

VETERINARSKI FAKULTET UNIVERZITETA U BEOGRADU

Katedra za porodiljstvo, sterilitet i veštačko osemenjavanje

**PRIMENA ULTRASONOGRAFIJE U GINEKOLOGIJI
I REPRODUKCIJI MLEČNIH KRAVA**

Specijalistički rad

Vladimir Ivkov, dipl. veterinar

Beograd, 1994.

Sadržaj*

	Strana
UVOD	3
PREGLED LITERATURE	5
A. Primena ultrasonografije u ranoj dijagnostici graviditeta	5
B. Primena ultrasonografije u dijagnostici ovarijalnih struktura	8
CILJ I ZADATAK RADA.....	10
MATERIJAL I METODE RADA	11
Plotkinje korišćene u istraživanju	11
Dijagnostika graviditeta i izostanka koncepcije	11
Dijagnostika ovarijalnih formacija i program tretmana nesteonih plotkinja	12
Oprema i tehnika pregleda.....	12
Ocena dijagnostičke vrednosti i korisnosti primene ultrasonografije u reprodukciji mlečnih krava.....	13
REZULTATI ISPITIVANJA.....	14
A. Dijagnostikovanje graviditeta ultrasonografijom.....	14
B. Dijagnostikovanje ovarijalnih formacija ultrasonografijom	21
C. Ocena dijagnostičke vrednosti i korisnosti primene ultrasonografije u reprodukciji muznih krava.....	25
DISKUSIJA	26
ZAKLJUČAK	30
LITERATURA	32

* - ultrasonografske slike nisu mogle biti uključene u ovo izdanje iz tehničkih razloga!

U V O D

Plodnost i reprodukcija mlečnih krava uslovljena je mnogim činiocima. Eminentni stručnjaci uglavnom obrazlažu sledeće faktore: bik, metod osemenjavanja, krava (uzrast, postojanje infekcije, individualne patološke promene), uslovi uzgoja i držanja (klima, sezona, veličina stada, način držanja, upravljanje) i slučajnost. Pod pojmom upravljanje smatra se: izbor bika, higijena teljenja, interval od teljenja do prvog osemenjavanja, otkrivanje estrusa, vreme osemenjavanja u estrusu, ishrana, mlečnost, selekcija i škartiranje krava.

Stručnjaci veterinarske medicine koji rade na reprodukciji mlečnih krava posebno su zainteresovani za poslove oko analize i korekcije načina upravljanja zaptom plotkinja (kao što je objašnjeno). Proučavanjem plodnosti i kontrole reprodukcije krava mlečnih rasa, ustanovljeni su pokazatelji uspešnosti upravljanja. Kvalitet plodnosti i reprodukcije izražava se kroz vrednosti nekoliko parametara: interval između dva uzastopna teljenja (optimum 365 dana), procenat steonih krava godišnje (optimum 80% zapata se oteli), period involucije (optimum 100% krava da završi puerperijum do 60 dana posle teljenja), period od teljenja do prvog osemenjavanja (optimum 100% krava u periodu od 50 do 70 dana), servis period (optimum 100% krava u periodu od 50 do 90 dana posle teljenja koncipira), prosečan broj osemenjavanja do steonosti (prosečno oko 1,5), procenat krava osemenjenih 3 i više puta (da je manje od 15%).

Pored mnogih metoda i postupaka za poboljšanje plodnosti i reprodukcije, stručnjaci veterinarske medicine koriste i rano dijagnostikovanje graviditeta ili naprotiv izostanka koncepcije posle veštačkog osemenjavanja odnosno pripusta.

Osim pravovremenog i uspešnog otkrivanja krava koje nisu koncipirale pa stoga spontano povadaju u vreme narednog ciklusa (oko tri nedelje), postoji potreba da se ostale krave koje ne povadaju regularno, veoma rano podvrgnu kontroli plodnosti dijagnostikovanjem graviditeta.

Dijagnostika ranog graviditeta (ili izostanka koncepcije) u krava je veoma važna mera za povećanje njihove plodnosti i produktivnosti. Za dijagnostiku graviditeta u krava primenjuju se klinički metodi: unutrašnji (rektalni i vaginalni) i spoljašnji, hormonalno testiranje pomoću dijagnostičkih injekcija, retko laboratorijski (ispitivanje polnih hormona u krvi i mokraći, citološki i histološki pregled vaginalne sluzokože, hemijska analiza dlake, hemijske reakcije sa mlekom i mokraćom). Od svih je najčešće primenjena u praksi transrektalna manualna palpacija. Ova metoda zahteva iskustvo i dobru izvežbanost. Koriste je najbolje uvežbani sa 30 do 35 dana gestacije, dok dobri čekaju posle 35 dana i više, dok najmanje uvežbani čekaju 40 do 50 dana posle osemenjavanja. Tražeći rešenja za skraćanje perioda od osemenjavanja do pregleda došlo je do primene ultrasonografije.

Ultrasonografska dijagnostika pristupačna je medicinskim stručnjacima još od 1970. godine. Upotreba "B mode" ultrazvučnog pregleda u veterinarskoj medicini razvila se iz upotrebe u humano (kod žena za utvrđivanje trudnoće). Pri tom pregledu prvo se koristila sonda od 3,0 MHz i transabdominalni pristup. Pošto su potrebe dijagnostičara postale izraženije, konstruisana je i proizvedena sonda od 7,5 MHz za transvaginalni pregled kod žena i automatski našla svoju primenu u veterinarskoj ginekologiji.

Ultrasonografija kao nova dijagnostička metoda u veterinarskoj medicini, od početka primene do današnjih dana privukla je pažnju mnogih istraživača. O ultrasonografiji postoje brojni objavljeni radovi koji se uglavnom odnose na korišćenje ehografije u ginekologiji i reprodukciji domaćih životinja.

S obzirom na potrebe i značaj u reprodukciji krava, ultrasonografija je najviše zastupljena prilikom ranog dijagnostikovanja graviditeta.

Osnovni princip i tehnika transrektalne ultrasonografije krava je korišćenje visoko frekventnih zvučnih talasa za stvaranje slike. Kroz sondu koja sadrži piezoelektrične kristale propušta se naizmjenična struja određenih osobina koja je stvorena u ehokameri. Piezoelektrični kristali specifično osciluju proizvodeći ultrazvučni talas određene frekvence (reda veličine megaherca, MHz). Ovako dobijeni zvučni talas se usmerava prema pregledanom tkivu pomeranjem sonde ili promenom ugla sonde u odnosu na ispitujuće tkivo. Tkiva mogu da propuste, reaguju sa ili reflektuju zvučni talas u različitom stepenu. Reflektovani deo se vraća prema sondi, te po istom principu piezoelektriciteta, a preko piezoelektričnih kristala biva transformisan u električne impulse koji se sprovode do ehokamere.

Ehokamera na osnovu dobijenih impulsa generiše dvodimenzionalnu sliku (kao seriju sivih tačaka) na ekranu. Rezultujuća "real-time" (istovremena) ili pokretna slika je analogna filmu dobijenom zvučnim talasima umesto svetlosnim. Osobine tkiva određuju koji će se udeo zvučnih talasa reflektovati. Reflektovani deo je predstavljen na ultrazvučnoj slici kao senke sivih tonova u rasponu od crne do bele boje. Tako na primer tečnosti (folikularne, plodove) ne reflektuju ultrazvučni talas i zovu se neehogene zone, i daju crnu sliku na ekranu. Nasuprot tome, čvrsta tkiva (kosti fetusa, grlić materice krave), reflektuju ultrazvučni talas, zovu se hiperehogene zone, i daju belu sliku na ekranu. Između ovih krajnosti nalazi se čitava paleta ehotekstura različitih tkiva.

S obzirom na to, može se reći da moć ultrasonografske opreme zavisi najviše od frekvencije ultrazvučnog talasa (broj oscilacija izvora zvuka u sekundi). Viša frekvencija obezbeđuje bolju vidljivost detalja, dok niža obezbeđuje bolju prodornost kroz tkivo. Zbog toga su sonde koje rade na nižem frekventnom području (npr. 3,0 ili 3,5 MHz) pogodnije za vizualizaciju većih struktura na većoj udaljenosti od sonde. Sonde više frekvence (npr. 5,0 ili 7,5 MHz) su namenjene za detaljnije proučavanje bližih struktura. Upravo generisanje slike na ekranu omogućuje vizualizaciju pregledanog tkiva odnosno organa.

Vizualizacija ploda i intrauterinog prostora čini se idealnim dijagnostičkim metodom, čije je granice i domet primene za sada teško odrediti zbog stalnog tehnološkog usavršavanja aparata i njihove inkorporacije u praćenje fizioloških zbivanja "in utero" najneposrednijim načinom "živom slikom" (real time). U obstetriciji i ginekologiji, danas se, uglavnom, više ne koriste statični aparati jer je njihov kvalitet slike odavno dostignut i u okvirima "žive slike". U okviru ovih primenjuje se "M-mod" (Time Position), "Doppler" (pulsni i kontinuirani, na svojoj skali ili u boji) te sonde raznih oblika (linearne, konveksne, mehaničke, sektorske, vertikalne) i frekvencije od 3,0 MHz do 7,5 MHz.

Osim uobičajene primene ultrasonografije u cilju dijagnostikovanja graviditeta razvija se i specijalna u domenu različitih biotehničkih zahvata u reprodukciji krava mlečnih rasa. Ova posebna primena odnosi se na ispitivanja puerperalnih procesa na reproduktivnim organima, nastanka i razvoja prvih postpartalnih folikula, raznih patoloških pojava na jajnicima kod nesteonih pa i steonih krava. Novo polje primene ultrasonografije je kontrola reproduktivnih organa krava koje su u programu embriotransfera (donori i recipijenti). Tako se kod donora ultrasonografijom utvrđuje odgovor jajnika na superovulatorni tretman i vrši vizualizacija prilikom punktiranja preovulatornih folikula pri uzimanju neoplođenih jajnih ćelija radi oplodnje *in vitro*. Kod recipijenata se vrši ultrasonografsko merenje veličine žutog tela radi selekcije najbolje reagovalih na pripremu za transfer i rano dijagnostikovanje nesteonih primalaca radi što ranijeg vraćanja u program embriotransfera.

U ovom radu će se analizirati primena ultrasonografije prilikom ginekološkog pregleda krava mlečnih rasa sa ciljem da se odredi njena upotrebljivost za kontrolu i poboljšanje reprodukcije plotkinja.

PREGLED LITERATURE

A. Primena u ranoj dijagnostici graviditeta

Najveća potreba u kontroli reprodukcije krava mlečnih rasa koja je i dovela do početka upotrebe ultrasonografije je rano dijagnostikovanje graviditeta. Primena kod krava mlečnih rasa je prvi put opisana u radu francuskih autora **Chaffaux i sar.** 1982. godine (6).

Tainturier i sar. (1983.) (52) su vršili dijagnostikovanje ranog graviditeta primenom RIA merenja progesteronemije u uzorcima krvi krava i ultrasonografijom u zapatu visoko mlečnih krava. Izvestili su da je bilo moguće pouzdano detektovati graviditet sa 35 dana posle oplodnje. U radu je prikazano 5 ehotomograma.

Pierson i Ginther (1984.) (36) su primenili ultrasonografiju (5 MHz sonda) za procenu promena materice u odnosu na estralno cikliranje junica. Izvestili su da se tokom periovulatornog perioda mogu uočiti nepravilne, nehomogene (crne) površine unutar roga. Prilikom dijagnostikovanja steonosti, plodov mehur su uočili sa 12 do 14 dana posle oplodnje (prosečna veličina oko 2 mm). Daljim razvojem, plodov mehur je postepeno rastao i sa oko 32 dana već je bio lociran i u kontralateralnom rogu. Embrion je prvi put viđen između 26 i 29 dana (u proseku 28) i imao je početnu veličinu prosečno 10 mm. Embrion je rastao prosečno 1,1 mm na dan. Otkucaji srca embriona primećeni su istog dana kada i embrion. Amnion je uočen sa približno 34 dana i imao je izgled tanke, ehogene, svetle trake oko embrija.

Kahn W. (1985.) (21) je koristio ehokameru sa sondom od 5 MHz za dijagnostikovanje ranog graviditeta. Uočio je embrion sa 25 dana gestacijskog doba kod junica. Embrio i otkucaji njegovog srca su bili uočeni kod svih životinja od 28 dana, nadalje. Opisao je nalaze prilikom ultrasonografskog pregleda materice junica u toku ranog graviditeta.

Beghelli i sar. (1986.) (2) su poredili ultrasonografsku dijagnostiku ranog graviditeta (27 do 29 dana posle osemenjavanja) sa različitim programima merenja RIA progesteronemije za iste potrebe. Uočili su da je tačnost pozitivne dijagnoze ultrasonografijom bila 92,5%, a tačnost negativne dijagnoze 100% u pomenutom periodu.

Chaffaux i sar. (1986.) (7) su u svom radu procenili pouzdanost i tačnost ultrasonografske dijagnostike ranog graviditeta, i izmerili učestalost kasnog embrionalnog mortaliteta. Koristili su transrektalnu sondu od 3,5 MHz pri pregledu krava mlečnih rasa, 21 do 60 dana posle osemenjavanja. Posle 28 dana od oplodnje mogli su ponekad da uoče amnionov mehur kao nehomogenu, kružnog ili ovalnog oblika, tamnu površinu unutar svetlog, ehogenog tkiva materice. Sa 35 dana steonosti videli su embrion, a sa 45 dana prve kotiledone. Postigli su tačnost od 100% dijagnostikovanja steonosti tek posle 40 dana od oplodnje, što objašnjavaju visokim procentom (23%) kasnog (između 30-og i 40-og dana) embrionalnog uginuća.

Pierson i sar. (1988.) (41) detaljno su opisali transrektalnu tehniku ultrasonografskog pregleda unutrašnjih polnih organa krava. Po njihovom izveštaju priprema za pregled je slična kao za rektalnu manuelnu palpaciju. Dobijena ultrazvučna slika i interpretacija slike je produkt četiri faktora: pregledač (iskustvo u rektalnom pregledanju i rukovanju sondom), ehokamera (oprema sa određenom namenom u zavisnosti od performansi), okolina (direktno osvetljenje sunčevim zracima otežava gledanje u ekran) i plotkinja (fiksirana i smirena za pregled). Posle odstranjenja sadržaja rektuma pristupa se ultrasonografiji. Priprema rektalne sonde sastoji se u nanošenju eho gela na radnu površinu, dok je posle pregleda potrebno izvršiti dezinfekciju preporučenim sredstvom. Trajanje pregleda transrektalnom ultrasonografijom približno je kao za palpaciju. S obzirom da se sonda uglavnom postavlja u sagitalni položaj, slika polnih organa je longitudinalno orijentisana u odnosu na telo plotkinje. Može se primeniti isti redosled pregleda organa kao pri palpaciji. S obzirom na dinamiku spiralizacije rogova materice kod krava, dobijena slika varira na osnovu stadijuma estralnog ciklusa. Sonda se postavlja dorzalno u odnosu na organ koji se pregleda i po posebnoj potrebi može se promeniti položaj ili izvršiti repozicija organa. Ovakvim pristupom dobija se slika poprečnog preseka pregledanog organa.

Boyd i sar. (1988.) (4) su primenili ultrasonografiju ("real time B-mode" ehokamera sa mogućnošću povećanja slike "zoom efekat" i sondom od 7,5 MHz) za dijagnostikovanje steonosti mlečnih krava. Najranije su detektovali steonost posle 9 dana od osemenjavanja (plodov mehur unutar lumena roga materice). Rani zametak su uočili sa 13 dana unutar plodovog mehura. Sa 19 dana su uočili iznenadno povećanje mehura i otkucaje srca embriona sa 22 dana. Alantois su uočili sa 23 i amnion sa 29 dana. Konture embriona su jasno uočili sa 33 dana i pri tome su razlikovali telesne šupljine. Autori smatraju da su nešto ranije uočili detalje i postigli bolje rezultate zahvaljujući visoko kvalitetnoj opremi i sondi od 7,5 MHz.

Kastelic i sar. (1988.) (24) su ispitivali primenu ultrasonografije za rano dijagnostikovanje steonosti kod junica. Prve znake graviditeta (prisustvo plodovih voda u gravidnom materičnom rogu) uočili su sa 14 dana od osemenjavanja. Embrion su uočili u intervalu od 20 do 28 ($22,4 \pm 0,2$) dana posle osemenjavanja. Otkucaje srca embriona uočili su istovremeno sa prvim uočavanjem embriona (188 ± 5 otkucaja u minuti).

Kastelic i sar. (1989.) (25) su ispitivali tačnost ultrasonografskog pregleda na graviditet kod junica u periodu od 10 do 22 dana posle osemenjavanja. Koristili su sondu od 5 MHz. Postigli su tačnost od 50% do 18-og dana, ali 100% od 20 do 22. Prosečna tačnost dijagnoze je bila veća za negravidne (84%), nego za gravidne (65%) u ukupnoj analizi rezultata. Smatraju da su na rezultate značajno uticali: broj dana od ovulacije, reproduktivni status (steona ili nije steona), i interakcija ta dva faktora.

Hughes i Davies (1989.) (12) su koristili "real time", ultrazvučni skener sa rektalnom sondom od 3,5 MHz u istraživanjima na mlečnim kravama. Ispitujući tačnost dijagnostikovanja ranog graviditeta izvestili su da je pouzdanost dijagnostike graviditeta obrnuto proporcionalna dobi krave. Prilikom dijagnostikovanja prisustva dva ploda tokom graviditeta, postigli su 100% tačnost detekcije blizanaca. Takođe su izračunali strogu korelaciju između pojedinih dimenzija fetusa i dobi ploda.

Wideman i sar. (1989.) (53) su ispitivali upotrebljivost ultrasonografije za determinaciju pola fetusa in utero. Koristili su sondu od 7,5 MHz. U periodu od 50 do 110 dana gestacije (nepoznata tačna dob) su uspeli da tačno odrede pol ploda u 11 od 13 pregleda. Kada su pregledali recipijente posle embryo transfera sa istim ciljem postigli su 100% tačnost određivanja pola ploda.

Kahn W. (1990.) (22) je ultrasonografski pratio razvoj ploda kod krava u periodu od 30 dana do 10 meseci gestacije. Koristio je obe vrste sonde: "sector" i "linear array" (obe od 3,5 i 5,0 MHz). Smatra da su za proučavanja fetusa zahvaljujući većoj dubini polja posmatranja sector sonde pogodnije nego linear array. Uočili su otkucaje srca embrija sa oko 4 sedmice posle oplodnje. Oko ploda se vidi u periodu oko 40 dana gestacije. Sedmicu ili dve kasnije može se primetiti sočivo oka. Želudac se razlikuje sa oko 40 dana kada on predstavlja najveću neehogenu zonu u abdominalnoj regiji ploda. Osifikacija lobanje započinje između 55 i 60 dana. Pol ploda je bilo moguće odrediti tek posle 60 dana nakon oplodnje.

Pieterse i sar. (1990.) (44) su uporedili tri metode za dijagnostikovanje ranog graviditeta (RIA, EIA i ultrasonografiju) u periodu od 21 do 33 dana posle osemenjavanja. Koristili su transrektalnu sondu od 5 MHz u ogledu sa kravama. Dijagnozu steonosti su postavljali na osnovu nalaza neehogenog, ovalnog polja (alantoisna šupljina ispunjena tečnošću) u centru roga materice. Međutim, uočili su isti nalaz i kod krava pregledanih u periestralno vreme, što su pogrešno dijagnostikovali kao pozitivne nalaze (analiza RIA i EIA su ispravno pokazale stanje). Smatraju da su postigli bolji uspeh kada su dijagnostikovali steonost u periodu od 26 do 33 dana (osetljivost 97,7%, specifičnost 87,8%) u odnosu na 21 do 25 dana posle osemenjavanja (postignuta osetljivost 44,8% i specifičnost 82,3%).

Badtram i sar. (1991.) (1) su razmatrali faktore koji utiču na tačnost dijagnostike graviditeta primenom "real time" ultrasonografije materice. Ispitivanja su vršena na junicama i kravama mlečnih rasa uz upotrebu ehokamere sa sondom od 5 MHz. Pregled su vršili od 16 do 31 dana posle osemenjavanja. Postigli su ukupnu tačnost od 62,5%, osetljivost 55,6%, specifičnost 70,2% i pozitivnu vrednost predviđanja od 67,8%. Smatraju da je bolji uspeh postignut u periodu od 23. do 31. dana, nego od 16. do 22. dana. Smatraju da nema razlike u rezultatima dva pregledača koji su vršili ispitivanja, da nema razlike u rezultatima pregleda krava i junica, i da različiti faktori kao što su teljenje po redu, broj dana posle teljenja i iskustvo pregledača, mogu da utiču na tačnost ultrasonografske dijagnoze.

Kastelic i sar. (1991.) (28) su ultrasonografijom (7,5 MHz) u periodu od desetog do dvadeset drugog dana posle osemenjavanja kod junica dijagnostikovali graviditet. Već od dvanaestog dana su uočili na poprečnom preseku, kružne, neehogene strukture (plodov mehur), pri vrhu roga, ipsilateralno jajniku sa žutim telom. Prividno se smanjila količina (prisutnost u poprečnim presecima) zbog izduživanja blastociste od četrnaestog dana graviditeta. Pre šesnaestog dana tačnost ultrasonografije za dijagnostiku graviditeta bila je 50,0%. Dijagnozu steonosti su potvrdili sa 24 dana od ovulacije prilikom detekcije otkucaja srca embrija.

Ivkov i sar. (1992.) (14) su koristili transrektalnu ultrasonografiju prilikom dijagnostikovanja ranog graviditeta mlečnih krava. Primenili su sondu od 5 MHz, tipa "linear array" i ehokameru tipa "B mode"- "real time". Dijagnostikovali su steonost od 25 do 35 dana posle veštačkog osemenjavanja i postigli tačnost od 100% tek sa starosti graviditeta od 28 dana. Jalovost su dijagnostikovali sa 29 dana sa 100% tačnošću.

Szenci O. (1992.) (50) je prvi primenio prenosivi, "real time", "B-mode", ultrazvučni skener, sa napajanjem na baterije, za dijagnostikovanje graviditeta krava, krmača i kobilica. Koristio je sondu od 5 MHz. Pregledao je krave u periodu od 17 do 47 dana posle osemenjavanja, i postigao: osetljivost 97,4%, specifičnost 91,7%, pozitivna prediktivna vrednost 97,4% i negativna prediktivna vrednost 91,7%. Smatra da je ultrasonografija veoma pouzdana kada se primeni 27 dana posle v.o. Smatra da je za rano dijagnostikovanje steonosti pogodniji transverzalni nego longitudinalni položaj sonde.

Ivkov et al. (1992.) (13) su opisali ultrasonografske nalaze kod ranog graviditeta mlečnih krava. U radu se opisuju kriterijumi dijagnostikovanja ranog graviditeta koji su provereni sukcesivnim pregledima narednih dana. Postigli su tačnost od 100% posle 28 dana od veštačkog osemenjavanja. Smatraju da se planskom primenom ultrasonografije u reprodukciji mlečnih krava može poboljšati uspeh.

Ivkov i sar. (1993) (17) su prikazali rezultate istraživanja o vizualizaciji ploda tokom ranog graviditeta krava. Koristili su sondu od 5 MHz za preglede na steonost od 23 do 36 dana posle osemenjavanja. Sa 23 dana su prvi put uočili prisustvo plodovih tečnosti, dok embrio sa 25 dana. Otkucaje srca primetili su sa oko 30 dok konačni oblik plod poprima sa oko 36 dana.

Curran Sandra (1992.) (8) je u ispitivanju mogućnosti određivanja pola fetusa ultrasonografijom koristila sondu od 5 MHz u periodu od 50 do 60 dana posle ovulacije. Muški pol su dijagnostikovali na osnovu prisustva dvo reznjevite hiperehogene strukture, gde je svaki režanj imao približno ovalni oblik. Postigli su tačnost određivanja pola fetusa u 96% slučajeva.

Ivkov i sar. (1993.) (18) su ispitivali embrionalni mortalitet mlečnih krava primenom ultrasonografije sa sondom od 5 MHz. Krave su pregledane u periodu od 30 do 40 dana posle veštačkog osemenjavanja. Utvrđeno je da je u toku jedne reproduktivne godine ispoljeno 29% slučajeva embrionalnog mortaliteta što je sa aspekta tačnosti ultrasonografske dijagnostike umanjilo vrednost pozitivne dijagnoze.

Sasser G. (1993) (47) smatra da dva faktora utiču na tačnost ispitivanog testa. Obično se test primenjuje u određeno vreme i kasnije potvrđuje ili palpacijom ili partusom. Jedan od faktora je embrionalna ili fetalna smrt koji smanjuju 100% tačnost pozitivne dijagnoze. Prema njegovom mišljenju, do 30 dana gestacije postoji do 40% gubitaka ploda, dok u periodu od 30 do 60 dana postoji do 5% gubitak. Drugi je da nesteone plotkinje mogu biti kasnije oplodene bez znanja pregledača što pri kontrolnom pregledu daje pozitivan nalaz i kviri tačnost postavljene negativne dijagnoze.

B. Primena u dijagnostici ovarijalnih struktura

Dijagnostika izostanka koncepcije, prema podacima iz literature, se ne zasniva na identifikaciji određenih znakova neplodnosti, već na odsustvu karakterističnih znakova graviditeta. Međutim, od praktičnog značaja za kontrolu reprodukcije nije dovoljna samo činjenica da krava nije steona već je potrebno i preduzeti mere da se ona vrati u reprodukciju i uspešno osemi. Zato je veoma važno postaviti ispravnu dijagnozu uzroka neplodnosti i na osnovu nalaza primeniti adekvatnu terapiju. Ukoliko je kliničkim pregledom utvrđeno da materica nije obolela, pristupa se dijagnostikovanju ovarijalnih struktura. U literaturi postoji više analiza o primeni ultrasonografije radi dijagnostikovanja ovarijalnih struktura.

Pierson i Ginther (1988.) (40) su detaljno opisali ultrasonografski pregled jajnika i materice krave. Smatraju da se folikuli veličine 2 - 3 mm već mogu vizualizovati. Folikul kao i druge strukture ispunjene tečnošću, uočavaju se na ultrasonografskoj slici kao crne (neehogene) površine. Upoređujući ultrasonografski nalaz folikula i nalaze posle žrtvovanja smatraju da je ultrasonografija pouzdan metod za identifikovanje i merenje folikula na jajnicima junica. Žuto telo na jajniku krave ima ehoteksturu koja se razlikuje od strome jajnika. Dobro definisana granica uočava se već 3 dana posle ovulacije. Moguće je uočiti kod 48% žutih tela 2 do 22 mm prečnika, površine koje su centralno postavljene i ispunjene tečnošću. One mogu da sadrže fibrinolike tvorevine (histološki nalaz). Ove šupljine su prvi put uočene petog dana posle ovulacije, trajale su nekoliko dana, zatim su se smanjile u prečniku i zgusnule u gustu fibrinoliku tvorevinu. Prisustvo šupljina nije uticalo na graviditet ili dužinu interovulatornog perioda.

Szenci i sar. (1988.) (51) su u preglednom radu prikazali mogućnosti dijagnostičke ultrasonografije za određivanje polnog statusa krave kao i dijagnostikovanje izrazitih patoloških promena na reproduktivnim organima plotkinje. U radu su izneti i međusobno upoređeni rezultati različitih autora. Izvršena je analiza mogućnosti ultrasonografskog dijagnostikovanja graviditeta različitih starosti na osnovu činjenica iz nauke o embriologiji.

Sprecher i sar. (1989.) (49) su izneli detaljnu analizu ultrasonografskog (5 MHz) prikaza žutog tela na jajnicima mlečnih krava. Slika funkcionalnog lutealnog tkiva je ujednačena, okružena, i manje ehogena nego okolno tkivo jajnika i može da sadrži centralnu neehogenu ili malu, gustu, ehogenu površinu. Postigli su koeficijent korelacije ($r=0,68$) između koncentracije progesterona određene RIA metodom i ultrasonografski određenog prečnika žutog tela. Izračunali su jednačinu najboljeg slaganja ($y=7,0 + 0,8 x$), po kojoj nivo progesterona od 5,0 ng/ml odgovara prečniku žutog tela od 11 mm. Smatraju da je ultrasonografija bolji dijagnostički test nego palpacija per rectum za određivanje lutealnog statusa jajnika krava.

Kastelic i sar. (1990.) (27) su prikazali ultrasonografsku (5 MHz) analizu žutog tela i centralnih šupljina u njemu tokom estralnog ciklusa i ranog graviditeta junica. Centralne šupljine u žutom telu zapazili su i u toku estralnog ciklusa (ispoljenost u 77% slučajeva) i u graviditetu (ispoljenost u 86% slučajeva). Šupljine su bile različitih veličina (male, srednje i velike) pri čemu su bile podjednako zastupljene sve tri kategorije. Prisustvo šupljina nije uticalo na interovulatorni period, kao ni na procenat steonosti osemenjenih junica. Vreme pojavljivanja i nestanka šupljina nije bilo značajno u odnosu na njihovu veličinu ili fiziološki status životinje (graviditet, polno cikliranje). Smatraju da prisustvo šupljina na žutom telu nema značaja za njegovu funkciju.

Mialot i sar. (1991.) (32) su u iscrpnom izveštaju o primeni ultrasonografije u reprodukciji krava dali pregled mogućnosti ove metode. Opisan je način i uspeh primene u svrhu dijagnostike graviditeta. U nizu poređenja ultrasonografskih *in vivo* i makroskopskih nalaza na jajnicima sa obdukcije krave prikazana je tačnost i pouzdanost dijagnostičke ultrasonografije. Rad je ilustriran brojnim fotografijama i ultrasonogramima.

Ribadu i sar. (1992.) (45) su ultrasonografski (7,5 MHz) ispitali žuto telo u toku estralnog ciklusa i uporedili sa vrednostima plazma progesterona (RIA). Izračunali su visoku korelaciju između prečnika žutog tela i plazma progesterona (osim trećeg i drugog dana u proestrusu). Žuto telo su ultrazvukom mogli da uoče posle 4. dana od estrusa. Prečnik žutog tela koji su merili iznosio je od $1,45 \pm 0,13$ cm (peti dan) do $2,6 \pm 0,25$ cm (deseti dan). U toku poslednjih nekoliko dana polnog

ciklusa nisu se usaglašavali rezultati dobijeni ultrasonografijom i merenjem koncentracije progesterona, što znači da ehografija nije uvek vredna zamena za merenje progesterona u perifernom krvotoku.

Kastelic i sar. (1990.) (26) su merili ultrasonografijom (5 MHz) površine poprečnog preseka žutih tela, centralnih lutealnih šupljina i lutealnog tkiva tokom estralnog ciklusa i ranog graviditeta junica. Smatraju da prisustvo centralnih šupljina u žutom telu nije uticalo na koncentraciju progesterona u krvnoj plazmi. Izračunali su visoku korelaciju između koncentracije progesterona u krvnoj plazmi i ultrasonografski određene površine lutealnog tkiva. Prema njihovim rezultatima ultrasonografsko merenje žutog tela je valjana alternativa merenju vrednosti progesterona u perifernoj krvi. Prilikom dijagnostikovanja graviditeta embrion su uočili sa 24 i otkucaje njegovog srca sa 30 dana posle oplodnje.

Pieterse i sar. (1990.) (42) su poredili ultrasonografiju (5 MHz) i rektalnu palpaciju kao dijagnostičke metode za detekciju žutog tela na jajniku krava. Rezultate su uporedili sa makrohistološkim nalazom. Proučavali su prisustvo i dob žutog tela (mlado od 1 do 4 dana, srednje od 5 do 16, staro od 17 do 21 dan posle ovulacije). Palpacija je bila nešto više pouzdana (ali ne i signifikantno) u određivanju mladih i starih žutih tela. Odsutnost i žuto telo srednje starosti su podjednako dobro dijagnostikovani obema metodama (nešto bolje ultrasonografijom ali bez statističke signifikantnosti).

Kito i sar. (1986.) (30) su proučavali pojavu šupljina u corpus luteum-u jajnika krava primenom ultrasonografije (5 MHz). Izračunali su da se šupljine javljaju u 37,2% žutih tela. Prosečan period do povratka u estrus, prosečne koncentracije progesterona u serumu i prosečan procenat steonosti, nisu bili signifikantno različiti kod krava kada su žuta tela imala ili kada nisu imala šupljine. Njihovi rezultati pokazuju da šupljina u žutom telu ne uzrokuje neplodnost.

Pierson i Ginther (1987.) (37) su uporedili rezultate in vivo ultrasonografije (5 MHz) i histološke nalaze ovarijalnih struktura. Koeficijenti korelacije između ove dve metode su bili visoki i visoko signifikantni za određivanje broja folikula, koji od njih je dominantan i merenje njegove veličine. Postigli su 100% saglasnost između ultrasonografskog i histološkog nalaza žutog tela i prisustva šupljine u njemu. Smatraju da je ultrasonografska dijagnostika pouzdan metod za identifikovanje i merenje veličine folikula i žutih tela.

Farin i sar. (1990.) (10) su detaljnije opisali primenu sektor ultrasonografije (5 MHz) u dijagnostikovanju lutealnih i folikularnih cista na jajnicima krava mlečnih rasa. Folikularna cista je dijagnostikovana kada je ultrazvukom uočena okrugla, uglavnom neehogena (crna) površina, dok su lutealne ciste imale sivi ehogeni omotač oko unutrašnjeg zida ciste. Paraleleno su merili koncentraciju progesterona u serumu krava. Osetljivost za dijagnostikovanje luteinizirane ciste bila je 91,5% a specifičnost 70,0%. Smatraju, na osnovu nivoa progesterona, da je ultrasonografijom uspešno izvršena diferencijacija između lutealnih i folikularnih cista na jajnicima kao i da je "sector" ultrasonografija bila više efektna za dijagnostikovanje luteinskih nego folikularnih cista.

Carrol i sar. (1990.) (5) su vršili ultrasonografiju (5 MHz) prilikom ispitivanja patoloških pojava na jajnicima mlečnih krava. Uočili su prisutnost cista kod 35% pregledanih krava u periodu posle teljenja do prvog osemenjavanja. Prosečno perzistiranje ciste bilo je $31,0 \pm 4,3$ dana. Za ciste su smatrali strukture ispunjene tečnošću preko 2,5 cm prečnika, koje traju najmanje 8 dana. Folikularne ciste su razlikovali od lutealnih na osnovu debljine zida (folikularne manje od 3 mm, lutealne preko 3 mm). Žuta tela kojima su centralne lutealne šupljine bile ispunjene tečnošću nisu svrstavana u patološke pojave. Poredeći ultrasonografski nalaz sa izmerenim nivoom progesteronemije, zaključuju da često nisu usaglašeni rezultati postignuti različitim metodama.

Ivkov i sar. (1993.) (15) su primenom ultrasonografije (5 MHz) dijagnostikovali određene oblike neplodnosti u periodu od 30 do 40 dana posle osemenjavanja kod mlečnih krava. Pri nalazu žutog tela i posle terapije postigli su pojavu estrusa kod 97,43% u roku od tri dana posle pregleda i lečenja, i pri nalazu folikularne ciste 81,25% u roku od 9 do 12 dana nakon lečenja. Zaključuju da se primenom ultrasonografije može veoma rano posle osemenjavanja dijagnostikovati neplodnost te primenom terapije plotkinja vratiti u polni ciklus i osemeniti.

CILJ I ZADATAK RADA

U okviru ispitivanja programske primene ultrasonografije pri ginekološkim pregledima muznih krava na velikim farmama uzeli smo za zadatak da ispitamo primenljivost ultrasonografije (ehografije). Pri tome smo hteli da ocenimo ultrasonografiju kao dijagnostički test za dijagnostikovanje kako graviditeta tako i neplodnosti. U slučaju neplodnosti ocenili smo ultrasonografiju kao dijagnostičku metodu za dijagnostikovanje različitih ovarijalnih struktura (folikul na jajniku krave u proestrusu, žuto telo na jajniku i folikularne ciste). Koristeći postojeću opremu, za rano dijagnostikovanje graviditeta pregledane su krave kojima je prošlo od veštačkog osemenjavanja najmanje 19 i najviše 40 dana. Odredili smo upotrebljivost ultrazvučne dijagnostike za determinaciju ovarijalnih formacija i mogućnosti primene terapije radi dovođenja nesteone plotkinje u estrus i osemenjavanja. Prilikom ovih ispitivanja imali smo zadatak da utvrdimo:

- posle koliko dana od osemenjavanja najranije može da se dijagnostikuje graviditet ultrasonografijom,
- na osnovu kojih znakova,
- sa kolikom tačnošću,

- posle koliko dana od osemenjavanja može da se dijagnostikuje neplodnost ultrasonografijom,
- na osnovu kojih znakova,
- sa kolikom tačnošću,

- da li može na osnovu pravilne dijagnoze da se primeni adekvatna terapija u cilju izazivanja estrusa radi ponovnog osemenjavanja neuspešno osemenjenih krava,
- kakvim uspehom možemo da indukujemo estrus u smislu procenta krava koje su reagovale na terapiju i procenta krava koje su koncipirale

- da li primena rane dijagnostike neplodnosti ultrasonografijom i adekvatne terapije može da utiče na skraćenje perioda između dva osemenjavanja.

MATERIJAL I METOD RADA

Plotkinje korišćene u istraživanju

U cilju ispitivanja primene ultrasonografije pri ginekološkom pregledu i u reprodukciji muznih krava planirana istraživanja smo vršili na velikim farmama krava mlečnih rasa u Vojvodini. Farme su bile sa preko 200 visoko proizvodnih, muznih krava rase crno bele Holštajn frizijske. Krave su bile držane u slobodnom sistemu.

U ispitivanjima su bile obuhvaćene osemenjene plotkinje bez obzira na dob, teljenje po redu i puerperalne karakteristike (tok teljenja, tok i trajanje puerperijuma, vreme proteklo od teljenja do prvog osemenjavanja), kao ni na redosled osemenjavanja. U ogledima su pregledane osemenjene krave kod kojih je proteklo 19 do 40 dana od poslednjeg veštačkog osemenjavanja. Krave koje su povadale i bile otkrivene odnosno prijavljene za osemenjavanje na dan pregleda, nisu obuhvaćene istraživanjima, nego samo plotkinje kod kojih nije primećen polni žar i nisu prijavljene za osemenjavanje u periodu na koji se odnose ispitivanja. Krave su bile na uobičajenom režimu držanja, ishrane, nege i korišćenja. Za vreme trajanja ispitivanja nisu vršene izmene postojećih programa obrade puerperijuma, otkrivanja ili indukcije prvog estrusa posle teljenja kao ni vremena i tehnike osemenjavanja.

Planom rada bilo je predviđeno da se pregled na steonost vrši dva puta mesečno u razmaku od 15 dana pri čemu smo s obzirom na objektivne uslove nastojali da se pridržavamo plana.

Dijagnostika graviditeta i izostanka koncepcije

Dijagnostikovanje graviditeta ultrasonografijom, opisanom tehnikom, vršeno je sa najmanje 19 i najviše 40 dana posle osemenjavanja. Krave su iz didaktičkih razloga svrstavane u grupe na osnovu ispitivanih perioda:

- 19 do 24,
- 25 do 29,
- 30 do 34 i
- 35 do 40 dana.

Prilikom ultrasonografske dijagnostike beleženi su nalazi za odgovarajuću gestacijsku starost i opisani u rezultatima rada. U karakterističnim slučajevima radi navođenja primera urađen je snimak - ultrasonogram. Radi potvrđivanja odnosno provere tačnosti dijagnoze vršen je kontrolni pregled sa oko 50 do 60 dana posle osemenjavanja ili rektalnom manuelnom palpacijom ili ultrasonografijom. U slučaju da su krave koje su bile dijagnostikovane kao steone imale spontani estrus i negativni nalaz na steonost u međuvremenu do kontrolnog pregleda, bile su osemenjenavane. Prilikom ponovnog pregleda vršena je analiza dijagnostičke vrednosti ehografije.

Prilikom negativnog nalaza na graviditet (neuspešno osemenjavanje), u periodu posle 30 dana od v.o. i kasnije, krave su svrstavane u dve grupe: oglednu i kontrolnu. Kod kontrolne grupe nije preduzimana terapija sve do spontanog estrusa ili ponovnog, rutinskog pregleda manuelnom palpacijom (posle 40 do 50 dana od osemenjavanja). Ogledna grupa krava podeljena je po grupama na osnovu ultrasonografskog nalaza i dijagnoze.

Dijagnostika ovarijalnih formacija i program tretmana nesteonih plotkinja

Pri nalazu žutog tela ili ciste žutog tela, aplikovana je dijagnostička injekcija prostaglandin (PGF 2 alfa) analoga prema preskripciji proizvođača. Praćena je pojava estrusa (prijava muzača, spoljašnji i unutrašnji znaci gonjenja) posle tretmana i vršeno je uobičajeno osemenjavanje.

Pri nalazu folikula u nastupajućem estrusu aplikovali smo samo preparate vitaminskog kompleksa intra muskularno radi intenziviranja znakova estrusa. Praćenje pojave estrusa i osemenjavanje vršeno je kao posle tretmana žutog tela.

Pri nalazu folikularne ciste na jajniku aplikovan je preparat hormona rilizing faktora intra muskularno po preporuci proizvođača i kasnije, nakon 9 dana tretirano je formirano žuto telo u krava da bi se izazvala luteoliza i plotkinja vratila u polni ciklus, kao što je objašnjeno za prethodne grupe.

Oprema i tehnika pregleda

U našim ispitivanjima primene ultrasonografije pri ginekološkom pregledu krava koristili smo aparat ehokameru proizvođača "ALOKA" tipa "B-mode", "real time" sa transrektalno dizajniranom sondom istog proizvođača, jačine 5 MHz, tipa "linear array" (slika 1.)



Slika 1. Oprema za ultrazvučnu
dijagnostiku: ehokamera i sonda

Priprema opreme za pregled sastojala se od spajanja aparata sa produžnim kablom za struju i uključivanje u napajanje električnom energijom te obezbeđivanje prenosivosti aparata do svakog mesta u štali gde smo vršili pregled. Na radnu površinu sonde nanosili smo kontakt gel i sondu unosili u plastičnu zaštitnu rukavicu.

Pre pregleda krave na steonost izvršena je uobičajena manuelna fiksacija životinje (muzač) kao i za rektalnu eksploraciju.

Posle evakuacije sadržaja rektuma krave, u svrhu pregleda, sondu smo postavljali transrektalno iznad unutrašnjih genitalnih organa krave.

Pregled može da se izvrši ascendentno ili descendentno, po izboru. Mi smo pregledali sukcesivno: cerviks, telo materice, materične rogove i jajnike (slika 2).

Slika 2. Shematizovan prikaz ginekološkog pregleda krave opremom za ultrazvuk

Prilikom ginekološkog pregleda krave ultrazvučnom sondom posmatrali smo dvodimenzionalnu sliku (na ekranu) poprečnog preseka ispitivanog organa. Dobijali smo različitu sliku u zavisnosti od spiralizacije rogova (što je povezano sa stadijumom estralnog ciklusa).

U nekim slučajevima smo imali potrebu da promenimo ugao sondiranja, pa smo rotirali sondu, ili smo je postavljali u drugi položaj u odnosu na ispitivani organ. Mnogo ređe smo vršili manuelnu repoziciju organa da bi postigli bolji kvalitet slike u cilju izrade snimka - ultrasonograma.

Prilikom ultrasonografskog ginekološkog pregleda beleženi su nalazi na svim pregledanim organima, a u pojedinim slučajevima je napravljen snimak - ultrasonogram. Ultrasonogrami su pravljeni na videografskom štampaču proizvođača "SONY". Kasnije su beleške i ultrasonogrami analizirani.

Uslovi rada bili su terenski bez ikakvih podešavanja ka eksperimentalnim upravo sa ciljem da se ultrasonografija primeni kao u svakodnevnim situacijama rutinske prakse.

Ocena dijagnostičke vrednosti i korisnosti primene ultrasonografije u reprodukciji mlečnih krava

Dijagnostička vrednost ultrasonografije za dijagnostikovanje graviditeta i dijagnostikovanje izostanka koncepcije odredili smo na osnovu vrednosti za specifičnost, osetljivost, pozitivne prediktivne vrednosti i negativne prediktivne vrednosti metode. Za izračunavanje ovih vrednosti koristili smo brojčane vrednosti za:

- broj tačnih pozitivnih dijagnoza,
- broj netačnih pozitivnih dijagnoza,
- broj tačnih negativnih dijagnoza i
- broj netačnih negativnih dijagnoza,

Dijagnostičku vrednost smo izračunali na osnovu sledećih odnosa:

- Specifičnost: $(\text{broj tačnih negativnih dijagnoza} / \text{broj tačnih negativnih dijagnoza} + \text{broj netačnih pozitivnih dijagnoza}) \times 100$. Dobijena vrednost je izražena u procentima.
- Osetljivost: $(\text{broj tačnih pozitivnih dijagnoza} / \text{broj tačnih pozitivnih dijagnoza} + \text{broj netačnih negativnih dijagnoza}) \times 100$. Dobijena vrednost je izražena u procentima.
- Pozitivna prediktivna vrednost: $(\text{broj tačnih pozitivnih dijagnoza} / \text{broj tačnih pozitivnih dijagnoza} + \text{broj netačnih pozitivnih dijagnoza}) \times 100$. Dobijena vrednost je izražena u procentima.
- Negativna prediktivna vrednost: $(\text{broj tačnih negativnih dijagnoza} / \text{broj tačnih negativnih dijagnoza} + \text{broj netačnih negativnih dijagnoza}) \times 100$. Dobijena vrednost je izražena u procentima.

Dijagnostička vrednost ultrasonografije za dijagnostikovanje ispitivanih ovarijalnih formacija (folikul, žuto telo i cista) izračunali smo kroz broj krava u estrusu u odgovarajuće vreme posle terapije. Rezultat indukcije estrusa u oglednoj grupi (ultrasonografija) uporedili smo sa rezultatom indukcije estrusa u kontrolnoj grupi (palpacija). Na osnovu poređenja ocenili smo uspešnost primenjene dijagnostičke metode. Na osnovu postignute steonosti ovakvim radom ocenili smo korisnost ultrasonografije kao dijagnostičke metode za primenu adekvatne terapije i što ranijeg osemenjavanja nesteonih plotkinja. Uporedili smo procenat steonih krava ogledne i kontrolne grupe radi otkrivanja eventualnih razlika.

U cilju utvrđivanja efekata ranog dijagnostikovanja neplodnosti ultrasonografijom, analizirali smo trajanja među estrusnih perioda krava ogledne i kontrolne grupe te dobijene rezultate pogodnim statističkim analizama obradili i uporedili.

REZULTATI ISPITIVANJA

A. Dijagnostikovanje graviditeta ultrasonografijom

Dijagnostikovanje graviditeta ultrasonografijom vršeno je po periodima posle osemenjavanja. Obuhvaćeni su periodi:

- od 19 do 24 dana
- od 25 do 29 dana
- od 30 do 34 dana i
- od 35 do 40 dana posle veštačkog osemenjavanja.

Za potrebe istraživanja izvršeno je ukupno 616 ultrasonografskih pregleda reproduktivnih organa krava mlečnih rasa.

U periodu od 19 do 24 dana posle osemenjavanja ukupno je pregledano na graviditet 33 krave. U ovom periodu, prilikom ultrasonografskog pregleda, na ekranu ehokamere su uočeni poprečni preseki grlića, tela materice, materičnih rogova i jajnika. Od značaja za postavljanje dijagnoze bili su nalazi koji ukazuju na status rogova materice i jajnika.

Poprečni presek rogova materice ultrasonografski se vizualizuje kao ehogeni, svetli, sive boje, okrugli ili ovalni prsten. Veličina, izražena kroz prečnik prstena zavisi od veličine roga i debljine zida materice. Broj poprečnih preseka u vidnom polju zavisi od stepena spiralizacije materičnih rogova. Shematski je spiralizacija i dobijena slika prikazana crtežom na slici broj 3.

Slika 3. Shematizovan prikaz položaja sonde. Vide se dva poprečna preseka istog roga materice.

Kod gravidnih krava, uočena je neehogena, crna, površina okruglog oblika unutar roga materice. Na osnovu toga je dijagnostikovano postojanje plodovih voda. Veličina površine zavisi od gestacijske dobi i povećava se u toku trajanja graviditeta. Prisustvo plodovih voda prvi put je uočeno sa 23 dana posle osemenjavanja. Primer je dat ultrasonogramom na slici broj 4.

Slika 4. Ultrasonogram gravidnog roga materice, 23 dana posle veštačkog osemenjavanja

Drugi, indirektni, znak graviditeta je prisustvo zrelog, graviditetnog, funkcionalnog žutog tela na jajniku ipsilateralno gravidnom rogu. Ultrasonografski se vizualizuje kao ehogena, svetlo siva, okrugla površina zrnaste strukture. Ovakvo, graviditetno žuto telo je određene veličine (oko 2 cm u prečniku). Jasno je ograničeno od ostalog tkiva jajnika. Primer graviditetnog žutog tela dat je ultrasonogramom na slici 5.

Slika 5. Ultrasonogram graviditetnog žutog tela (Corpus luteum graviditatis: CLG)

Mogućnost dijagnostikovanja graviditeta na osnovu pomenutih znakova u periodu od 19 do 24 dana posle osemenjavanja prikazana je u Tabeli 1.

Tabela 1. Mogućnost za dijagnostikovanje steonosti krava ultrasonografijom u periodu od 19 do 24 dana posle osemenjavanja.

Dijagnoza	Broj krava (n)	Procenat (%)	Procenat (%)
Samo plodove vode	2	12,50	
Samo gravidno žuto telo	9	56,20	
Istovremeno oba nalaza	5	31,20	
Steonost	16	100	48,50
Nesteonost	17		51,50
Ukupno pregledano krava	33		100

Iz Tabele broj 1 se vidi da je u malom procentu (12,50%) pregledanih steonih krava moguće uočiti sliku plodovih voda. Razlog je relativno mala zapremina ovih tečnosti u ovom još uvek ranom periodu graviditeta. U ovom periodu gravidni rog nije dimenzijama jasno različit od negravidnog i nema asimetrije. Graviditetno žuto telo na jajniku krave je češći nalaz kod steonih krava (oko 56%) nego plodove vode. Međutim, zbog nestabilnosti graviditeta u ranom periodu (embrionalni mortalitet), graviditetno žuto telo nije dovoljan znak za pouzdanu tvrdnju o steonosti. Najpovoljniji za tačnost dijagnoze, ali i ne uvek prisutan (oko 31% slučajeva) je nalaz i graviditetnog žutog tela i plodovih voda. Prisustvo samo plodovih voda bez odgovarajućeg žutog tela karakterističnog za steonost bilo je u slučajevima kada postojeće žuto telo nije odgovaralo kriterijumima po kojima bi bilo dijagnostikovano kao graviditetno. To su bili slučajevi koji su odstupali po:

- obliku (ovalan, pasuljast u odnosu na tipično okruglo),
- zrnastoj strukturi (homogeno u odnosu na uočljivu zrnastu strukturu),
- veličini (znatno veće ili manje u odnosu na karakterističan prečnik od oko 2 cm),
- prisustvo šupljina (za koje smo smatrali da ne postoje u graviditetnom žutom telu).

Kod negravidnih krava uočen je poprečni presek roga materice ali bez crne površine u njemu, dok istovremeno na jajniku nije bilo prisutno žuto telo. Primer negravidnog roga, bez obzira na broj dana od osemenjavanja dat je ultrasonogramom na slici 6. Nalaz na jajniku nesteonih krava zavisi od faze estralnog ciklusa odnosno eventualnog patološkog stanja.

Slika 6. Ultrasonogram negravidnog roga materice

Na osnovu opisanih karakteristika za postavljanje ili isključenje dijagnoze steonosti za ispitivanu starost graviditeta postigli smo tačnost ultrasonografske dijagnoze u odnosu na rektalnu palpaciju u periodu od 50 do 60 dana steonosti kao što je prikazano u Tabeli 2.

Tabela 2. Tačnost dijagnoze steonosti krava na osnovu ultrasonografskog pregleda krava u periodu od 19 do 24 dana posle veštačkog osemenjavanja

Dijagnoza		Broj dana od osemenjavanja						Ukupno krava (n)
		19	20	21	22	23	24	
Pozitivna	Ultrasonografija	2	3	3	4	3	1	16
	Kontrola	2	2	2	3	0	1	10
Negativna	Ultrasonografija	3	1	1	2	4	6	17
	Kontrola	3	1	0	2	3	3	12

Iz Tabele 2 se vidi da je sa različitom starosti graviditeta u ovom ranom periodu postignuta i različita tačnost postavljene dijagnoze pri čemu nije pronađena linearna zavisnost. Tačno je dijagnostikovana steonost kod 2 od 2 (100%) sa 19 dana posle osemenjavanja, ali i ni kod jedne od 3 (0%) sa 23 dana od osemenjavanja. Nasuprot tome bi se moglo očekivati da se tačnost povećava tokom graviditeta s obzirom na rast ploda i mogućnosti za lakšu identifikaciju. Slično tome, tačno je postavljena negativna dijagnoza kod 3 od 6 (50%) krava posle 24 dana od osemenjavanja, ali kod 3 od 3 (100%) sa 19 dana. Konkretno tačnost postavljene dijagnoze kako pozitivne tako i negativne, se niti povećava niti smanjuje u zavisnosti od starosti graviditeta u ovom periodu posle osemenjavanja. Razlog tome su individualna variranja razvoja celokupnog ploda u početnom periodu (što se odražava na veličinu površine slike plodovih voda). S druge strane, moguće je da graviditetno žuto telo ima još neke karakteristike koje ultrasonografskim pregledom nismo mogli da uočimo a od značaja su za njegovo normalno funkcionisanje. Konačno, broj pozitivnih ultrasonografskih dijagnoza veći je nego pri kontrolnom pregledu i zbog ispoljavanja embrionalnog mortaliteta.

Na osnovu broja tačnih (proverenih) i netačnih dijagnoza ultrasonografijom izračunata je dijagnostička vrednost ultrasonografije za dijagnostikovanje graviditeta ili neplodnosti u periodu od 19 do 24 dana posle osemenjavanja i prikazana u Tabeli broj 3.

Tabela 3. Dijagnostička vrednost ultrasonografskog pregleda krava na steonost u periodu od 19 do 24 dana posle veštačkog osemenjavanja

Pokazatelj	Vrednost
Tačnih pozitivnih dijagnoza	10
Netačnih pozitivnih dijagnoza	6
Tačnih negativnih dijagnoza	12
Netačnih negativnih dijagnoza	5
Specifičnost	66,6%
Osetljivost	66,6%
Pozitivna prediktivna vrednost	62,5%
Negativna prediktivna vrednost	70,6%

U periodu od 25 do 29 dana od osemenjavanja ukupno je pregledana 141 krava. Dijagnoza je postavljena na osnovu ultrasonografskog nalaza na ekranu poprečnog preseka roga materice i identifikacije graviditetnog žutog tela na ipsilateralnom jajniku.

Gravidni rog materice zadržava ehoteksturu ranijeg perioda i vremenom mu raste prečnik zbog uvećanja crne površine u njemu koja raste i povećava dimenzije sa povećanjem količine plodovih tečnosti. Unutar crne površine može se uočiti ehogena, svetla tačka. Locirana je blizu unutrašnjeg zida roga i veličine je do 5 mm u ovom periodu razvoja ploda. Sukcesivnim pregledima tokom nekoliko dana utvrdili smo da je to bio plod u fazi embriona. U periodu od 25 do 29 dana od osemenjavanja, u zavisnosti od gestacijske starosti, može se odrediti i veličina embrija. Prvi put je uočen embrio sa 25 dana posle osemenjavanja, kada je u obliku tačke. Primer je dat ultrasonogramom na slici 7.

Razvojem plod dobija oblik tanke crte (oko 29 dana). Pri kraju ovog perioda (28 i 29 dana) moguće je uočiti prisustvo plodovih voda u oba materična roga a ne samo u gravidnom. Ehografske karakteristike graviditetnog žutog tela se ne menjaju. Kod negravidnih krava nalaz je postavljan kao i u periodu od 19 do 24 dana i zavisi od faze polnog ciklusa odnosno patološkog stanja na jajniku. Mogućnosti dijagnostikovanja graviditeta na osnovu pomenutih znakova u ovom periodu su prikazani u Tabeli 4.

Slika 7. Ultrasonogram gravidnog roga materice, 25 dana posle osemenjavanja

Tabela 4. Mogućnost za dijagnostikovanje steonosti krava ultrasonografijom u periodu od 25 do 29 dana posle veštačkog osemenjavanja

Dijagnoza	Broj krava (n)	Procenat (%)	Procenat (%)
Samo plodove vode	61	61,61	
Plod u plodovim vodama	27	27,27	
Samo gravidno žuto telo	38	38,38	
Steonost	99	100	70,22
Nesteonost	42		29,78
Ukupno pregledano krava	141		100

U ovom periodu češći je nalaz i lakše se uoče plodove vode nego u prethodnom periodu (kod oko 67% krava). To je zahvaljujući daljem razvoju ploda i povećanju zapremine plodovih voda kod steonih krava. U manjem procentu slučajeva (oko 27%) mogli smo ultrasonografijom da lociramo i identifikujemo plod. U slučajevima gde nismo uočili plodove vode pa samim tim ni plod, a postojalo je karakteristično žuto telo za graviditet (CLG), ipak smo postavili pozitivnu dijagnozu.

Na osnovu opisanih karakteristika za postavljanje ili isključenje dijagnoze steonosti za određenu dob graviditeta postigli smo tačnost kao što je prikazano u Tabeli 5.

Tabela 5. Tačnost dijagnoze steonosti krava na osnovu ultrasonografskog pregleda krava u periodu od 25 do 29 dana posle veštačkog osemenjavanja

Dijagnoza		Broj dana od osemenjavanja					Ukupno krava (n)
		25	26	27	28	29	
Pozitivna	Ultrasonografija	17	24	15	22	21	99
	Kontrola	11	23	13	20	19	86
Negativna	Ultrasonografija	15	9	6	8	4	42
	Kontrola	14	8	6	8	4	40

U Tabeli 5 je prikazano da je postignuta približno ujednačena tačnost pozitivne dijagnoze. Najtačnije je postavljena pozitivna dijagnoza posle 26 dana kod 23 od 24 (95,8%) krave, dok negativna sa 27 dana i kasnije, kod svih nesteonih (100%) krava. U ovom periodu mogućnosti i kriterijumi za postavljanje dijagnoze su veći pa otuda manji broj netačnih nalaza. S obzirom da je identifikacija ploda najpouzdaniji podatak za dijagnostikovanje steonosti postignuti su i precizniji rezultati. Tokom celog naznačenog perioda moguće je uočiti i plodove vode i graviditetno žuto telo pa je u odsustvu ovih nalaza lako postaviti negativnu dijagnozu. Međutim u Tabeli 5 se vidi da postoji ipak mala razlika između broja krava kod rane i kasne negativne dijagnoze (40 od 42 krave ili 95,2%).

Na osnovu broja tačnih i netačnih dijagnoza postavljenih pri ultrasonografskom pregledu, izračunata je dijagnostička vrednost ultrasono-grafije za dijagnostikovanje graviditeta ili neplodnosti u periodu od 24 do 29 dana posle osemenjavanja i prikazana u Tabeli 6.

Tabela 6. Dijagnostička vrednost ultrasonografskog pregleda krava na steonost u periodu od 25 do 29 dana posle veštačkog osemenjavanja

Pokazatelj	Vrednost
Tačnih pozitivnih dijagnoza	86
Netačnih pozitivnih dijagnoza	10
Tačnih negativnih dijagnoza	40
Netačnih negativnih dijagnoza	2
Specifičnost	80,0%
Osetljivost	97,7%
Pozitivna prediktivna vrednost	89,6%
Negativna prediktivna vrednost	95,2%

U periodu od 30 do 34 dana posle osemenjavanja pregledano je ukupno 219 krava.

Kod gravidnih krava uočava se gravidni rog, plodove vode i plod u njima. Na jajniku se nalazi graviditetno žuto telo.

Poprečni presek gravidnog roga ima razmak između unutrašnjih zidova od 2,0 cm do 2,5 cm. Proširenje prečnika je posledica povećanja unutrašnjeg prečnika usled povećanja lumena gravidnog roga zbog povećanja količine plodovih voda. U oba roga mogu se uočiti plodove vode. U gravidnom rogu plodove vode su prisutne čitavom dužinom, ali ne i podjednako. U negravidnom rogu se vide samo u blizini bifurkacije materičnih rogova. Posledica toga je jasna asimetrija materičnih rogova koja je uočljiva ultrasonografskim pregledom.

Plod u ovom periodu od tanke crte (oko 29 dana) izduživanjem i savijanjem dobija oblik čiriličnog slova "C" ili polumeseca. Veličina je od 0,5 cm do 0,8 cm. Lociran je blizu unutrašnjeg zida roga. Pažljivim pregledom moguće je uočiti otkucaje srca embriona. Primer graviditeta dat je ultrasonogramom na Slici 8.

Slika 8. Ultrasonogram gravidnog roga materice, 33 dana posle veštačkog osemenjavanja

Kod negravidnih krava pregledom se uočava svetli, ehogeni prsten na ekranu, što je snimak poprečnog preseka materičnog roga. U odnosu na ranije ispitivane periode nema promena u pogledu postavljanja negativne dijagnoze.

Mogućnost za dijagnostikovanje graviditeta u periodu od 30. do 34. dana steonosti je prikazana u Tabeli 7.

Tabela 7. Mogućnost za dijagnostikovanje steonosti krava ultrasonografijom u periodu od 30 do 34 dana posle osemenjavanja

Dijagnoza	Broj krava (n)	Procenat (%)	Procenat (%)
Plodove vode	131	100	
Plod	118	90,07	
Asimetrija materičnih rogova	85	64,88	
Steonost	131	100	59,82
Nesteonost	88		40,18
Ukupno pregledano krava	219		100

Rezultati prikazani u Tabeli 7 ukazuju da je u ovom ispitivanom periodu kod svih (100%) pregledanih i steonih krava bilo moguće uočiti plodove vode. Ova mogućnost je uticala na lakše dijagnostikovanje steonosti i dobijanje boljeg uspeha pozitivne dijagnoze. Plod je vizualizovan i identifikovan u velikom procentu pregledanih krava (90%). Pojava asimetrije rogova sama za sebe nije dovoljna za postavljanje dijagnoze jer se ne javlja u svim slučajevima (već u oko 64%) kao što je postignuto i opisano u Tabeli 7. Kada smo koristili nalaz asimetrije materičnih rogova kao jedinu tvrdnju o postojanju graviditeta postigli smo slabije rezultate.

Na osnovu opisanih karakteristika za postavljanje ili isključenje dijagnoze steonosti za ispitivanu starost graviditeta postigli smo tačnost kao što je prikazano u Tabeli 8.

Tabela 8. Tačnost dijagnoze steonosti krava na osnovu ultrasonografskog pregleda krava u periodu 30 do 34 dana posle veštačkog osemenjavanja

Dijagnoza		Broj dana od osemenjavanja					Ukupno krava (n)
		30	31	32	33	34	
Pozitivna	Ultrasonografija	24	22	26	30	29	131
	Kontrola	21	21	21	29	27	119
Negativna	Ultrasonografija	9	21	13	24	21	88
	Kontrola	9	21	13	24	21	88

Iz Tabele 8 se vidi da je tačnost pozitivne dijagnoze varirala u ispitivanom periodu. Kontrolom je dijagnostikovano manje steonih krava (119 plotkinja) nego ranim, ultrasonografskim pregledom (131 plotkinja) što čini oko 90% tačnosti za pozitivnu dijagnozu. Nastala razlika je ravnomerno raspoređena po danima steonosti što ukazuje na prirodnost pojave, a ne na ekscesnu situaciju. S obzirom da je ovaj period kritičan za ispoljavanje kasnog embrionalnog mortaliteta, i u situaciji gde je plod bio uočen u velikom broju slučajeva (90% kao što se vidi u Tabeli 7) smatramo da je uginuće ploda najviše uticalo na smanjenje broja steonih krava između dva pregleda. Jednak broj nesteonih krava bio je utvrđen i ultrasonografijom (88 plotkinja) i kontrolom (88 plotkinja) što čini 100% tačnost. Tačnost negativne dijagnoze na steonost nije mnogo promenjena u odnosu na prethodne periode ispitivanja.

Na osnovu broja tačnih i netačnih ultrasonografskih dijagnoza izračunata je dijagnostička vrednost ultrasonografije za dijagnostikovanje graviditeta ili neplodnosti u periodu od 30 do 34 dana posle osemenjavanja i prikazana u Tabeli 9.

Tabela 9. Dijagnostička vrednost ultrasonografskog pregleda krava na steonost u periodu od 30 do 34 dana posle veštačkog osemenjavanja

Pokazatelj	Vrednost
Tačnih pozitivnih dijagnoza	119
Netačnih pozitivnih dijagnoza	12
Tačnih negativnih dijagnoza	88
Netačnih negativnih dijagnoza	0
Specifičnost	88,0%
Osetljivost	100%
Pozitivna prediktivna vrednost	90,1%
Negativna prediktivna vrednost	100%

U periodu od 35 do 40 dana posle veštačkog osemenjavanja ukupno smo pregledali 223 krave. Ultrasonografijom se u ovom periodu kod steonih krava uočava gravidna materica i na ipsilateralnom jajniku graviditetno žuto telo.

Postepeno se i sve više naglašava asimetrija između gravidnog i negravidnog roga zbog daljeg povećanja količine plodovih voda i rasta ploda.

U gravidnoj materici uvek se uočava plod i pažljivim pregledom otkucaji njegovog srca. Plod se u ovom periodu intenzivno razvija (počevši od 30 dana). Tako, sa 36 dana se može uočiti plod dužine 1,6 cm i širine 0,6 cm. U ovom periodu moguće je uočiti zametke delova tela ploda (glava, trup, ekstremiteti). Primer je dat ultrasonogramom na slici 9.

Slika 9. Ultrasonogram gravidnog roga materice, 40 dana posle osemenjavanja

Mogućnost za dijagnostikovanje graviditeta u periodu od 35 do 40 dana od veštačkog osemenjavanja prikazana je u Tabeli 10.

Tabela 10. Mogućnost za dijagnostikovanje steonosti krava ultrasonografijom u periodu od 35 do 40 dana posle veštačkog osemenjavanja

Dijagnoza	Broj krava (n)	Procenat (%)	Procenat (%)
Asimetrija materičnih rogova	131	100	
Plod	128	97,7	
Delovi tela ploda	52	39,6	
Steonost	131	100	58,74
Nesteonost	92		41,25
Ukupno pregledano krava	223		100

Kao što je prikazano u Tabeli 10 ovaj period se karakteriše izrazitom asimetrijom rogova materice u svim slučajevima (100%). Gravidni rog je većeg lumena i na ultrasonografskoj slici poprečni presek mu je većeg prečnika nego što je kod negravidnog. Plod je bio uočljiv u velikom procentu slučajeva (kod oko 97% steonih krava). U ovom periodu je prisutna veća količina plodovih voda nego u ranijim stadijumima graviditeta što na ultrasonografskoj slici može da prekrije plod. Zbog toga u nekim slučajevima nismo uočili plod. U ovom periodu kao što je prikazano u Tabeli 10, mogli smo da posmatramo pojedine delove tela ploda zahvaljujući mogućnosti zaustavljanja slike tzv. "freeze" opcijom. Ove mogućnosti (uočavanje ploda i pojedinih delova tela ploda) i naročito kada je moguće pažljivim (ali i dugotrajnijim) posmatranjem ploda uočiti otkucaje srca, uticale su na lakše i preciznije konstatovanje graviditeta. Rast i razvoj ploda omogućili su sve precizniju ultrasonografsku dijagnostiku.

Na osnovu opisanih karakteristika za postavljanje ili isključenje dijagnoze steonosti za određenu starost graviditeta postigli smo tačnost kao što je prikazano u Tabeli 11.

Tabela 11. Tačnost dijagnoze steonosti krava na osnovu ultrasonografskog pregleda krava u periodu od 35 do 40 dana posle veštačkog osemenjavanja

Dijagnoza		Broj dana od osemenjavanja						Ukupno krava (n)
		35	36	37	38	39	40	
Pozitivna	Ultrasonografija	42	28	14	14	20	13	131
	Kontrola	40	23	12	12	20	13	120
Negativna	Ultrasonografija	21	18	10	13	14	16	92
	Kontrola	21	18	10	13	14	16	92

Podaci prikazani u Tabeli 11 pokazuju da je i u ispitivanom periodu od 35 do 40 dana posle veštačkog osemenjavanja došlo do razlike u broju postavljenih ranih - ultrasonografskih i kasnih dijagnoza steonosti. Prilikom ranog dijagnostikovanja steonosti je bilo 131, dok je pri kontroli bilo 120 steonih krava što čini oko 91%. Uzrok smanjenom broju steonih krava pri kasnijem pregledu je bio embrionalni mortalitet. To praktično znači da je embrionalni mortalitet bio prisutan kako u ranijim tako i u kasnijim ispitivanim periodima gestacijske starosti. Kao jedini uzrok nastale razlike navodi se uginuće embriona jer je pored mogućnosti vizualizacije unutrašnjosti polnih organa primenom ultrasonografije teško bilo pogrešiti i postaviti netačnu dijagnozu. Negativna dijagnoza steonosti je pri ranom dijagnostikovanju bila postavljena kod 92 i takođe kod 92 krave pri kasnom pregledu pri čemu se pokazala tačnost od 100%, kao što bi se moglo i očekivati zahvaljujući veoma velikim razlikama između gravidnog (35 do 40 dana od osemenjavanja) i negravidnog roga (vidi Tabelu 10).

Na osnovu broja tačnih (proverenih) i netačnih ultrasonografskih dijagnoza izračunata je dijagnostička vrednost ultrasonografije za dijagnostikovanje graviditeta ili neplodnosti u periodu od 35 do 40 dana posle osemenjavanja i prikazana u Tabeli 12.

Tabela 12. Dijagnostička vrednost ultrasonografskog pregleda krava na steonost u periodu od 35 do 40 dana posle veštačkog osemenjavanja

Pokazatelj	Vrednost
Tačnih pozitivnih dijagnoza	120
Netačnih pozitivnih dijagnoza	11
Tačnih negativnih dijagnoza	92
Netačnih negativnih dijagnoza	0
Specifičnost	88,0%
Osetljivost	100%
Pozitivna prediktivna vrednost	90,1%
Negativna prediktivna vrednost	100%

B. Dijagnostikovanje ovarijalnih formacija ultrasonografijom

Kod negravidnih jedinki i klinički palpiranog urednog nalaza uterusa (tzv. nalaz: UBo) dijagnostikovano je na jajniku:

- žuto telo u nekoj od razvojnih faza,
- folikul u razvoju (proestrus),
- cista (folikularna, žutog tela ili luteinska)

ili su jajnici bili bez ehografskog nalaza (postestrus). U Tabeli 13 je prikazana procentualna zastupljenost svakog od navedenih nalaza na jajnicima negravidnih krava.

Tabela 13. Prikaz zastupljenosti pojedinih ehografskih nalaza na jajnicima nesteonih krava

Grupa	Nesteeone krave	Nalaz na jajniku krave			
		Žuto telo	Folikul	Cista	Bez nalaza
Ogledna	190	82	63	28	17
Kontrolna	74	46	15	11	2
Ukupno	264	128	78	39	19

Iz Tabele 13 se vidi da je najčešći nalaz na jajniku prilikom pregleda krava bilo žuto telo. Uočeno je kod 82 od 190 (43%) pregledanih i nesteonih krava u oglednoj i kod 46 od 74 (62%) u kontrolnoj grupi. Folikul na jajniku krave u proestrusu bio je srazmerno ređi nalaz. Uočen je kod 63 od 190 (33%) nesteonih krava u oglednoj i kod 15 od 74 (20%) u kontrolnoj grupi. Najređe je dijagnostikovana cista na jajniku, kod 28 od 190 (14%) krava u oglednoj i kod 11 od 74 (14%) u kontrolnoj grupi. Ovakvu zastupljenost nalaza na jajnicima krava smo mogli i očekivati s obzirom da su prve dve pojave fiziološke a treća je patološka. Bez nalaza na jajniku, dakle glatki jajnici, bilo je kod najmanje pregledanih i nesteonih plotkinja, tj. kod 17 od 190 (8%) u oglednoj i kod 2 od 74 (2%) u kontrolnoj grupi što je posledica faze ciklusa u kojoj je krava zatečena pri pregledu.

Žuto telo na jajniku (corpus luteum) je uočeno kao ehogena, svetlo siva, ograničena, okrugla ili ovalna površina. Jasno se razlikuje od okolnog tkiva jajnika po zrnastoj strukturi i omotaču koji je manje ili više izražen u zavisnosti od stadijuma žutog tela. Veličina varira i zavisi od stadijuma. Primer žutog tela dat je ultrasonogramom na slici 10. U periodu od 19 do 40 dana posle veštačkog osemenjavanja zastupljenost nalaza žutog tela na jajniku pokazala je distribuciju kao u Tabeli 14.

Slika 10. Ultrasonogram žutog tela na jajniku (corpus luteum)

Tabela 14. Distribucija frekvencije zastupljenosti ehografskih nalaza žutog tela po periodima ispitivanja kod negravidnih krava prilikom ultrasonografskog pregleda jajnika

Broj dana posle veštačkog osemenjavanja	Broj krava kod kojih je dijagnostikovano žuto telo (n)	Procenat (%)
19 do 24	2	2,43
25 do 29	2	2,43
30 do 34	34	41,46
35 do 40	44	53,68
Ukupno	82	100

Iz distribucije pojave dijagnostikovanog žutog tela na jajniku krave, kao što je prikazano u Tabeli 14, vidi se da je najčešće identifikovano žuto telo u periodu od 35 do 40 dana kod 44 od 82 (53%) krave, i veoma često u periodu od 30 do 34 dana posle osemenjavanja, kod 34 od 82 (41%) krave. Najređe smo uočili žuto telo u vreme kada bi po pravilu povadañja neuspešno osemenjenih krava trebalo da dođe do sledećeg estrusa, dakle u periodu od 19 do 24 dana posle osemenjavanja, kod 2 od 82 (2%). Takođe je u periodu od 25 do 29 dana bio redak nalaz žutog tela, kod 2 od 82 (2%) krave, što je teorijski opravdano s obzirom na mogućnost proteklog estrusa i potrebnog vremena da se formira novo žuto telo koje bi se moglo ultrasonografski detektovati.

Pri nalazu žutog tela na jajniku nesteonih krava aplikovana je injekcija preparata analoga prostaglandina radi izazivanja luteolize i indukcije estrusa. Injekcija je imala i dijagnostičku ulogu koja bi ukazala na pravilnost postavljene dijagnoze. U Tabeli 15 prikazan je rezultat terapije prostaglandinima u vidu broja krava u estrusu, trećeg dana posle pregleda i aplikacije terapije odnosno dijagnostičkog sredstva. Na osnovu dobijenih rezultata procenjena je dijagnostička vrednost ultrasonografije u determinaciji žutog tela. U istoj tabeli je prikazan i broj krava koje su koncipirale posle veštačkog osemenjavanja u toku estrusa izazvanog prostaglandinima čime smo ukazali na fertilitet hormonalno izazvanog estrusa.

Tabela 15. Rezultat indukcije estrusa krava primenom i.m. injekcije prostaglandina kod nalaza žutog tela ultrasonografijom i osemenjavanja, i postignuta steonost

Grupa nesteonih krava	Broj krava kod kojih je uočeno žuto telo		Osemenjeno krava		Koncipiralo krava	
	n	%	n	%	n	%
Ogledna	82	100	70	85,40	26	31,70
Kontrolna	46	100	35	76,08	19	41,30
Ukupno	128	100	105	82,03	46	35,15

Tabela 15 prikazuje da je i u oglednoj (85%) i u kontrolnoj (76%) grupi postignut visok stepen indukcije estrusa posle hormonalnog tretmana. Procenat krava koje su osemenjene i koncipirale posle ovako nastalog estrusa je bio sličan u oglednoj (31%) i kontrolnoj (41%) grupi. S obzirom da je na plodnost pregledanih i tretiranih krava uticalo više činilaca, dalja obrada i analiza razlike postignute indukcije estrusa i realizovane steonosti nije bila primerena.

Folikul na jajniku krave u proestrusu je dijagnostikovao primenom ultrasonografije u vidu neehogene, crne, okrugle ili ovalne površine, različite veličine. Primer folikula na jajniku krave dat je ultrasonogramom na slici 11. Diferencijalna dijagnoza folikula i folikularne ciste na jajniku pregledane i nesteone krave, postavljena je na osnovu ehoteksture materice karakteristične za proestrus, kliničkog nalaza materice, prisustva estralne sluzi i vizuelnog, vaginalnog pregleda cerviksa spekulomom. U Tabeli 16. prikazana je distribucija pojave folikula po ispitivanim periodima pregleda.

Slika 11. Ultrasonogram folikula na jajniku nesteone krave u periodu proestrusa

Tabela 16. Zastupljenost ehografskih nalaza folikula na jajniku nesteonih krava po periodima pregleda

Broj dana posle veštačkog osemenjavanja	Broj krava kod kojih je dijagnostikovao folikul (n)	Procenat (%)
19 do 24	8	12,70
25 do 29	13	20,63
30 do 34	13	20,63
35 do 40	29	46,04
Ukupno	63	100

Iz Tabele 16 se može videti da je najčešće, kod 29 od 63 (46%) plotkinja, folikul dijagnostikovao na jajniku nesteone krave u periodu od 35 do 40 dana posle neuspešnog osemenjavanja. To je vreme u koje teorijski kod krava nastupa drugi estrus (dva puta 21 dan prosečno). Uzimajući u obzir da je potrebno nekoliko dana do potpunog sazrevanja i ovulacije folikula jasno je da će se u ovom periodu naješće i dijagnostikovati kao dominantna pojava. Međutim, najređe, kod 8 od 63 (12%) plotkinje, je bio uočen folikul na jajniku u periodu od 19 do 24 dana što bi odgovaralo vremenu nastupajućeg estrusa.

U Tabeli 17. prikazana je distribucija po periodima u danima proteklim od detekcije folikula (proestrus) do ispoljavanja estrusa i osemenjavanja.

Tabela 17. Prikaz distribucije perioda od ehografske identifikacije folikula na jajnicima nesteonih krava u proestrusu do njihovog osemenjavanja

Broj dana od dijagnostikovanja folikula do osemenjavanja nesteonih krava	Osemenjeno krava	
	n	%
0	9	25,70
1	4	11,40
2	11	31,40
3	5	14,30
4	6	17,20
Ukupno	35	100

Rezultati prikazani u Tabeli 17 ukazuju na korisnost detektovanja folikula u proestrusu. Posle dijagnostikovanja folikula na jajniku, krave su bile otkrivene u estrusu i osemenjene posle dva (31% plotkinja) ili jedan (11% plotkinja) dan. Najveći procenat krava (25% plotkinja) kojima je dijagnostikovao folikul bile su osemenjene isti (u tabeli označeno kao dan nula) dan jer smo na osnovu karakteristika folikula na jajniku i nalaza na ostalim polnim organima smatrali da je krava u estrusu iako nije bila registrovana i prijavljena radi veštačkog osemenjavanja (tzv. "tihan estrus").

U Tabeli 18. prikazana je dijagnostička vrednost ultrasonografske identifikacije folikula na jajniku krave u proestrusu.

Tabela 18. Dijagnostička vrednost ultrasonografije za determinaciju folikula na jajniku krava u proestrusu

Grupa krava	Broj krava kod kojih je dijagnostikovao folikul na jajniku		Broj krava koje su ispoljile estrus i osemenjene		Koncipiralo krava	
	n	%	n	%	n	%
Ogledna	63	100	35	55,65	16	25,39
Kontrolna	15	100	7	46,66	6	40,00
Ukupno	78	100	42	53,84	22	53,84

Kao što se vidi iz Tabele 18 oko polovine ukupnog broja krava (53%) koje su bile detektovane u proestrusu na osnovu ultrasonografske identifikacije folikula na jajniku, bilo je osemenjeno u odgovarajuće vreme. Iako su nešto bolje praćene krave iz ogledne (55%) nego iz kontrolne (46%) grupe ni u jednoj ni u drugoj nije postignut zadovoljavajući efekat. Nasuprot tome bolji procenat steonosti postignut je u kontrolnoj (40%) nego u oglednoj (25%) grupi, ali ukupan rezultat steonosti nije zadovoljavajući (53%). Kao i za žuto telo i za folikul na jajniku nisu poređeni rezultati ostvarene steonosti između grupa iz istih razloga.

Ultrasonografska dijagnoza folikularne ciste je postavljena u slučaju nalaza neehogene, crne, okrugle površine, na jednom ili na oba jajnika i na osnovu izmerenog prečnika poprečnog preseka preko 2,5 cm. Pri tome je uzeta u obzir i perzistentnost formacije. Primer folikularne ciste dat je ultrasonogramom na slici 12.

Slika 12. Ultrasonogram folikularne ciste na jajniku nesteone krave

U Tabeli 19. prikazana je zastupljenost ehografskog nalaza cista po periodima pregleda.

Tabela 19. Zastupljenost ehografski dijagnostikovanih cista na jajnicima nesteonih krava po periodima pregleda

Broj dana posle veštačkog osemenjavanja	Broj krava kod kojih je uočena cista (n)	Procenat (%)
19 do 24	0	2,35
25 do 29	2	3,80
30 do 34	17	60,71
35 do 40	9	32,14
Ukupno	28	100

Iz Tabele 19 se vidi da je najveći procenat (60%) dijagnostikovanih cista bio u periodu od 30 do 34 dana posle neuspešnog osemenjavanja. S obzirom da je cista na jajniku krave patološka, a ne fiziološka pojava mogla bi se očekivati uniformna zastupljenost tokom svih perioda ispitivanja. Najpovoljnije je bilo dijagnostikovati cistu u vreme kada po teoriji povraćanja nesteona krava ulazi u estrus (oko tri nedelje od osemenjavanja) s obzirom na perzistentnost i štetnost ove pojave. Međutim u to vreme ili nismo uspeli da decidno razgraničimo folikul od ciste, ili je cista bila formirana poreklom od folikula koje smo dijagnostikovali pa smo u periodu od 19 do 24 dana registrovali najređu pojavu cista (3,35%).

Posle postavljene dijagnoze, izvršene terapije i praćenja osemenjavanja izračunata je dijagnostička vrednost ultrasonografije za dijagnostikovanje ciste na jajniku mlečnih krava i rezultati prikazani u tabeli 20.

Tabela 20. Dijagnostička vrednost ultrasonografije za dijagnostikovanje folikularnih cista na jajnicima nesteonih krava

Grupa nesteonih krava	Broj krava kod kojih je uočena i terapirana cista na jajniku		Osemenjeno krava		Steono krava	
	n	%	n	%	n	%
Ogledna	28	100	25	89,28	16	57,14
Kontrolna	11	100	7	63,63	4	36,36
Ukupno	39	100	32	82,05	20	51,28

Tabela 20 prikazuje da smo u zadovoljavajućem procentu slučajeva u oglednoj grupi (89%) uspeli da izlečimo cistu i plotkinju terapijom dovedemo u estrus. Iako u malom broju ispitanih slučajeva, dijagnostikovanje ciste primenom ultrasonografije i primena terapije rezultovali su solidnim uspehom i ostvarenom steonošću (57%).

C. Ocena dijagnostičke vrednosti i korisnosti primene ultrasonografije u reprodukciji muznih krava

Cilj primene rane dijagnoze plodnosti je zapravo identifikacija nesteonih krava i njihovo što ranije vraćanje u polni ciklus, osemenjavanje odnosno reprodukciju. Ultrasonografija je omogućila vizualizaciju unutrašnjih polnih organa plotkinja čime se dobilo izvanredno dijagnostičko sredstvo za determinaciju statusa plodnosti. S obzirom da smo u slučaju neuspešnog osemenjavanja i pri konstatovanju statusa mogli odmah da primenimo pravilnu terapiju, krave su ubrzo bile u estrusu i osemenjene. Taj period između dva osemenjavanja je veoma značajan s obzirom da ulazi u obračun ukupnog međutelidbenog raspona.

Radi poređenja međuestrusnih intervala ogledne (rana dijagnoza ultrasonografijom i terapija) i kontrolne (klasičan pristup rektalnom palpacijom i terapija) grupe krava uradili smo statističku analizu za svaki od pojedinačnih nalaza posebno (žuto telo, folikul u proestrusu i cista na jajniku). Rezultati analize su prikazani u Tabeli 21.

Tabela 21. Rezultati trajanja perioda u danima između dva osemenjavanja ogledne i kontrolne grupe krava

Grupa	Nalaz	Pregled sa dana		Estrus (dana)		Dana od v.o.		Koncipiralo	
		prosek	SD	prosek	SD	prosek	SD	n	%
Ogledna	Žuto telo	35,00	3,18	2,67	0,76	38,05	3,18	26	31,7
Kontrolna		46,90	5,49	2,72	0,90	51,83	14,47	19	40,0
Ogledna	Folikul u proestrusu	32,19	6,21	1,86	1,47	35,7	5,88	16	25,4
Kontrolna		47,67	6,34	2,00	0,93	51,13	7,41	6	40,0
Ogledna	Cista na jajniku	33,78	6,51	14,30	7,13	48,33	7,51	14	50,0
Kontrolna		47,82	6,51	21,00	15,7	68,82	19,39	4	36,4

U Tabeli 21 je izražena prosečna vrednost za vreme proteklo od neuspešnog osemenjavanja do pregleda na steonost. Iz vrednosti aritmetičke sredine se vidi da je program pregleda sproveden do kraja, i iz standardne devijacije (u tabeli SD), da nije bilo velikih odstupanja od planiranog pregleda dva puta mesečno.

Estrusi kod nesteonih krava su izazvani kao što je planirano i nije bilo bitnijih odstupanja u vremenu pojave estrusa posle dijagoze i terapije žutog tela (SD je bila 0,7 za oglednu i 0,9 dana za kontrolnu), ni posle detekcije folikula na jajniku krave (SD je bila 1,4 dana i 0,9 dana za kontrolnu grupu). Zabeležili smo odstupanje kod pojave estrusa posle dijagnostikovanja i terapanja ciste (SD je bila 7,1 za oglednu i 15,7 za kontrolnu grupu).

Postignuta je statistički visoko signifikantna razlika ($p < 0,001$) u skraćenju perioda između dva osemenjavanja posle dijagnoze: žuto telo za oko 13 dana, folikul u proestrusu 16 dana i folikularna cista na jajniku oko 20 dana. Mnogo niže vrednosti standardne devijacije ogledne i kontrolne grupe za svaku grupu nalaza ukazuju na neprirodnost distribucije pojavljivanja estrusa. To je posledica hormonalnog (kada je dijagnostikovano žuto telo i cista) i vitaminskog (folikul u proestrusu) tretmana indukcije estrusa.

Postignut procenat steonosti u oglednim i kontrolnim grupama nije statistički signifikantan ($p < 0,001$) osim za dijagnozu folikula u proestrusu koji nije signifikantan pri $p > 0,01$.

DISKUSIJA

Dijagnostikovanje graviditeta mlečnih krava je jedna od najviše istraživanih oblasti u okviru primene ultrasonografije. S obzirom na značaj i potrebu što ranijeg određivanja uspeha osemenjavanja, ispitivanja primene ultrasonografije su od toga i počela radovima *Chaffaux-a* (1982.). Istraživanja su se razvijala u pravcu utvrđivanja gestacijske starosti pri kojoj se može ultrasonografski vizualizovati plod kao jedini pouzdani znak graviditeta. U drugoj fazi je analizirana dijagnostička vrednost ultrasonografije za dijagnostikovanje ili steonosti ili izostanka koncepcije. U trećoj fazi je bilo prenatalno određivanje pola fetusa vizualizacijom polnih organa ploda. Verovatno će sudeći po potrebama sledeći korak primene ultrasonografije biti evaluacija biometrije ploda *in utero* iz čega će proisteći ocena validiteta razvoja i vitalnosti ploda.

Najranije posle osemenjavanja je dijagnostikovao steonost *Boyd* (1988.), već sa 9 dana kada se vizualizovao plodov mehur. U svojim istraživanjima upotrebio je sondu od 7,5 MHz i ehokameru sa mogućnošću povećanja slike (zoom efekat). Upotreba ovakve, visoko kvalitetne opreme rezultirala je u mnogo ranijem dijagnostikovanju graviditeta nego u našem radu. *Kastelic et al.* (1991.) su dijagnostikovali graviditet sa 12 dana primenom sonde iste frekvence što je nešto kasnije nego u prethodnom radu. Opšte prihvaćeno je mišljenje da sondom više frekvence (7,0 i 7,5 MHz) može ranije posle osemenjavanja da se dijagnostikuje steonost nego sondama nižih frekvencija (3,0 i 3,5 MHz).

Najviše objavljenih radova urađeno je primenom sonde od 5,0 MHz kao što je i u našem. *Pierson and Ginther* (1984.) su već sa 12 do 14 dana uočili plodov mehur što je mnogo ranije nego u našem radu (mi smo sa 23 dana). Slično su postigli i *Kastelic et al.* (1989.). Međutim, njihovi rezultati su postignuti u eksperimentalnim uslovima što znači zamračenje prostorije, optimalna udaljenost i visina ekrana ehokamere od očiju pregledača, i manji broj pregledanih krava na dan. U našem radu je ultrasonografija izvođena u štalskim uslovima što znači da smo često imali neizbežnu direktnu osunčanost ekrana što smanjuje vidljivost slike i detalja na njoj i otežava posmatranje ekrana. Dalje, u terenskim uslovima u kojima smo izveli ispitivanje potrebno je izvršiti pregled u bilo kom mestu u štali što je povezano sa prenošenjem ultrazvučne opreme i promenom ambijentalnih uslova rada. Konačno, kada se ultrasonografija primenjuje rutinski, kao što smo želeli da postignemo, potrebno je pregledati veći broj krava na dan što smanjuje koncentraciju i dovodi do mogućnosti previdanja značajnih detalja koji su teško uočljivi u ovom periodu (ljudski faktor utiče na tačnost dijagnostikovanja).

Autori (25, 36) su uočili embrion između 26 i 29 dana steonosti dok smo mi uspeli već sa 25 ali ne kod svih pregledanih krava. Naši rezultati su uglavnom u saglasnosti sa rezultatima *Kahn-a* (1985.) kao i *Szenci-a* (1992.). Preliminarni radovi (13,14,17) koje smo izveli u oblasti primene ultrasonografije u ginekologiji i reprodukciji krava pokazali su nešto slabije rezultate nego u ovom radu što je posledica početnog perioda uvežbavanja i učenja tehnike ehografije.

Prvenstveno u početku primene ultrasonografije i vremenom sve manje, koristile su se i sonde od 3,0 i 3,5 MHz. Primena ovakvih sondi rezultirala je u nešto nepovoljnijim rezultatima. Tako su *Tainturier et al.* (1983.) pouzdano detektovali steonost tek od 35 dana gestacije. Slično su postigli i *Chaffaux et al.* (1986.) kada su sa 28 dana prvi put uočili amnionov mehur i sa 35 dana embrion kao i *Hughes i Davies* (1989.). *Kahn* (1990.) je u svojim istraživanjima koristio dve vrste sondi (sektor i linearnu) i uočio otkucanje srca embriona već sa oko 4 sedmice gestacije.

Elementi i kriterijumi koji se koriste prilikom ultrasonografskog dijagnostikovanja graviditeta moraju biti jednaki kod svih autora s obzirom da su pretpostavka poznavanja činjenica embriologije, fiziologije i patologije reprodukcije. Odstupanja od poštovanja ovih činjenica uzrokuju pogrešno interpretiranje ultrasonografskog nalaza. Zbog toga je i došlo do primene pojma periestralnih, slobodnih, intrauterinih tečnosti kod nesteonih krava koje daju isti ultrasonografski nalaz u periodu oko 21 dan posle osemenjavanja kao i graviditet odgovarajuće starosti (*Pieterse et al.* 1990.).

U našem radu dijagnostikovanje graviditeta zasnovano je na elementima opisanim u radovima više autora (*Pierson and Ginther* 1984., *Pierson et al.* 1988., *Kahn* 1990., *Szenci* 1988.) čime smo izbegli ovakve moguće greške.

Nalaz graviditetnog žutog tela kao jedinog znaka graviditeta u periodu do 30 dana steonosti nije u literaturi opisan. U našem radu je ovaj indirektni znak bio osnova za dijagnostikovanje gravidnosti u 56% slučajeva u periodu od 19 do 24 dana steonosti, dok u 38% krava u periodu od 25 do 29 dana (Tabele 1 i 4). Prema tome, u periodu od 19 do 24 dana steonosti, dijagnozu smo nešto češće postavljali na osnovu nalaza graviditetnog žutog tela određenih ehografskih karakteristika. Ovakvo žuto telo smo uočili kod ukupno 87% steonih krava u periodu od 19 do 24 dana steonosti. Ako bi se daljim istraživanjem utvrdilo da ovakvo žuto telo luči i održava odgovarajuću koncentraciju progesterona u krvi (*Sprecher et al. 1989.*) onda bi to bilo objašnjenje za analognu tačnost pozitivne RIA dijagnoze u ovom periodu. Razvojem ploda tokom graviditeta i već posle 30 dana steonosti, nalaz graviditetnog žutog tela gubi značaj. Posle 30 dana steonosti glavni nalaz za tvrdnju o steonosti je vizualizacija embriona.

Iako bi se tačnost ultrasonografije kao dijagnostičke metode najpreciznije mogla odrediti samo žrtvovanjem životinje na dan pregleda i poređenjem ultrasonograma sa rezultatima obdukcije, mnogi autori nisu tako postupili. Dijagnostička vrednost utvrđivana je najčešće ili poređenjem sa izmerenim vrednostima koncentracije progesterona u telesnim tečnostima (RIA, EIA, ELISA) ili kasnijom kontrolom rektalnom manuelnom palpacijom. S obzirom na različite primenjene dijagnostičke testove dobijeni su i odgovarajući rezultati, ali nikad ne mogu biti apsolutno usaglašeni (*Beghelli et al. 1986.* i *Pieterse et al. 1990.*).

Prednost ultrasonografije nad svim ostalim dijagnostičkim metodama je upravo mogućnost vizualizacije ploda *in utero* što je jedini pouzdan znak graviditeta, dok se ostale odnose na indirektno dokazivanje graviditeta. Tako RIA i EIA testovi samo ocenjuju prisustvo žutog tela pa s tim u vezi nisu sasvim pouzdani. S druge strane rendgenska dijagnostika je komplikovana za rutinsku praksu i koristi zračenje koje pokazuje štetno dejstvo na biološke materijale.

U radovima koji su razmatrali dijagnostički kvalitet ultrasonografije postignute su različite vrednosti (2, 7, 42, 50). U našem radu je postignuta tačnost od 90% za pozitivnu dijagnozu i 100% za negativnu dijagnozu posle 30 dana od veštačkog osemenjavanja. S obzirom da je na tačnost ultrasonografije uticalo više subjektivnih (uvežbanost pregledača, zamor posle većeg broja pregleda, itd) i objektivnih (performanse opreme, ispitivanje na kravama ili junicama, terenski uslovi rada u našem ispitivanju, itd) momenata diskutovati dijagnostičke vrednosti bi bilo neprimereno.

Tačnost pozitivne dijagnoze u mnogome je određena načinom utvrđivanja ove dijagnostičke vrednosti. Ukoliko se tačnost pozitivne dijagnoze utvrđuje na osnovu transrektalnog nalaza palpacijom u kasnijem periodu graviditeta onda se primećuje nešto veći broj steonih krava pri ranom dijagnostikovanju ultrasonografijom nego pri kasnijem, kontrolnom pregledu. Razlika koja je nastala je posledica kasnog embrionalnog i ranog fetalnog mortaliteta (dužina embrionalnog i fetalnog perioda dogovorena je međunarodnom nomenklaturom - *Committee on Reproductive Nomenclature 1972.*). S obzirom na sićušnost ploda u ovom periodu gotovo je nemoguće uočiti pobačaj okom i događajem potvrditi ultrasonografski nalaz. S druge strane još ne postoje metode za dokazivanje resorpcije ploda i na taj način potvrditi dijagnozu. To konkretno znači da je tačnost pozitivne dijagnoze umanjena embrionalnim i fetalnim mortalitetom. Ovaj stav podržavaju svi autori a naročito su elaborirali *Badtram et al (1991.)* i *Chaffaux et al (1986.)*.

Prednost tehnike ultrasonografije nad tehnikom pregleda palpacijom je u tome što se kod prve ne vrši mehanički kontakt sa pregledanim organom (materica i jajnici). Ovo je naročito značajno za matericu čime se izbegava eventualni negativni uticaj na plod, plodove omotače pa i na miometrijum čime bi postojala mogućnost izazivanja kontrakcija i pobačaja.

Mogućnost štetnog delovanja ultrasonografskog pregleda i ultrazvučnog talasa na plod nije još ispitana i definitivno dokazana odnosno negirana ("Međunarodni komitet za ispitivanje primene ultrazvuka u medicini i biologiji"). Zbog toga ne možemo tvrditi da li je do smanjenja u broju steonih krava pri ogleđnom i kontrolnom pregledu došlo zbog dejstva ultrazvuka ili pregleda.

Tačnost negativne ultrasonografske dijagnoze određena je manjim brojem faktora pa stim u vezi i manje varira u izveštajima autora. Do pogrešne dijagnoze može doći usled nepouzdanosti anamneze pri pregledu (postoji i kasnije osemenjavanje ali nije evidentirano) ili neuvežbanosti pregledača za pregled.

Zbog različitog procenta embrionalnog i fetalnog mortaliteta na farmama i pouzdanosti anamnestičkih podataka dobijene su i različite vrednosti ostalih dijagnostičkih parametara (pouzdanost, osetljivost, specifičnost, pozitivna i negativna prediktivna vrednost), pa ih s tim u vezi

ne vredi međusobno porediti kao ostvarene rezultate. Za praktičnu primenu ultrasonografije bilo bi korisno da se rana pozitivna dijagnoza kontroliše sa oko 60 dana od osemenjavanja u cilju potvrđivanja dijagnoze. Ovim rutinskim kontrolnim pregledom bi se identifikovale krave kod kojih je došlo do prekida graviditeta i prema njima preduzele odgovarajuće mere. S druge strane, omogućilo bi se praćenje embrionalnog mortaliteta i u slučaju povećanog odstupanja od uobičajenog (Miljkovi} 1976.) preduzeti kontrolu ostalih faktora plodnosti krava (Ivkovi} i sar. 1993.).

Dijagnostikovanje neplodnosti se ne zasniva na uočavanju nekih posebnih ehografskih karakteristika, već na odsustvu adekvatnih detalja koji ukazuju na steonost (graviditetno žuto telo, najmanja količina plodovih voda u ranoj i plod u kasnijoj fazi graviditeta).

Pouzdanost dijagnostikovanje ne gravidnosti već od tridesetog dana posle veštačkog osemenjavanja omogućilo je primenu adekvatne terapije u cilju izazivanja estrusa i osemenjavanja nesteonih plotkinja što je i cilj svake rane dijagnoze. Međutim, prethodno je veoma važno utvrditi nalaz i uzrok izostanka koncepcije. Ukoliko nema patoloških promena na materici možemo primeniti adekvatnu terapiju radi izazivanja estrusa i osemenjavanja.

Veći broj radova ukazuje da je ultrasonografska dijagnostika i identifikacija ovarijalnih formacija tačna (10, 26, 27, 30, 37, 40, 42, 49). Rezultati su postignuti na osnovu poređenja ultrasonografskog nalaza in vivo i makroskopskog nalaza na obdukciji iste krave (32). Ovako dobijeni rezultati su veoma pouzdani i mogu se koristiti kao osnova za dalja ispitivanja primene ultrasonografije radi identifikacije ovarijalnih struktura. U našem radu nismo koristili opis jajnika sa obdukovane krave radi provere ultrasonografske dijagnoze, već smo pokušali da ispitamo mogućnost njene praktične primene.

Svrha ultrasonografske identifikacije ovarijalne strukture je da se otkloni uzrok poremećenog polnog ciklusa krave. U tom cilju smo primenili terapiju radi dovođenja plotkinje u estrus i osemenjavanja. S obzirom da u dostupnoj literaturi nema ovakvih radova biće diskutovani samo postignuti rezultati našeg istraživanja.

Kod dijagnostikovanog žutog tela na jajniku i aplikovanog luteolitičkog preparata indukovali smo estrus u 85% slučajeva čime bi mogli biti zadovoljni. Ocena dijagnostičke vrednosti ultrasonografije za dijagnostikovanje žutog tela na jajniku krave ne može da se izvrši samo na osnovu uspeha indukcije estrusa. U ovu analizu treba uključiti i kvalitet aplikovanog prostaglandinskog preparata, prirodnu sposobnost (podložnost) jedinke da reaguje na ovaj hormon kao i konkretne terenske uslove kao što je odnos otkrivenih krava u estrusu i broj krava koje su stvarno bile u estrusu. Ovaj poslednji faktor najviše dolazi do izražaja na farmama gde je loše organizovano otkrivanje estrusa. U tom slučaju rana dijagnoza neplodnosti ultrasonografijom dobija svoj puni značaj. Potpuniju sliku o uspehu izazivanja estrusa dobili bi praćenjem vrednosti polnih hormona (progesteron i estrogen) krava što bi sve ukupno prevazišlo okvire našeg istraživanja. Isto se odnosi i na dijagnostikovanje folikula u proestrusu i cista na jajniku.

Dijagnostikovanje folikula je omogućilo pravovremeno i nepropušteno osemenjavanje u 56% slučajeva što nije zadovoljavajuće. Uspeh je najviše umanjen upravo lošom organizacijom otkrivanja estrusa krava.

Veoma dobar uspeh izazivanja estrusa postignut je posle dijagnoze ciste na jajniku. Osemenjeno je 89% plotkinja što prevazilazi postignute dosadašnje rezultate.

Procenat ostvarene steonosti primenom ultrasonografije nije se značajno razlikovao ($p < 0,001$) kod osemenjavanja u oglednim i kontrolnim grupama osim za dijagnostikovanje folikula gde je razlika značajna pri $p < 0,01$. Procenat steonih krava u oglednoj i kontrolnoj grupi nije pokazatelj uspešnosti rane dijagnoze ultrasonografijom s obzirom na brojnost faktora koji utiču na plodnost jedinke pa i zapata. Koristili smo ga samo radi poređenja rane dijagnoze sa klasičnom (palpacija) pri čemu se može uočiti da je i kod jedne i druge postignut osrednji uspeh koncepcije (40%), što je u našim uslovima uobičajen rezultat.

Najznačajniji parametar uspeha rane dijagnoze izostanka koncepcije je period između dva osemenjavanja. Na vrednost ovog parametra utiče kvalitet redovne identifikacije krava u estrusu i patološke pojave koje mogu uzrokovati dugotrajnu anestriju, kao što su perzistentno žuto telo i cista na jajniku (Carroll i sar. 1990.). Ova dva uzroka su zaista zastupljeni u sterilitetu muznih krava na našim farmama. Zbog toga je veoma važno da se oni što pre posle osemenjavanja dijagnostikuju i otklone. Terapijom raznih patoloških pojava na jajnicima krava, plotkinje se vraćaju u polni ciklus i osemenjavaju. Ranom ultrasonografskom dijagnozom neplodnosti omogućena je primena

adekvatne terapije i osemenjavanje krava u oglednoj grupi, dok su krave u kontrolnoj grupi tretirane posle rektalne palpacije (sa 40 do 50 dana od osemenjavanja). Dobijena je statistički signifikantna razlika ($p < 0,001$) između međuestrusnih perioda ogledne i kontrolne grupe za svaku dijagnostikovanu ovarijalnu formaciju. To praktično znači da se planskom primenom ultrasonografije, kao u našem radu (dva puta mesečno), može skratiti vreme između dva osemenjavanja. Slične rezultate smo dobili i u preliminarnim radovima (15,16,19) na osnovu čega smo i odlučili da proširimo istraživanja. Skraćenje vremena između dva osemenjavanja je važno za naše velike farme mlečnih krava gde je prosečan broj dana u osemenjavanju izuzetno povećan. Razumljivo je da se skraćanjem perioda između dva osemenjavanja postiže i skraćenje prosečnog povećanog servis perioda krava na farmi, što u našem radu nije posebno analizirano jer prevazilazi okvire postavljenih zadataka.

Rana dijagnoza izostanka koncepcije, omogućila je dakle primenu adekvatne terapije što je još jedna prednost u odnosu na ostale dijagnostičke testove (merenje koncentracije polnih hormona u telesnim tečnostima).

U nama dostupnoj, stranoj literaturi nema podataka o uticajima primene rane dijagnoze neplodnosti, bilo koje primenjene metode, na parametre reprodukcije zapata krava. Razlog tome je da se problematika reprodukcije u našim uslovima u velikoj meri zasniva na organizacionom sterilitetu što je redak slučaj u stranim uslovima. S obzirom na pretežno loše otkrivanje i registrovanje krava u estrusu na našim farmama, i produženo prosečno vreme između dva osemenjavanja, rano dijagnostikovanje neplodnosti ultrasonografijom bi moglo doprineti poboljšanju reprodukcije zapata muznih krava.

ZAKLJUČAK

Na osnovu sprovedenih istraživanja o primeni "B mode istovremene" ultrasonografije, uz upotrebu sonde od 5 MHz, kao dijagnostičke metode u kontroli plodnosti muznih krava možemo zaključiti sledeće:

1. Na osnovu mogućnosti vizualizacije unutrašnjih polnih organa plotkinje može se vršiti dijagnostički ultrazvučni pregled tj. ultrasonografija u cilju ustanovljavanja kliničkog nalaza i postavljanja dijagnoze prilikom određivanja polnog statusa krave.
2. Primena ultrasonografije pri ginekološkom pregledu krave obuhvata dijagnostikovanje graviditeta i određivanje statusa jajnika sa identifikacijom specifičnih tkiva jajnika kao što su folikul, žuto telo ili cista.
3. Dijagnostika graviditeta može se vršiti primenom ultrasonografije u periodu od 19 do 24 dana posle osemenjavanja na osnovu identifikacije graviditetnog žutog tela (određenih ehografskih svojstava) na jajniku i/ili gravidnog roga materice. Gravidni rog materice se odlikuje prisustvom plodovih voda što se na ultrasonografskoj slici izražava kao prisustvo neehogene površine unutar ehogenog prstena gravidnog roga materice. Očekivana tačnost dijagnostičke ehografije u ovom periodu je oko 60%.
4. U periodu od 25 do 29 dana graviditeta ultrasonografska dijagnoza steonosti postavlja se na osnovu identifikacije graviditetnog žutog tela na jajniku i graviditetnog roga materice unutar kojeg se može vizualizovati plod. Očekivana tačnost dijagnostičke ehografije u ovom periodu je oko 90%.
5. U periodu od 30 do 34 dana graviditeta ultrasonografska dijagnostika steonosti se zasniva na vizualizaciji gravidnog roga materice unutar kojeg su prisutne plodove vode i plod, te postojanja asimetrije gravidnog i negravidnog roga. Očekivana tačnost dijagnostičke ehografije u ovom periodu je oko 90%.
6. U periodu od 35 do 40 dana graviditeta ultrasonografska dijagnostika steonosti se zasniva na detekciji ploda unutar gravidnog roga materice i izražene asimetrije rogova materice. Očekivana tačnost dijagnostičke ehografije u ovom periodu je oko 90%.
7. Dijagnostička vrednost ultrasonografije za postavljanje pozitivne dijagnoze umanjena je zbog pojave kasnog embrionalnog i ranog fetalnog mortaliteta. Zbog ove pojave ultrasonografska dijagnoza ne može da se prihvati kao konačna, već je potrebno izvršiti kontrolni pregled kasnije i na osnovu kojeg se može doneti odluka o statusu plodnosti plotkinje pa i sprovesti zasušivanje vimena.
8. Pri postavljanju negativne dijagnoze plodnosti ultrasonografijom ne koriste se posebni znaci već se dijagnostikovanje zasniva na konstataciji o odsustvu pouzdanih znakova graviditeta. Dijagnostička vrednost ultrasonografije pri postavljanju negativne dijagnoze uslovljena je tačnošću anamnestičkih podataka i imala je očekivanu vrednost od oko 70% u periodu od 19 do 24 dana, i 100% od 30 dana pa nadalje posle veštačkog osemenjavanja.
9. Ultrasonografskim pregledom jajnika nesteone krave može se identifikovati žuto telo, folikul ili cista. Aplikacijom odgovarajuće dijagnostičke terapije postignuta je indukcija estrusa i osemenjavanje u oko 85%, 55% i 89% pregledanih krava.
10. Kod ultrasonografijom pregledanih i pravilno tretiranih te osemenjenih krava postignuta je koncepcija od najmanje 40%.
11. Rezultat indukcije estrusa i osemenjavanja nesteonih krava, te procenat ostvarene koncepcije je veoma profitabilan s obzirom da je od uticaja na parametre reprodukcije muznih krava na farmi.

12. S obzirom da je ultrasonografijom vršena rana dijagnoza steonosti i u slučaju negativne dijagnoze odmah aplikovana adekvatna terapija, od značaja za primenu ultrasonografije je i period koji je protekao između dva osemenjavanja tretiranih krava. U odnosu na klasičan pristup kontrole plodnosti metodom transrektalne manuelne palpacije postignuto je skraćenje među inseminacionog perioda i to posle dijagnostikovanog: žutog tela za oko 13, folikula za oko 16 i ciste za oko 20 dana.
13. Planskom primenom ultrasonografije za rano dijagnostikovanje steonosti i neplodnosti muznih krava skraćujemo potrebno vreme od osemenjavanja do kontrole plodnosti i posle primenjene terapije plotkinje vraćamo u ciklus i osemenjavanje. Ostvareni procenat koncepcije ne razlikuje se od rezultata postignutih klasičnim pristupom kontroli plodnosti.
14. Primena ultrazvuka u dijagnostičke svrhe nije pokazala štetno dejstvo na biološke materijale, što čini ultrasonografiju primenljivom za dijagnostikovanje graviditeta krava. Prilikom ultrasonografskog pregleda steonih krava ne vrši se mehanički nadražaj na reproduktivne organe pa time ultrasonografija nije uzrok prekida graviditeta i promena na genitalnim organima. Ultrasonografija je brz dijagnostički test i rezultate saznajemo odmah pri pregledu.
15. Ultrasonografija je veoma perspektivna dijagnostička metoda i osim u naučno istraživačkm radu naći će mesta i u rutinskoj primeni u praksi kontrole plodnosti muznih krava na velikim mlečnim farmama.

LITERATURA

1. Badtram G. A. et al.: Factors influencing the accuracy of early pregnancy detection in cattle by real time ultrasound scanning of the uterus, *Theriogenology*, vol 35, no 6, 1153-1166, 1991.
2. Beghelli V. et al.: Pregnancy diagnosis and embryonic mortality in the cow, *Embryonic mortality in farm animals*, 159-167, 1986.
3. Belling T. H.: The look and feel of normal bovine ovaries, *Vet.Medicine* 81, 455-463, 1986.
4. Boyd J.S., Omran S.N. and Ayliffe T.R: Use of high frequency transducer with real time B-mode ultrasound scanning to identify early pregnancy in cows *Vet. Rec.* 123, (1), 8-11, 1988.
5. Carroll D.J. et al.: Variability of ovarian structures and plasma progesterone profiles in dairy cows with ovarian cysts, *Theriogenology*, vol. 34, no. 2, 349-370 1990.
6. Chaffaux S., Valon F. and Martinez J.: Evolution de L' image echographique du produit de conception chez la vache, *Bull. Acad. Vet. Fr.* 55:213-221, 1982.
7. Chaffaux S. et al.: Transrectal real time ultrasound scanning for diagnosing pregnancy and for monitoring embryonic mortality in dairy cattle, *Anim. Reprod. Sci* 10: 193 - 200, 1986.
8. Curran Sandra: Fetal sex determination in cattle and horses by ultrasonography, *Theriogenology*, vol 37, no. 1, 17 - 21, 1992.
9. Eclache D.: Breeding and technical economic problems of cattle herds demonstration of the french example use of different hormones for therapeutic purpose, *Reproduction Meeting, Cattle Fertility Problems*, papers of the conference, Budapest, june 1st -3rd, 139-145, 1993.
10. Farin P.W. et al.: Diagnosis of luteal and follicular ovarian cysts in dairy cow by sector scan ultrasonography, *Theriogenology*, vol.34, no. 4, 633 - 642, 1990.
11. Grasso F. et al.: Ultrasonographic determination of ovarian follicular development in superovulated heifers pretreated with FSH-P at the begining of the estrous cycle, *Theriogenology*, 31: 6, 1209-1221, 1989.
12. Hughes E.A. and Davies D.A.R.: Practical uses of ultrasound in early pregnancy in cattle, *Vet. Record*, 124, (17), 456-458, 1989.
13. Ivkov V. i sar.: Ultrasonografska dijagnostika ranog graviditeta mlečnih krava, *Veterinarski glasnik* 46, 7-8, 365-452, 1992.
14. Ivkov V. et al.: Use of ultrasound in dairy cattle reproduction, 12th International Congress on Animal Reproduction, The Hague, The Netherlands, August 23rd - August 27th, vol. 1, 141-143, 1992.
15. Ivkov V. i sar.: Mogućnost primene ultrasonografije za poboljšanje reprodukcije mlečnih krava, *Savremena poljoprivreda, Zbornik radova IX seminara o savremenoj stočarskoj proizvodnji Novi Sad*, 1993., 1-2, 72-74, 1993.
16. Ivkov V. et al.: The reduction of the inter inseminations period in dairy cows by means of ultrasonic infertility diagnosis, *The international conference on reproduction on farm animals, proceeding book, May 25-26th, Liptovski Jan*, 1994.
17. Ivkov V. et al.: Ultrasonografska vizualizacija ploda tokom ranog graviditeta mlečnih krava, *Acta Veterinaria* 43, no. 4, 233-238, 1993.
18. Ivkov V. i sar.: Ispitivanje ranog embrionalnog mortaliteta mlečnih krava primenom ultrasonografije, *Zbornik kratkih sadržaja radova, I simpozijum "Isхранa, reprodukcija i zdravstvena zaštita goveda" Jagodina*, 24, 1993.
19. Ivkov V. et al.: Diagnostic ultrasonography for determination of ovarian formations in dairy cows, 9th Scientific meeting, Lyon, 10-11 Septembre, 214, 1993.
20. Jones A. L. et al.: The use of ultrasonography to increase recipient efficiency through early pregnancy diagnosis", *Theriogenology*, 33:1, 259, 1990.
21. Kahn W.: Pregnancy diagnosis in cattle by ultrasound, *Tierärztliche Umschau*, 40, 60, 472-477, 1985
22. Kahn W.: Sonographyc imaging of the bovine fetus, *Theriogenology*, vol. 33, no. 2, 385 - 395, 1990.
23. Kalay D.: Evaluation of artificial insemination programs, 9th International Congress on Animal Reproduction and A.I., Madrid, Spain, general reports, vol. 1, 159-174, 1980.

24. Kastelic J.P. et al.: Ultrasonic evaluation of the bovine conceptus, *Theriogenology*, vol. 29,no.1, 36 - 54, 1988.
25. Kastelic J.P. et al.: Accuracy of ultrasonography for pregnancy diagnosis on days 10 to 22 in heifers, *Theriogenology*, 31:4, 813- 829, 1989.
26. Kastelic J.P., D.R. Bergfelt and O.J. Ginther: Relationship between ultrasonic assessment of the corpus luteum and plasma progesterone concentration in heifers, *Theriogenology*, vol. 33,no.6, 1269 - 1278, 1990.
27. Kastelic J.P., R.A. Pierson and O.J. Ginther: Ultrasonic morphology of corpora lutea and central luteal cavities during the estrous cycle and early pregnancy in heifers, *Theriogenology*, vol. 34 no.3, 487 - 498, 1990.
28. Kastelic J.P., D.R. Bergfelt and O.J. Ginther: Ultrasonic detection of the conceptus and characterization of intrauterine fluid on days 10 to 22 in heifers, *Theriogenology*, vol. 35, no. 3, 569 - 581, 1991.
29. Kastelic J.P., D.L. Northey and O.J. Ginther: Spontaneous embryonic death on days 20 to 40 in heifers, *Theriogenology*, vol. 35, no. 2, 351 - 363, 1991.
30. Kito S. et al.: Study on the appearance of the cavity in the corpus luteum of cows by using ultrasonic scanning, *Theriogenology*, vol. 25, no. 2, 325 - 333, 1986.
31. Marković A. i M. Đukić: Ultrasonografija u opstetriciji i ginekologiji, *Ultrazvuk*, vol. 01, no. 03., 191-196, 1990.
32. Mialot J.P.,I. Levy et B. Grimard: L' echographie dans la gestion de la reproduction chez les bovins, *Rec. Med. Vet.*, 167 (1), 21-31, 1991.
33. Miljković V.: Reprodukcijska i veštačko osemenjavanje goveda, *Minerva*, Subotica - Beograd, 1976.
34. Mortimer R.G. et al.: Clinical evaluation of the postpartum cow, In: Abbitt, B. (ed). *Society for Theriogenology Cow Manual*. Society for Theriogenology, Hastings, NE, strane 13-26, 1987.
35. Okano A. and T. Tomizuka: Ultrasonic observation of postpartum uterine involution in the cow, *Theriogenology*, vol 27,no 2, 369-376, 1987.
36. Pierson R.A. and O.J. Ginther: Ultrasonography for detection of pregnancy and study of embryonic development in heifers, *Theriogenology*, vol 22., no. 2, 225-233, 1984.
37. Pierson R.A. and Ginther O.J.: Reliability of diagnostic ultrasonography for identification and measurement of follicles and detecting the corpus luteum in heifers, *Theriogenology*, 28, 929 - 936, 1987.
38. Pierson R.A. and O.J. Ginther,: Ovarian follicular populations during early pregnancy in heifers, *Theriogenology*, 26: 649-659, 1986.
39. Pierson R.A. and O.J. Ginther: Ultrasonographic appearance of the bovine uterus during the estrous cycle, *Journal of the American Veterinary Medical Association* 190, 995-1001, 1987.
40. Pierson R.A. and O.J. Ginther: Ultrasonic imaging of the ovaries and uterus in cattle, *Theriogenology*, vol. 29, no. 1, 19-37, 1988.
41. Pierson R.A., J.P. Kastelic and O.J. Ginther: Basic principles and techniques for transrectal ultrasonography in cattle and horses, *Theriogenology*, vol 29, no 1,3-20, 1988.
42. Pieterse M.C. et al.: The usefulness of ultrasonography in comparison with rectal palpation for the detection of bovine corpora lutea, *Theriogenology*, 33:1,297, 1990.
43. Pieterse M.C. et al.: Aspiration of bovine oocytes during transvaginal ultrasound scanning of the ovaries, *Theriogenology*, vol 30, no 4, 751-761, 1988.
44. Pieterse 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*, vol. 33, no. 3, 697 - 707, 1990.
45. Ribadu A.Y. et al.: Ultrasonic evaluation of corpora lutea and plasma progesterone profile during the oestrus cycle in postpartum cows, 12th International Congress on Animal Reproduction, The Hague the Netherland,156-158, 1992.
46. Roberts S.J.: Female genital anatomy and embryology, In:Roberts, S.J. (ed) *Veterinary Obstetrics and Genital Diseases*, Published by the author, Woodstock, VT, 1-12, 1987.
47. Sasser G.: Early pregnancy detection in domestic ruminants, *Animal Reproduction Meeting, Cattle Fertility Problems*, papers of the conference, Budapest, june 1st-3rd, 121-126, 1993.

48. Sawamukai Y. et al.: Changes of ovarian ultrasonographs, milk progesterone profiles and fertility in cows with ovarian follicular cysts showing normal estrous cycle, 12th International Congress on Animal Reproduction, The Hague the Netherland, 159-161, 1992.
49. Sprecher D.J., R.L. Nebel and S.S. Whitman: The predictive value, sensitivity and specificity of palpation per rectum and transrectal ultrasonography for the determination of bovine luteal status, *Theriogenology*, vol. 31, no. 6, 1165 - 1172, 1989.
50. Szenci O.: Early bovine, porcine and equine pregnancy diagnosis with a battery operated portable ultrasonic scanner, 12th International Congress on Animal Reproduction, The Hague the Netherland, 168-170, 1992.
51. Szenci O., M.A.M. Taverne and Bajcsy A. Cs: Examinations of genital organs (uterus, ovaries) of cattle by two dimensional echograph. Review article, *Magyar allatorvosok lapja*, 43,(7), 423-428, 1988.
52. Tainturier D. et al.: Interet de l' echotomographie pour le controle de la reproduction d' un grand troupeau de vaches laitieres, *Revue de Medecine Veterinaire*, 134, (7), 419-424, 1983.
53. Wideman D., C.G. Dorn and D.C. Kraemer: Sex determination of the bovine fetus using linear array real time ultrasonography, *Theriogenology*, 31:1,272,1989.