente; con movimientos controlados del transductor se logra una buena sucesión de imágenes correspondientes a los distintos cortes de los órganos o tejidos examinados - scaneados.

EXAMEN ECOGRAFICO DEL SISTEMA REPRODUCTOR

Ecografía del Utero

El útero se examina en toda su dimensión con cortes transversales, longitudinales y oblicuos. Si los cuernos están vacíos es relativamente fácil su identificación mediante la visualización en la pantalla de redondeles de 2 a 4 cm de diámetro, pero si la vaca está en celo, entonces la luz uterina se observa con exudados, apreciándose una imagen de estrella oscura (anecogénica) en toda la longitud del cuerno. En la ultrasonografía del útero es fundamental el análisis de los cambios morfológicos durante el ciclo estral de la vaca. El incremento de volumen es evidenciado por el aumento de vasodilatación y edema y por la acumulación de líquido intrauterino, en el cervix y vagina. El espesor del útero comienza a aumentar 3 a 4 días antes de la ovulación y disminuye después de esta hasta los 3 a 4 días del ciclo, luego permanece sin cambios durante el diestro.

El líquido intrauterino comienza a ser visible a los 3 a 4 días previos a la ovulación y disminuye hasta los días 3 a 6 del ciclo. El mayor acúmulo de fluido coincide con la máxima producción de mucus en las fases de estro y metestro. Mediante el transductor de 5,0 MHz se ha determinado la coincidencia del número de secciones transversales y la forma de los cuernos, confirmando la teoría de que el útero de la vaca está muy contorneado en el momento de máxima concentración de progesterona. La evaluación de la forma y tamaño uterino puede convertirse en indicador que refleja la presencia de progesterona o estrógeno circulante.

La ultrasonografía es una técnica precisa en el diagnóstico de gestación, su mayor impacto consiste en la realización de una evaluación precoz y de alto porcentaje de certeza del concepto en el clastro materno, principalmente a partir del día 23 de gestación, lo cual nos permite incrementar la eficiencia reproductiva, programar aproximadamente las fechas de partos y la atención de las parturientas. Este tema lo trataremos más ampliamente en un acápite independiente más adelante.

La ecografía es fundamental para el diagnóstico de diferentes estados patológicos del aparato reproductor, tales como la piometra, metritis, salpingitis, hidrosalpinx y otras. En el diagnóstico de la metritis se visualiza líquido intrauterino, el cual es más ecogénico que el de la gestación, posee aspecto nevado con punteado en blanco. Cuando el contenido es francamente purulento y denso, la imagen es muy ecogénica y puede llegar a tener una tonalidad más blanca que la de las paredes de los cuernos.

Ecografía de los Ovarios Folículos

En el examen ecográfico de los ovarios, los folículos se muestran a través de imágenes no ecogénicas de color negro en forma redondeada o en estructuras irregulares debido a la compresión de los folículos adyacentes, al cuerpo lúteo y a la compresión de los folículos por el estróma ovárico. Las medidas que obtenemos de los folículos corresponden a las dimensiones del antro folicular y no incluye el diámetro de la pared.

Los folículos preovulatorios se muestran como estructuras redondeadas anecogénicas de 1,5 a 2,5 cm o 15 - 17 mm, tamaño con el cual se produce la ovulación en la vaca, según los resultados de diferentes autores, los cuales han corroborado sus datos con la posterior formación del cuerpo lúteo.

La determinación de la dinámica de las ondas foliculares mediante ecografía es uno de los resultados de mayor impacto en la biotecnología de la reproducción bovina. El inicio de una onda folicular se caracteriza por la formación de un gran número de folículos simultáneamente, selección del folículo dominante y atresia de los folículos más pequeños, recesivos o subordinados. En ausencia de luteólisis el folículo dominante detiene su crecimiento, comienza su regresión y da paso a una nueva onda folicular. El día cero del ciclo es el primer día que desaparece el folículo preovulatorio y coincide con el surgimiento de la primera onda folicular.

En la mayoría de las vacas y novillas se ha comprobado que tienen dos o tres ondas de crecimiento foliculares. En hembras con 2 ondas, estas se inician los días 0 y 10 del ciclo, mientras que en los de 3 ondas, comienza los días 0, 9 y 16. El folículo dominante es ovulatorio en la segunda onda en vacas con 2 ondas y en la tercera en animales de 3 ondas.

Cuerpo Lúteo

El cuerpo lúteo (CL) se muestra evidente en imágenes ecográficas alrededor de los 2 - 3 días posteriores a la ovulación. Esta estructura es hipoecogénica en la vaca, algo oscura y redondeada con 1,5 a 3,5 cm de tamaño en correspondencia con los estadios del CL hemorrágico, CL maduro o CL en regresión.

En investigaciones realizadas, entre el 30 y 80 % de los CL presentan cavidad central de 2 a 20 mm de diámetro con zona anecogénica oscura, probablemente conformada por el líquido folicular del folículo que originó al CL, y rodeada por tejido luteal; en estos casos, los CL son fisiológicos. La concentración de progesterona y el porcentaje de gestación no muestran diferencias significativas en vacas con CL con cavidad en comparación con los que tienen CL compacto.

En hembras superovuladas también podemos evaluar la presencia de cuerpos lúteos (CL), pero cuando la respuesta es superior a 10 ovulaciones por ovario es difícil precisar el número de ellos. Sin embargo, la ecografía nos permite hacer una valoración más precisa de la respuesta superovulatoria, determinar la presencia de folículos anovulatorios y descubrir estados patológicos, cuya información es fundamental para decidir si se efectúa, o no, la recolección de ovocitos / embriones.

Quistes Folículoares

El diagnóstico de quistes ováricos se realiza sobre la base del análisis de imágenes visuales de los ovarios con estructuras redondeadas anecoicas de un tamaño superior a 25 mm que son persistentes y provocan que la vaca no cicle normalmente. Es importante diferenciar estas imágenes de otras similares que pueden ser artefactos.

Los quistes luteínicos poseen paredes más gruesas, zonas luteinizadas en su interior y su antro y concentraciones más altas de progesterona en sangre que los quistes foliculares, en los cuales su antro es anecoico y su pared fina.

En una investigación realizada por Farin et al. (1990) en la Universidad de Missouri, se estableció el diagnóstico diferencial entre quistes foliculares y luteínicos a través de ecografía y niveles de progesterona en sangre determinado por RIA, clasificando los quistes como foliculares cuando se encontró una concentración de progesterona menor o igual a 0,5 ng / ml y luteales con más de 0,5 ng / ml. La sensibilidad para el diagnóstico ecográfico de los quistes luteínicos fue del 91,5 %, mientras que para los foliculares fue del 70,0 %.

Los autores anteriormente mencionados, precisaron que de los 67 quistes analizados, 47 fueron luteínicos y 20 foliculares por técnica de RIA; siendo los resultados similares al

diagnóstico por ecografía, en lo que se clasificaron 49 quistes luteales y 18 foliculares. Se demostró que el 10,3 % de los quistes diagnosticados por exploración transrectal fueron falsos, correspondiendo a estructuras de cuerpos lúteos cavitarios o cuerpos lúteos con folículo adyacentes. El estudio demostró que la ecografía es una técnica de certeza para el diagnóstico de vacas quísticas, resulta efectiva para la diferenciación entre los quistes folicular y luteal, aún cuando posee un grado mayor de sensibilidad para precisar la presencia de quistes luteínicos.

DIAGNOSTICO DE GESTACION POR ECOGRAFIA

En la actualidad el uso de la técnica de ecografía para el diagnóstico precoz de la gestación o determinación temprana del feto es cada vez más sistemático entre los veterinarios clínicos. Las investigaciones al respecto revelan imágenes de la dinámica embrionaria y fetal desde 3,5 - 4,0 mm alrededor del día 20 hasta 64,5 - 67,5 mm a los 2 meses de preñez. La morfología del embrión se transforma de una fina línea a una forma de herradura entre los días 20 a 25, pero luego se aprecia en forma de ele mayúscula.

En opinión de Pierre et al. (1997) es difícil detectar el embrión antes del día 20 post-fertilización, sin embargo, el día 21 se notan los latidos cardíacos. En la práctica ecográfica a partir del día 25 podemos observar el cuerpo embrionario, mientras los latidos del corazón nos indican que vive. En este momento también es posible realizar las mediciones correspondientes, comprobar si es normal su desarrollo y conocer de la presencia de uno o más embriones. El diagnóstico precoz de la gestación necesita un mínimo de experiencia y especial cuidado; sobre todo debemos confirmar posteriormente la preñez, ya que existe una tasa normal de reabsorción embrionaria. Desde este punto de vista, la ecografía no es una técnica que sustituye el control de la gestación por palpación rectal, que con experiencia es confiable, rápido y económico, pero si es una ayuda valiosa, particularmente para casos dudosos, casos de urgencia, animales de alto valor y en vacas repetidoras.

Los ultrasonidos de tiempo real - modo B - constituyen un medio confiable para el diagnóstico de gestaciones en el bovino a partir del día 26 en adelante, ya que se puede localizar y explorar el útero mediante la sonda o transductor con relativa facilidad en un tiempo mínimo. Las investigaciones demuestran que entre los días 26 y 33 posterior a la inseminación artificial, existe una sensibilidad del 97,7% y una especificidad de 87,8%, por lo cual es también un método fiable para el diagnóstico de hembras no gestantes. En la práctica es importante determinar la presencia de un cuerpo lúteo funcional y la evaluación del embrión junto con la visualización de los latidos cardíacos. La frecuencia del corazón disminuye de 188 latidos/minuto el día 20 de la preñez a 145 aproximadamente el día 26 y luego se mantiene prácticamente constante hasta los 2 meses.

Es posible observar gestaciones de menos de 18 días con un transductor de 7,5 MHz y de 18 a 20 o más con 5,0 MHz; sin embargo no es recomendable realizar diagnóstico de certeza

antes de los 27 días. En estos casos la imagen no es ecogénica y corresponde al líquido amniótico y alantoideo. Al rededor de los días 25 - 27 se puede distinguir el embrión como un punto blanco (ecogénico) dentro de una zona negra (anecogénica). El líquido alantoideo se incrementa rápidamente después del día 28 y se extiende por todo el cuerno gestante. Por su parte, la menbrana amniótica se distingue nítidamente en las imágenes ecográficas posteriores a los 30 días de preñez.

En la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Agraria de La Habana se ha utilizado con fines docentes de postgrado el diagnóstico de gestación por ecografía en bovinos con la asesoría del Dr. Rupérez y Col. -Cursos Práctico de Navarra, 1997- apreciando que los veterinarios clínicos se apropian rápidamente de las habilidades necesarias para la aplicación de esta tecnología. Durante las prácticas se observaron 46 vacas y 30 novillas gestantes entre 30 y 60 días, confirmando el diagnóstico por palpación rectal a los 3 meses de preñez en el 93 y 97 % de los casos, lo cual reafirma las posibilidades y la alta confiabilidad del diagnóstico ecográfico.

El error diagnóstico por ecografía es mínimo cuando se adquiere cierta experiencia. Diagnosticar una vaca gestante es fácil, por lo tanto, donde debemos tener un máximo de precisión es en el examen de una hembra vacía. Siempre es recomendable tener en cuenta los siguientes elementos:

- Ciertas vacas anéstricas con útero flácido retienen líquido intrauterino. La ecografía de los ovarios nos indica la ausencia de estructura luteal.
- Algunas vacas en la fase estral acumulan líquido de celo en la curvatura mayor del útero, siendo las imágenes similar a una gestación precoz. La ecografía de los ovarios nos revela la presencia de un folículo preovulatorio y ausencia de cuerpo lúteo.
- En los casos de piometras, su contenido francamente purulento es más ecogénico que los líquidos que acompañan la preñez con un punteado blanco intenso.
- En el diagnóstico de reabsorción fetal se aprecian imágenes con menos líquidos, falta de viabilidad, rotura de membranas fetales y granos ecogénicos flotando dentro del líquido, que corresponden a restos de las membranas y del feto. La reabsorción ocurre en un 5-6 % de las vacas que se diagnostican por ecografía entre los 27 y 90 días (Rupérez, 1997).
- El diagnóstico de la mortalidad embrionaria y fetal se sustenta en indicios tales como la observación de las membranas fetales sin feto, cuernos uterinos sin feto y sin metritis; presencia de fetos sin latidos cardíacos, ni pulso en el cordón umbilical, sin movimiento en general y de aspecto y desarrollo anormales (Pierre et al., 1997).

IDENTIFICACION DEL SEXO O SEXAJE POR ECOGRAFIA

La determinación del sexo de embriones antes de su implantación ha sido un reto perseguido en el campo de la producción bovina desde la llegada de la transferencia de embriones en los años setenta (Fernández et al., 1996); algunos ganaderos de países desarrollados han logrado resultado positivos con la implantación de esta tecnología, al respecto, el Dr. Halteman de Lander Vet Clinic- California, señala que cuando se lleva a cabo adecuadamente el procedimiento técnico del sexado de embriones es altamente exacto y puede esperarse un 95 % de exactitud (Lechero Latino, 1995). Sin embargo, la técnica ecográfica ha causado gran impacto por su aplicación práctica en el sexaje de los fetos. La identificación del sexo se realiza sobre la base de la localización del tubérculo genital, estructura anatómica que se transforma posteriormente en el pene en el macho y en el clítoris en la hembra, y se puede observar con precisión entre los días 55 y 75 de la gestación.

El tubérculo genital ofrece una imagen hiperecogénica bilobulada característica y en su migración se coloca entre los miembros posteriores a los 48-49 días de gestación; en los machos sigue una dirección craneal para situarse detrás del cordón umbilical a los 55-56 días, mientras en la hembra la dirección es dorso-caudal y se ubica inmediatamente debajo de la cola aproximadamente a los 54 días. Para realizar este tipo de examen debemos ser minuciosos y tener experiencia, por lo que se recomienda identificar bien la cabeza, el coraxón, las costillas, el cordón umbilical, las extremidades, la cola y buscar con exactitud el tubérculo genital.

Para determinar el sexo en bovinos también podemos observar el escroto en el macho y las glándulas mamarias en la hembra en el período comprendido entre los días 70 y 120 de la preñez.

La técnica del sexaje requiere de la eficacia del operador, experiencia, paciencia, un ecógrafo de alta resolución y buenas condiciones de trabajo. La cabeza, el latido cardíaco y el cordón umbilical son estructuras de referencia para conocer la situación del feto. Si existen estas condiciones se logra un diagnóstico fiable en un 96-99 % de los casos; así mejora la rentabilidad de la granja, se obtiene mejor organización y selección del reemplazo, planificamos la venta de los animales excedentes y podemos dirigir el desarrollo genético de nuestro rebaño.

CONCLUSIONES

- La Ultrasonografía o ecografía es una técnica de diagnóstico por imagen de alta precisión para evaluar los procesos reproductivos en el bovino por el clínico veterinario.
- El proceso de aprendizaje y la adquisición de habilidades para la aplicación de la ecografía con fines diagnóstico y de utilización de biotecnologías en la reproducción bovina es relativamente rápido, de gran expectativa e interés del veterinario; cuando asociado a la adquisición del equipo de ultrasonido, se le ofrece un entrenamiento especializado, actualización científico-técnica sistemática y reparación del equipamiento, según recomienda Esaote-Pie Medical.
- El examen del sistema reproductor bovino por ultrasonido es altamente eficiente en la evaluación útero-ovárica, permite una valoración confiable de la dinámica de las ondas foliculares, precisa las características del cuerpo lúteo, el diagnóstico precoz de la gestación, la identificación del sexo de la cría y la observación de los procesos patológicos principales de los órganos de la reproducción.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

Bols, P.E. J. , Vandenheede, J.M.M., Van Soom, A. and de Kruif, A. Transvaginal Ovu Pick-up (OPU) in the cow: A New disposable Needle Guidance System. Department of Obstetrics, Reproduction Herd Health, Faculty of Veterinary Medicine, University of Ghent, Belgium. Copyright Esaote-Pie Medical, 1996.

Campo, E. (1998). Aplicación de los Ultrasonidos Esaote-Pie Medical en fisiología y Patología de la Reproducción. Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad Agraria de La Habana - Comunicación personal - La Habana.

Curran, S., Kastelic, J.P. and Guinther, O.J. (1989). Determining sex of bovine fetus by ultrasonic assesment of the relative location of the genital tubercule. Anim. Reprod. Sci. 19 : 17.

Diez, Natalia. (1997). Fundamento de la ecografía. En: Tamayo, M. et al. 5° Curso Práctico de Reproducción en Vacuno - Cursos Veterinarios Práctico de Navarra, Facultad de Medicina Veterinaria, UNAH, La Habana.

Farin, P.W., Youngquist, R.S., Parfet, J.R. and Garverick, H.A. (1990). Diagnosis of luteal and follicular ovarian cysts in dairy cows by sector scan ultrasonography. *Theriogenology*, 43 (4) :
Fernández, A., Viana, J.L. y Sánchez, L. (1996). Elección del sexo en ganado vacuno (II):
Sexaje de embriones. *Frisona Española - Temario del Criador - Noviembre / Diciembre*, pág. 102 - 107.

Intervet. (1996). Exploración ultrasónica. En: *Compendium de Reproducción Animal*, 2a. Ed. Laboratorio Intervet S.A., pág. 17-18.

Kastelic, J.P., Bergfelt, D.R. and Guinther, O.J. (1991). Ultrasonic detection of the conceptus and characterization of intrauterine fluid on days 10 to 22 in heifers. *Theriogenology*, 35: 569.
Kastelic, J.P., Pierson, A.R. and Guinther, O.J. (1990). Ultrasonic morphology of corpora lutea and central luteal cavities during the estrous cycle and pregnancy in heifers. *Theriogenology*, 34: 487.

Lechero Latino. (1995). Sexado de embriones. *Lechero Latino*, Febrero/Marzo, pág. 14-15.
Nyland, T.G. and Mattoon, J.S. (1995). *Veterinary Diagnostic Ultrasound*. Ed. W.B. Saunders, Philadelphia.

Esaote-Pie Medical. (1999). *Esaote-Pie Medical's Veterinary Scanners*. Netherlands.

Esaote-Pie Medical (1999a). *Which Scanner for which Application. Veterinary application selection guide. Veterinary Scanner*. Netherlands.

Pierre, M., Martínez, B. y Méndez, María J. (1997). Uso de la ecografía en la reproducción del ganado vacuno. *Frisona Española - Temario del Criador - Enero/Febrero*, pág. 114-118.
Pierson, R.A., Bo, G.A. y Adams, G.P. (1993). Uso de la ultrasonografía para el estudio de los eventos reproductivos en el bovino. *Simposio Internacional de reproducción Animal. Resúmenes*, 22-24 de Octubre. Córdoba, Argentina.

Pieterse, M.C., Szenci, O., Willemsse, A.H., Bajcsy, C.S.A., Dieleman, S.J.K. and 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*, 30 (3): 697-707.

Rupérez, R. (1997). Aplicación de la ecografía en la reproducción bovina. *Albeitar*, n° 4 (Abril). España.

Rupérez, R. (1997a). Diagnóstico del sexo fetal por ecografía en la vaca. En: Tamayo, et al. 5° Curso Práctico de Reproducción en Vacuno - Cursos Veterinarios Prácticos de Navarra - Facultad de Medicina Veterinaria, UNAH, La Habana.

Sirois, J. and Fortune, J.E.(1988). Ovarian Follicular dynamics during the estrous cycle in heifers monitored by real time ultrasonography. Biol. Reprod. 39: 308-317.

Stroud, B.K. (1994). Clinical applications of bovine reproductive ultrasonography. The Continuing Education Article 7, Texas.