

Applications de l'échographie en reproduction bovine

1. L'examen des ovaires

Christian HANZEN¹, Yves LAURENT¹, Samy JAKOVLJEVIC²

¹ Université de Liège, Faculté de Médecine Vétérinaire
Service d'Obstétrique et des Troubles de la Reproduction
B41 Sart Tilman, B-4000 Liège

² Purdue University
School of Veterinary Medicine
Department of Veterinary Clinical Sciences
West Lafayette, IN 47907, USA

Manuscrit déposé le 09/09/1992

PLAN GENERAL

Introduction

1. Méthodologie de l'examen échographique des ovaires
2. Diagnostic des structures physiologiques et pathologiques des ovaires
 - Le follicule
 - L'ovulation
 - Le corps jaune
 - Les kystes ovariens : le kyste folliculaire, le kyste lutéal
 - Le corps jaune kystique
 - Les tumeurs ovariennes
3. Intérêt de l'échographie dans l'évaluation des structures ovariennes
4. La ponction écho-guidée des follicules ovariens

INTRODUCTION

Le vétérinaire joue un rôle prépondérant dans la gestion de la reproduction bovine et recourt pour ce faire à des moyens propédeutiques de plus en plus spécifiques. Il doit par ailleurs être capable de répondre précocément et précisément aux divers problèmes cliniques associés au suivi mensuel de la repro-

duction (Hanzen et al. 1990). La palpation du tractus génital est la méthode de diagnostic la plus couramment utilisée en reproduction bovine (Belling 1986, Dawson 1975). Cependant, elle n'est pas dépourvue de contraintes (Ott et al. 1986, Keltton 1989, Sprecher et al. 1988) ou de risques pour l'évolution ultérieure de la gestation (Fosgate et Smith 1954, Hawk et al. 1955, Vaillancourt et al. 1979, Abbitt et al. 1978, Paisley et al. 1978). Le dosage de la progesterone plasmatique constitue un test complémentaire utile pour le diagnostic de gestation (Foote et al. 1979) et l'exploration de la physiopathologie ovarienne (Sprecher et al. 1988).

L'échographie, utilisée depuis plusieurs années en reproduction équine (Hanzen et al. 1989a, 1989b), connaît un développement croissant en reproduction bovine. Plusieurs publications ont été consacrées à ses principes techniques (Carniel 1987, Pierson et al. 1988). Il nous a semblé opportun de synthétiser les différentes applications de l'échographie en reproduction bovine et d'en évaluer les possibilités futures. Ce premier article est consacré à l'examen

RESUME

Cette synthèse de la littérature est consacrée à l'examen échographique des structures ovariennes chez la bête bovine.

Les follicules sont aisément détectables par échographie, ce qui rend cette méthode idéale pour l'étude de la croissance folliculaire. Le corps jaune, dont l'aspect échographique est différent de celui des follicules, est détectable dès le lendemain des chaleurs. L'aspect échographique du corps jaune est identique chez les animaux non gestants et chez les animaux en début de gestation. Il existe un parallèle, meilleur en début qu'en fin de cycle, entre le développement lutéal évalué par échographie et la progesteronémie.

Le diagnostic différentiel des kystes folliculaires et lutéaux, peu aisé par palpation manuelle, peut être précisé par échographie. Cette dernière permet d'autre part d'étudier la prévalence, les caractéristiques et les effets des corps jaunes kystiques.

Bien qu'en cours de développement, la ponction écho-guidée des follicules ovariens est une méthode prometteuse de prélèvement des ovocytes qui ne nécessite pas de recours préalable à la superovulation. La ponction des kystes ovariens et l'injection intraovarienne de substances thérapeutiques sont également possibles grâce à l'échographie.

des ovaires. Un second article traite de l'examen échographique de l'utérus gestant et non gestant (Hanzen et al. 1992).

1. Méthodologie de l'examen échographique des ovaires

L'examen échographique des ovaires se fait habituellement par voie transrectale. Une évacuation complète du rectum est indispensable. La mobilité de l'ovaire en rend l'examen échographique plus difficile que celui de l'utérus. La sonde est habituellement maintenue au moyen du pouce, de l'index et du majeur tandis que la manipulation de l'ovaire et son maintien contre la sonde est assuré par l'annulaire et le petit doigt. La voie transvaginale a été proposée pour améliorer la visualisation des ovaires. Cette méthode suppose néanmoins des conditions sanitaires d'examen plus strictes et le recours à un guide métallique de la sonde échographique (linéaire ou, préférentiellement sectorielle) dans le vagin tandis que l'ovaire est maintenu manuellement par voie transrectale.

2. Diagnostic des structures physiologiques et pathologiques de l'ovaire

Les *follicules* sont aisément distingués par échographie (Pierson et Ginther 1984a, Pierson et Ginther 1988a, 1988b, Kahn et Leidl 1989, Pieterse 1989, Edmondson et al. 1986). Ils apparaissent comme des zones noires plus ou moins bien circonscrites, anéchogènes, de taille inférieure à 25 mm, limitées par une paroi mince. Le manque d'atténuation de l'onde ultrasonore par le liquide folliculaire est responsable de la présence d'une zone hyperéchogène de renforcement des échos à la partie ventrale du follicule. L'échographie sous-évalue de 2 à 3 mm environ le diamètre anatomique du follicule (Quirk et al. 1986) car seule la cavité folliculaire est observable de manière précise. Une étroite corrélation existe cependant entre les mesures anatomiques et échographiques des follicules de taille supérieure à 3 mm (Pierson et Ginther 1987a). Selon certains auteurs (Pier-

son et Ginther 1984a, Edmondson et al. 1986), il est possible d'observer des follicules d'un diamètre égal ou supérieur à 2 mm avec une sonde de 5 MHz alors qu'une sonde de 3.5 MHz ne permet pas de voir les follicules de taille inférieure à 6 mm. Cependant, d'autres auteurs estiment à 5 mm la limite de détection des follicules avec une sonde de 5 MHz, les follicules de taille comprises entre 2 et 4 mm pouvant aisément être confondus avec des vaisseaux sanguins (Pieterse 1989). Ceux-ci sont localisés au bord de l'ovaire, et plus particulièrement au niveau de son hile, ou autour de l'ovaire en période dioestrale. Par convention, le diamètre d'un follicule se détermine en positionnant les repères échographiques de mesure sur la paroi interne du follicule. Il s'agit donc d'une mesure de la cavité folliculaire et non du follicule lui-même. Si plusieurs follicules sont présents, leur forme irrégulière est due à une compression par les follicules ou le corps jaune adjacent ou à l'absence de mise en évidence de la paroi folliculaire (Pierson et Ginther 1984a). Dans ce dernier cas, un diamètre folliculaire moyen est calculé entre le plus petit et le plus grand diamètre (Pierson et Ginther 1988b). Les follicules peuvent être observés tout au long du cycle œstral ou lors d'un traitement de superovulation (Zalesky et al. 1986). L'échographie est une bonne méthode pour étudier la croissance folliculaire au cours du cycle ou en début de gestation (Pierson et Ginther, 1984a, 1986, 1987b, 1987c, 1988a).

L'*ovulation* est indirectement mise en évidence par la disparition du follicule préovulatoire ou la réduction brutale de son diamètre (Pierson et Ginther 1984a, 1988a).

Le *corps jaune* peut être détecté au moyen d'une sonde de 5 MHz dès le lendemain des chaleurs. Une étude récente (Kastelic et al. 1990a) a confirmé la possibilité de détecter le corps jaune dans 73 % des cas le jour de l'ovulation (JO) et dans 16 %, 5 % et 1 % des cas respectivement 1, 2 ou 3 et 4 jours après l'ovulation. C'est cependant 3 à 4 jours environ après l'ovulation qu'une structure lutéale bien distincte (corps jaune

hémorragique) est identifiée sous la forme d'une zone anéchogène renfermant quelques points plus - échogènes, bien démarquée du stroma ovarien (Pierson et Ginther 1984a, Edmondson et al. 1986, Kastelic et al. 1990a).

L'échogénicité de la structure lutéale s'intensifie au cours du dioestrus (Pieterse 1989). Le corps jaune apparaît comme une zone grise plus ou moins échogène, à l'inverse du follicule anéchogène ou du tissu ovarien plus échogène. Il n'est pas possible de préciser par échographie le stade du dioestrus auquel l'animal se trouve (Pieterse 1989). Le corps jaune cyclique est également discernable pendant sa phase de régression jusqu'en moyenne 1 à 3 jours après l'ovulation suivante (corpus albicans) (Pierson et Ginther 1984a, Kastelic et al. 1990a). L'image du corps jaune n'est pas différente chez les animaux gestants ou non gestants à ce stade du cycle.

L'échographie offre la possibilité avantageuse de pouvoir quantifier, par une mesure de surface, le développement du tissu lutéal au cours du cycle. Une étude échographique associée à l'évaluation de la progestéronémie a confirmé le parallélisme du développement lutéal et l'augmentation de la progestérone plasmatique entre les jours 2 et 8 du cycle chez la vache. En fin de cycle la régression lutéale est moins rapide que la chute de la progestérone plasmatique, la surface lutéale diminuant de 20 % par jour et la concentration de la progestérone de 28 % (Kastelic et al. 1990b). Il existe aussi une corrélation étroite et significative entre la surface de tissu lutéal et la concentration de la progestérone plasmatique dans la première moitié du cycle tant chez les animaux gestants que non-gestants ($r = 0.73$ à 0.85). Cette corrélation n'a été observée, au cours de la seconde moitié du cycle, que chez les animaux gestants ($r = 0.77$ vs 0.33) (Kastelic et al. 1990b).

Les *kystes ovariens* constituent une cause non négligeable d'infertilité chez la bête bovine (Hanzen 1988). Leur fréquence est comprise entre 3 et 29 % avec une incidence moyenne par lactation estimée à 12 % (Ste-

venson et Call 1988). La palpation manuelle des ovaires permet de considérer comme kystique tout follicule dont la taille est supérieure à 2,5 cm et/ou dont la présence peut être décelée pendant au moins une semaine (*kyste folliculaire*). La paroi de ces kystes est mince. Une étude hormonale a précisé que dans 23 % des cas, ces follicules kystiques présentent des traces de lutéinisation (*kyste folliculaire lutéinisé*) (Al Dahash et David 1977) qui contribuent à augmenter l'épaisseur de la paroi du kyste (Marion et al. 1968). Le diagnostic différentiel des kystes ovariens par palpation manuelle n'est pas aisé. Il est cependant important pour le choix d'une thérapeutique appropriée. La mise en évidence par palpation rectale (Morrow et al. 1966, Kaneda 1980) ou après prélèvement des ovaires à l'abattoir (McEntee 1958) d'une cavité centrale dans le corps jaune (*corps jaune kystique*) a été décrite chez la bête bovine. Ce type de corps jaune a été (McEntee 1958, Kaneda 1980) ou non (Morrow et al. 1966, Donaldson et Hansel 1968) rendu responsable d'infertilité.

L'échographie constitue une méthode de choix non seulement pour établir un diagnostic différentiel entre les différents types de kystes ovariens mais également pour préciser la prévalence, les caractéristiques et les effets des corps jaunes kystiques.

Le *kyste folliculaire* présente les mêmes caractéristiques échographiques que le follicule et ne s'en différencie que par l'évaluation de son diamètre. Les kystes ont un diamètre supérieur à 25 mm et une paroi dont l'épaisseur est habituellement inférieure à 5 mm. Leur configuration est sphérique, ovoïde ou polygonale en fonction des pressions relatives exercées par les kystes adjacents sur l'ovaire (Kahn et Leidl 1989). La forme sphérique est habituellement rencontrée lors de la présence d'un seul kyste. Les kystes folliculaires sont anéchogènes. Comme dans le cas des follicules, une zone hyperéchogène (artéfact de transmission) peut être observée à la partie ventrale du kyste. Le *kyste folliculaire lutéinisé* ou *kyste lutéal* possède à sa périphérie du tissu lu-

téal, d'une épaisseur de quelques mm (≤ 5 mm), entourant une cavité centrale anéchogène, d'un diamètre égal ou supérieur à 25 mm. Cette cavité est dans certains cas entrecoupée par des trabécules conjonctifs échogènes (Pieterse 1989). Des formes intermédiaires ont été signalées et sont d'un diagnostic plus difficile.

La présence d'une cavité centrale au sein du corps jaune (*corps jaune kystique*) a été identifiée par échographie dans 37 % à 79 % des cas (Kito et al. 1986, Pierson et Ginther 1987a, Kastelic et al. 1990a). Les différences observées dans la prévalence des corps jaunes kystiques peuvent être dues à la fréquence des examens échographiques réalisés ainsi qu'à la dimension des cavités centrales lutéales. L'échogénicité de cette cavité centrale est semblable à celle du follicule (Kahn et Leidl 1989). Cependant, elle est habituellement moins sphérique, plus lobulée, entourée de tissu lutéal et peut renfermer des trabécules échogènes correspondant à des amas de cellules sanguines hémolysées (Pierson et Ginther 1987a). Par contre, chez la jument, la dissection de ces cavités lutéales a permis de mettre de la fibrine en évidence. Cette différence pourrait être expliquée par une vascularisation lutéale différente chez ces deux espèces. Il y aurait perte de sang chez la jument et seulement de liquides chez la vache (Pierson et Ginther 1984b).

La cavité centrale du corps jaune a un diamètre compris entre 2 à 22 mm. Selon Kito (Kito et al. 1986) 83 %, 59 % et 24 % des cavités ont un diamètre respectivement supérieur à 6, 9 et 20 mm. Selon Kastelic (Kastelic et al. 1990a), 35 % des cavités ont un diamètre supérieur à 10 mm, 52 % d'entre elles sont comprises entre 6 et 10 mm et 13 % entre 2 et 5 mm. Cette cavité centrale peut persister ou au contraire disparaître au cours du cycle. C'est vers le 5^{ème} ou 6^{ème} jour suivant l'ovulation que son diamètre maximal peut être mesuré, et cela quelque soit sa taille. Cependant, les grandes cavités sont plus longtemps détectables que les autres et elles le restent en général jusqu'au jour précédant l'ovulation suivante. A l'in-

verse, les cavités de petite taille ou de taille moyenne régressent au bout d'une semaine environ. Chez la jument, la cavité du corps jaune est détectable moins rapidement et présente son diamètre maximal plus tardivement que chez la vache. En cas de fécondation, ces larges cavités peuvent être détectées jusqu'au 28^{ème}, voire 48^{ème} jour de gestation (Kastelic et al. 1990a, Kito et al. 1986). Chez les animaux non-gestants, la surface de tissu lutéal des corps jaunes kystiques est comparable quelque soit le diamètre de la cavité centrale. Par contre, la surface totale du corps jaune dépend de la dimension de la cavité centrale, que l'animal soit gestant ou non. La présence d'un corps jaune kystique n'influence ni le délai de retour en chaleurs, ni la progestéronémie au 10^{ème} jour du cycle, ni le pourcentage de gestation. Il n'existe pas une tendance à voir apparaître une cavité centrale d'un cycle à l'autre chez un même animal (Kito et al. 1986, Kastelic et al. 1990a). On peut donc conclure à l'absence d'effet négatif des corps jaunes kystiques sur la fertilité chez la bête bovine. A la différence des autres kystes ovariens, les corps jaunes kystiques ne résultent pas d'une absence de rupture du follicule.

Le diagnostic différentiel entre un corps jaune kystique et un kyste folliculaire lutéinisé repose sur plusieurs éléments (Kahn et Leidl 1989). La cavité du corps jaune kystique est habituellement inférieure à 25-30 mm et l'épaisseur du tissu lutéal périphérique est comprise entre 5 et 10 mm. La cavité centrale du corps jaune kystique revêt un aspect oval, à la différence de celui du kyste folliculaire lutéinisé qui est davantage sphérique. La cavité du kyste folliculaire lutéinisé comporte quant à elle beaucoup plus fréquemment des trabécules conjonctifs et la couche périphérique de tissu lutéal est plus irrégulière (Pieterse 1989). Enfin, la cavité centrale du corps jaune kystique tend à régresser à partir du 10^{ème} jour du cycle.

Les *tumeurs ovariennes* sont extrêmement rares dans l'espèce bovine. Les tumeurs de la granuleuse sont habituellement polykystiques et anéchogènes et encapsulées par du

tissu conjonctif plus échogène (Kahn et Leidl 1989).

3. Intérêt de l'échographie dans l'évaluation des structures ovariennes

L'établissement d'un diagnostic correct et le choix d'une thérapeutique appropriée dépendent notamment d'une interprétation exacte des structures ovariennes normales ou pathologiques. La détection d'un corps jaune hémorragique ou d'un corps jaune en voie de lutéolyse est difficile, que ce soit par palpation manuelle ou par échographie (Pieterse et al. 1990). La difficulté de détection du corps jaune hémorragique par palpation manuelle est imputable à sa petite dimension et à sa faible échogénicité lors de son diagnostic par échographie. En phase de régression, l'échogénicité du corps jaune est semblable à celle du stroma ovarien ce qui en explique la difficulté diagnostique par échographie. Il est donc utile d'examiner également le reste du tractus génital pour préciser le diagnostic à ces stades du cycle.

Par rapport à la palpation manuelle, l'échographie constitue une méthode de diagnostic plus exacte pour confirmer la présence (degré d'exactitude : 85 à 91 % vs 73 à 88 %) ou l'absence (degré d'exactitude : 78 à 88 % vs 70 à 93 %) d'un corps jaune âgé de 5 à 16 jours (Pieterse et al. 1990, Sprecher et al. 1989, Watson et Munro 1980, Ott et al. 1986). L'une et l'autre méthodes permettent de confirmer la présence d'un corps jaune fonctionnel mieux que son absence.

Il existe une corrélation ($r = 0.68$) entre la taille du corps jaune évaluée par échographie et la progestéronémie (Sprecher et al. 1989). Une structure lutéale d'un diamètre supérieur à 11 mm s'accompagne d'une progestéronémie supérieure à 5 ng/ml. Une telle corrélation n'a pas été décrite pour la palpation manuelle (Watson et Munro 1980, Mortimer et al. 1983).

Bien qu'il soit possible, de diagnostiquer par échographie (sonde de 5 ou 7,5 MHz) les follicules de taille

inférieure à 5 mm, cette technique ne permet de dénombrer que 34 % des follicules ovariens de diamètre compris entre 5 et 10 mm. Une amélioration de cette détermination peut être obtenue par l'utilisation d'une sonde de 7.5 MHz ou par l'analyse d'enregistrements vidéos (Quirk et al. 1986, Sirois et Fortune 1988). Certains auteurs ont obtenu une corrélation comprise entre 80 et 97 % entre les dimensions mesurées au moyen d'une sonde de 5 MHz et celles mesurées au microscope (Pierson et Ginther 1987a). Comparée à la palpation manuelle, l'échographie est significativement plus performante pour la détection des follicules de diamètre supérieur à 10 mm, puisque ces derniers ont été diagnostiqués dans 96 % des cas par échographie et dans 72 % des cas par la palpation manuelle (Pieterse et al. 1990, Kahn et Leidl 1986).

L'examen échographique permet de faire de manière plus précise que l'examen par palpation manuelle le diagnostic des kystes ovariens qu'ils soient de nature folliculaire ou lutéale (Sprecher et al. 1988, Farin et al. 1990, 1992). Comparée à la palpation manuelle (sensibilité 50 % et spécificité 62 %; Sprecher et al. 1988), l'échographie permet de détecter de manière plus exacte les kystes lutéaux que les kystes folliculaires (sensibilité 92 %, spécificité 70 %; Farin et al. 1990).

4. La ponction écho-guidée des follicules ovariens

Dans l'espèce bovine, la fécondation in vitro d'ovocytes prélevés in vivo au cours du cycle sexuel et leur transfert après maturation constitue une alternative intéressante à la production d'embryons. Un tel prélèvement peut être opéré par laparotomie, par laparoscopie (Lambert et al. 1983, Laurencik et al. 1991) ou par ponction écho-guidée au travers de la fosse ischio-anale (Callesen et al. 1987).

Récemment, la ponction écho-guidée par voie transvaginale a été expérimentée dans l'espèce bovine. Les ovaires sont visualisés au moyen d'une sonde sectorielle de 5 MHz (Pieterse et al. 1988) ou de 7.5 MHz

(Pieterse et al. 1991a, 1991b, Van der Schans et al. 1991). La manipulation de la sonde vaginale est assurée par un guide métallique. Ce dernier permet également le passage d'une aiguille de ponction de diamètre externe compris entre 0.8 et 1.2 mm et de diamètre interne compris entre 0.6 et 0.8 mm. Les ovaires sont manipulés par voie transrectale. L'aiguille de ponction est reliée à un système d'aspiration. Par rapport au nombre de follicules ponctionnés, le pourcentage d'ovocytes ainsi récoltés est selon les auteurs de 27 (Pieterse et al. 1988), 42 (Van der Schans et al. 1991), 52 (Pieterse et al. 1991b) voire 55 % (Pieterse et al. 1991a). Un tel pourcentage est inférieur aux résultats obtenus par endoscopie (58 à 88 %) (Lambert et al. 1983, Laurencik et al. 1991) mais comparable à ceux obtenus par la voie sacroischiatique (42 %) (Callesen et al. 1987).

La fréquence de ponction hebdomadaire n'influence ni le nombre de follicules potentiellement ponctionnables, ni le pourcentage de récupération des ovocytes (Van der Schans et al. 1991). En utilisant une sonde de 7.5 MHz, il apparaît que le pourcentage de récupération diminue lorsque la taille du follicule ponctionné augmente (Pieterse et al. 1991a, 1991b). Ainsi, selon certains auteurs 92 % des ovocytes obtenus proviennent de follicules de diamètre compris entre 2 et 5 mm (Van der Schans et al. 1991). L'observation inverse a été rapportée avec l'utilisation d'une sonde de 5 MHz (Pieterse et al. 1988). Le nombre de follicules ponctionnables dépend du stade du cycle et est plus élevé au début (J3-J4) qu'au milieu (J9-J10) ou qu'en fin de cycle (J15-J16). Une stimulation ovarienne préalable contribue à augmenter le pourcentage de récupération des ovocytes (Pieterse et al. 1988). D'autres facteurs, tels que la réalisation simultanée ou non d'un flushing de la cavité folliculaire (Downing 1984), le diamètre et le degré de biseautage de l'aiguille et la pression d'aspiration (Pieterse et al. 1988), influencent aussi le pourcentage de récupération des ovocytes.

La ponction écho-guidée des follicules permet d'effectuer en moyenne trois prélèvements au cours d'un cycle de 21 jours et de ponctionner ainsi environ 13 follicules par cycle (Pieterse et al. 1991a). Effectuées à ce rythme pendant plusieurs mois, ces ponctions n'induisent ni traumatismes sévères des ovaires ou de l'utérus, ni interférence avec la cyclicité de l'animal (Pieterse et al. 1991b).

Les possibilités d'application de la ponction écho-guidée des follicules ovariens dans le cadre de la production d'embryons a fait l'objet d'une publication récente (Kruip et al. 1991). Quoique des mises au point

complémentaires soient encore nécessaires, cette méthode a permis l'obtention de 9 % d'embryons transférables par rapport au nombre de follicules ponctionnés. Cette technique offre l'avantage de pouvoir être réalisée sans traitement de superovulation préalable. Elle est également applicable à des animaux gestants (Ryan et al. 1990) et constitue une méthode intéressante pour le prélèvement de liquides fœtaux (Vos et al. 1990), la ponction des kystes ovariens, l'injection in situ (ovaire, utérus) de substances thérapeutiques. Elle peut aussi servir à mettre en évidence l'effet du stade du cycle sur la qualité des ovocytes prélevés.

SUMMARY

Clinical use of ultrasonography in bovine reproduction. 1. Ovarian diagnosis

This review is devoted to the clinical examination of ovarian structures in the bovine.

Follicles are easy to distinguish using ultrasonography. In contrast to the liquid-filled follicles, corpus luteum have a granular echogenic structure and can be detected the day after oestrus. The echogenic structure of the corpus luteum is similar in pregnant and non-pregnant animals. The development of corpus luteum evaluated by ultrasonography is correlated with peripheral progesterone levels.

The differential diagnosis between follicular and luteinized follicular cysts is easier to do by ultrasonography than by manual palpation. Ultrasonography is moreover a good method to study the prevalence, pathogeny and effects of cystic corpus luteum.

Still developing, aspiration of bovine oocytes using transvaginal ultrasonography is an other new application of ultrasound in bovine reproduction as ovarian cysts puncture and local injection of therapeutic agents.

5. BIBLIOGRAPHIE

- ABBITT B, BALL L, KITTO GP, SITZMAN CG, WILGENBURG B, RAIM LW, SEIDEL GE. Effect of three methods of palpation for pregnancy diagnosis per rectum on embryonic and fetal attrition in cows. *J.A.V.M.A.* 1978, **173**, 973-977.
- AL-DAHASH S.Y.A., DAVID J.S.E., Histological examination of ovaries and uteri from cows with cystic ovaries. *Vet Rec* 1977; **101**, 342-347.
- BELLING T.H. Palpating bovine ovaries: how to identify and treat the abnormal. *Vet. Med.*, 1986, **81**, 669-672.
- CALLESEN H., GREVE T., CHRISTENSEN F. Ultrasonically guided aspiration of bovine follicular oocytes. *Theriogenology*, 1987, **27**, 17, (Abstr.).
- CARNIEL P. Données de base de l'échographie. *Le point vétérinaire*, 1987, **105**, 199-212.
- DAWSON F.L.M. Accuracy of rectal palpation in the diagnosis of ovarian function in the cow. *Vet. Rec.*, 1975, **96**, 218-220.
- DONALDSON L.E., HANSEL W. Cystic corpora lutea and normal and cystic Graafian Follicles in the cow. *Austr. Vet. J.*, 1968, **44**, 304-308.
- DOWNING B. Oocyte pick-up. In: Clinical in vitro fertilization. Eds Wood C. and Trouson A. Springer Verlag, Berlin 1984, pp. 67-81.
- EDMONDSON A.J., FISSORE R.A., PASHEN R.L., BONDURANT R.N. The use of ultrasonography for the study of the bovine reproductive tract. 1. Normal and pathological ovarian structures. *Anim. Reprod. Sci.*, 1986, **12**, 157-165.
- FARIN P.W., YOUNGQUIST R.S., PARFET J.R., GARVERICK H.A. Diagnosis of luteal and follicular ovarian cysts in dairy cows by sector scan ultrasonography. *Theriogenology*, 1990, **34**, 633-642.
- FARIN P.W., YOUNGQUIST R.S., PARFET J.R., GARVERICK H.A. Diagnosis of luteal and follicular ovarian cysts by palpation per rectum and linear-array ultrasonography in dairy cows. *J.A.V.M.A.I.*, 1992, **200**, 1085-1089.
- FOOTE R.H., OLTENACU E.A.B., KUMMERFELD H.L., SMITH R.D., RIEKLAND P.M., BRAUN R.K. Milk progesterone as a diagnostic aid. *Br. Vet. J.*, 1979, **135**, 50-558.
- FOSGATE O.T., SMITH V.R. Prenatal mortality in the bovine between pregnancy diagnosis at 34-50 days post-insemination and parturition. *J. Dairy Sci.*, 1954, **32**, 1071-1073.
- HANZEN CH. Aspects épidémiologiques, cliniques, pathogéniques, hormonaux, histologiques et thérapeutiques du kyste ovarien dans l'espèce bovine. *Spectrum*, 1988, **31**, 1-8.
- HANZEN CH., LAURENT Y., JAKOVJLEVIC S. Méthodologie et applications de l'échographie bidimensionnelle à la physiopathologie de la reproduction équine. 1. L'ovaire et l'utérus non-gestant. *Ann. Méd. Vét.*, 1989a, **133**, 329-334.
- HANZEN CH., LAURENT Y., JAKOVJLEVIC S. Méthodologie et applications de l'échographie bidimensionnelle à la physiopathologie de la reproduction équine. 2. La gestation. *Ann. Méd. Vét.*, 1989b, **133**, 335-342.

- HANZEN CH., LAURENT Y., LAMBERT E., DELSAUX B., EC-TORS F. Etude épidémiologique de l'infécondité bovine. 1. Mise au point d'un programme informatisé de gestion de la reproduction. *Ann. Méd. Vét.*, 1990, **134**, 93-103.
- HANZEN CH., LAURENT Y., JAKOVJLEVIC S. Applications de l'échographie en reproduction bovine. 2. L'utérus gestant et non-gestant. *Ann. Méd. Vét.*, 1992, 137.
- HAWK H.W., WILTBANK J.N., KIDDER H.E., CASIDA L.E. Embryonic mortality between 16 and 34 days postbreeding in cows of low fertility. *J. Dairy Sc.*, 1955, **38**, 673-676.
- KAHN W., LEIDL W. Diagnosis of ovarian function in the cow by sonography. *Tierarzliche Umschau*, 1986, **41**, 3.
- KAHN W., LEIDL W. Ultrasonic characteristics of pathological conditions of the bovine uterus and ovaries. Diagnostic ultrasound and animal reproduction. M.M. Taverne and A.H. Willemse (Eds), 1989, 53-65, Kluwer Academic Publisher.
- KANEDA Y., DOMEKI I., NAKAHARA T. Effects of removal of cystic fluid from cystic corpus luteum on luteinization and conception rate in dairy heifers. *Japan. J. Anim. Reprod.*, 1980, **26**, 37-42.
- KASTELIC J.P., PIERSON R.A., GINTHER O.J. Ultrasonic morphology of corpora lutea and central luteal cavities during the estrus cycle and early pregnancy in heifers. *Theriogenology*, 1990a, **34**, 487-498.
- KASTELIC J.P., BERGFELT D.R., GINTHER O.J. Relationship between ultrasonic assessment of the corpus luteum and plasma progesterone concentration in heifers. *Theriogenology*, 1990b, **33**, 1269-1278.
- KELTON D.F. Accuracy of palpation of bovine corpora lutea. *Cornell Vet.*, 1989, **79**, 301-305.
- KITO S., OKUDA K., MIYAZAWA K., SATO K. Study of the appearance of the cavity in the corpus luteum of cows by using ultrasonic scanning. *Theriogenology*, 1986, **25**, 325-333.
- KRUIP Th.A.M., PIETERSE M.C., VAN BENEDEN TH.H., VOS P.L.A.M., WURTH Y.A., TAVERNE M.A.M. A new method for bovine embryo production: a potential alternative to superovulation. *Vet. Rec.*, 1991, **128**, 208-210.
- LAMBERT R.D., BERNARD C., RIOUX J.E., BELAND R., D'ARMOURS D., MONTREUIL A. Endoscopy in cattle by the paralumbar route: technique for ovarian examination and follicular aspiration. *Theriogenology*, 1983, **20**, 149-161.
- LAURENCIK J., PICHA J., PICOVA D., OBERFRANC M. Timing of laparoscopic aspiration of preovulatory oocytes in heifers. *Theriogenology*, 1991, **35**, 415-423.
- MARION C.B., GIER H.T., CHOUDARY J.B. Micromorphology of the bovine ovarian system. *J. Anim. Sci.*, 1968, **27**, 451-465.
- McENTEE K. Cystic corpora lutea in cattle. *Int. J. Fert.*, 1958, **3**, 120-128.
- MORROW D.A., ROBERTS S.J., McENTEE K., GRAY H.G., Postpartum ovarian activity and uterine involution in dairy cattle. *J.A.V.M.A.*, 1966, **149**, 1596-1609.
- MORTIMER R.G., OLSON J.D., HUFFMAN E.M., FARIN P.W., BALL L. ABITT B. Serum progesterone concentration in pyometric and normal postpartum dairy cows. *Theriogenology* 1983, **19**, 647-653.
- OTT R.S., BRETZLAFF K.N., HIXON J.E. Comparison of palpable corpora lutea with serum progesterone concentration in cows. *J.A.V.M.A.*, 1986, **188**, 1417-1419.
- PAISLEY L.G., MICKELSEN W.D., FROST O.L. A survey of the incidence of prenatal mortality in cattle following pregnancy diagnosis by rectal palpation. *Theriogenology*, 1978, **9**, 481-489.
- PIERSON R.A., GINTHER O.J. Ultrasonography of the bovine ovary. *Theriogenology*, 1984a, **21**, 495-504.
- PIERSON R.A., GINTHER O.J. Ultrasonography for the detection of pregnancy and study of embryonic development in heifers. *Theriogenology*, 1984b, **22**, 225-233.
- PIERSON R.A., GINTHER O.J. Ovarian follicular populations during early pregnancy in heifers. *Theriogenology*, 1986, **26**, 649-659.
- PIERSON R.A., GINTHER O.J. Reliability of diagnostic ultrasonography for identification and measurement of follicles and detecting the corpus luteum in heifers. *Theriogenology*, 1987a, **28**, 929-936.
- PIERSON R.A., GINTHER O.J. Follicular populations during the estrus cycle in heifers. 1. The influence of day. *Anim. Reprod. Sci.*, 1987b, **14**, 165-176.
- PIERSON R.A., GINTHER O.J. Follicular populations during the estrus cycle in heifers. 2. Influence of right and left sides and intraovarian effects of corpus luteum. *Anim. Reprod. Sci.*, 1987c, **14**, 1177-1186.
- PIERSON R.A., GINTHER O.J. Follicular populations during the estrus cycle in heifers. 3. Time of selection of the ovulatory follicle. *Anim. Reprod. Sci.*, 1988a, **16**, 81-95.
- PIERSON R.A., GINTHER O.J. Ultrasonic imaging of the ovaries and uterus in cattle. *Theriogenology*, 1988b, **29**, 21-37.
- PIERSON R.A., KASTELIC J.P., GINTHER O.J. Basic principles and techniques for transrectal ultrasonography in cattle and horses. *Theriogenology*, 1988, **29**, 3-20.
- PIETERSE M.C., KAPPEN K.A., KRUIP Th.A.M., TAVERNE M.A.M. Aspiration of bovine oocytes during transvaginal ultrasound scanning of the ovaries. *Theriogenology*, 1988, **30**, 751-762.
- PIETERSE M.C. Ultrasonic characteristics of physiological structures on bovine ovaries. Diagnostic ultrasound and animal reproduction. M.M. Taverne and A.H. Willemse (Eds), 1989, pp 53-65, Kluwer Academic Publisher.
- PIETERSE M.C., TAVERNE M.A.M., KRUIP Th.A.M., WILLEMSE A.H. Detection of corpora lutea and follicles in cows: A comparison of transvaginal ultrasonography and rectal palpation. *Vet. Rec.*, 1990, **126**, 552-554.
- PIETERSE M.C., VOS P.L.A.M., KRUIP Th.A.M., WURTH Y.A., VAN BENEDEN TH.H., WILLEMSE A.H., TAVERNE M.A.M. Transvaginal ultrasound guided follicular aspiration of bovine oocytes. *Theriogenology*, 1991a, **35**, 857-862.
- PIETERSE M.C., VOS P.L.A.M., KRUIP Th.A.M., WILLEMSE A.H., TAVERNE M.A.M. Characteristics of bovine estrous cycles during repeated transvaginal ultrasound guided puncturing of follicles for ovum pick-up. *Theriogenology*, 1991b, **35**, 401-413.
- QUIRK S.M., HICHEY G.J., FORTUNE J.E. Growth and regression of ovarian follicles during the follicular phase of the oestrous cycle in heifers undergoing spontaneous and PGF 2a induced luteolysis. *J. Reprod. Fert.*, 1986, **77**, 211-219.
- RYAN D.P., BLAKEWOOD E.G., SWANSON W.F., RODRIGUES H., GODKE R.A. The use of follicle stimulating hormone (FSH) to stimulate follicle development for in vitro fertilization during the first trimester of pregnancy in cattle. *Theriogenology*, 1990, **33**, 315.
- SIROIS J., FORTUNE J.E. Ovarian follicular dynamics during the oestrous cycle in heifers monitored by real-time ultrasonography. *Biol. Reprod.*, 1988, **39**, 308-317.
- SPRECHER D.J., NEBEL R.L., WHITTIER W.D. Predictive value of palpation per rectum vs milk and serum progesterone levels for the diagnosis of bovine follicular cysts and luteal cysts. *Theriogenology*, 1988, **30**, 701-709.
- SPRECHER D.J., NEBEL R.L., WHITMAN S.S. The predictive value, sensitivity and specificity of palpation per rectum and transrectal ultrasonography for the determination of bovine luteal status. *Theriogenology*, 1989, **31**, 1165-1172.
- STEVENSON J.S., CALL, E.P. Reproductive disorders in the periparturient dairy cow. *J. Dairy Sci.*, 1988, **71**, 2572-2583.
- VAILLANCOURT D., BIERSCHWAL C.J., OGWU D., ELMORE R.G., MARTIN C.E., SHARP A.J., YOUNGQUIST R.S. Correlation between pregnancy diagnosis by membrane slip and embryonic mortality. *J.A.V.M.A.* 1979, **175**, 466-468.
- VAN DER SCHANS A., VAN DER WESTERLAKEN L.A.J., DE WITT A.A.C., EYESTONE W.H., DE BOER H.A. Ultrasound guided transvaginal collection of oocytes in the cow. *Theriogenology*, 1991, **35**, 288.
- VOS P.L.A.M., PIETERSE M.C., VAN DER WEYDEN G.C., TAVERNE M.A.M. Bovine fluid collection: transvaginal, ultrasound guided puncture technique. *Vet. Rec.*, 1990, **127**, 502-504.
- WATSON E.D., MUNRO C.D. A re-assessment of the technique of rectal palpation of corpora lutea in cows. *Br. Vet. J.*, 1980, **136**, 555-560.
- ZALESKY D.D., THAYER K.M., FORREST D.W., WELSH T.H., BONDIOLI K.R., LOONEY C.R., NILL K.G. Relationships between endocrine and ultrasound evaluation of ovulation in superovulated cows. *Theriogenology*, 1986, **25**, 220.

Applications de l'échographie en reproduction bovine

1. L'examen des ovaires

Christian HANZEN¹, Yves LAURENT¹, Samy JAKOVLJEVIC²

¹ Université de Liège, Faculté de Médecine Vétérinaire
Service d'Obstétrique et des Troubles de la Reproduction
B41 Sart Tilman, B-4000 Liège

² Purdue University
School of Veterinary Medicine
Department of Veterinary Clinical Sciences
West Lafayette, IN 47907, USA

Manuscrit déposé le 09/09/1992

PLAN GENERAL

Introduction

1. Méthodologie de l'examen échographique des ovaires
2. Diagnostic des structures physiologiques et pathologiques des ovaires
 - Le follicule
 - L'ovulation
 - Le corps jaune
 - Les kystes ovariens : le kyste folliculaire, le kyste lutéal
 - Le corps jaune kystique
 - Les tumeurs ovariennes
3. Intérêt de l'échographie dans l'évaluation des structures ovariennes
4. La ponction écho-guidée des follicules ovariens

INTRODUCTION

Le vétérinaire joue un rôle prépondérant dans la gestion de la reproduction bovine et recourt pour ce faire à des moyens propédeutiques de plus en plus spécifiques. Il doit par ailleurs être capable de répondre précocément et précisément aux divers problèmes cliniques associés au suivi mensuel de la repro-

duction (Hanzen et al. 1990). La palpation du tractus génital est la méthode de diagnostic la plus couramment utilisée en reproduction bovine (Belling 1986, Dawson 1975). Cependant, elle n'est pas dépourvue de contraintes (Ott et al. 1986, Keltton 1989, Sprecher et al. 1988) ou de risques pour l'évolution ultérieure de la gestation (Fosgate et Smith 1954, Hawk et al. 1955, Vaillancourt et al. 1979, Abbitt et al. 1978, Paisley et al. 1978). Le dosage de la progesterone plasmatique constitue un test complémentaire utile pour le diagnostic de gestation (Foote et al. 1979) et l'exploration de la physiopathologie ovarienne (Sprecher et al. 1988).

L'échographie, utilisée depuis plusieurs années en reproduction équine (Hanzen et al. 1989a, 1989b), connaît un développement croissant en reproduction bovine. Plusieurs publications ont été consacrées à ses principes techniques (Carniel 1987, Pierson et al. 1988). Il nous a semblé opportun de synthétiser les différentes applications de l'échographie en reproduction bovine et d'en évaluer les possibilités futures. Ce premier article est consacré à l'examen

RESUME

Cette synthèse de la littérature est consacrée à l'examen échographique des structures ovariennes chez la bête bovine.

Les follicules sont aisément détectables par échographie, ce qui rend cette méthode idéale pour l'étude de la croissance folliculaire. Le corps jaune, dont l'aspect échographique est différent de celui des follicules, est détectable dès le lendemain des chaleurs. L'aspect échographique du corps jaune est identique chez les animaux non gestants et chez les animaux en début de gestation. Il existe un parallèle, meilleur en début qu'en fin de cycle, entre le développement lutéal évalué par échographie et la progesteronémie.

Le diagnostic différentiel des kystes folliculaires et lutéaux, peu aisé par palpation manuelle, peut être précisé par échographie. Cette dernière permet d'autre part d'étudier la prévalence, les caractéristiques et les effets des corps jaunes kystiques.

Bien qu'en cours de développement, la ponction écho-guidée des follicules ovariens est une méthode prometteuse de prélèvement des ovocytes qui ne nécessite pas de recours préalable à la superovulation. La ponction des kystes ovariens et l'injection intraovarienne de substances thérapeutiques sont également possibles grâce à l'échographie.

des ovaires. Un second article traite de l'examen échographique de l'utérus gestant et non gestant (Hanzen et al. 1992).

1. Méthodologie de l'examen échographique des ovaires

L'examen échographique des ovaires se fait habituellement par voie transrectale. Une évacuation complète du rectum est indispensable. La mobilité de l'ovaire en rend l'examen échographique plus difficile que celui de l'utérus. La sonde est habituellement maintenue au moyen du pouce, de l'index et du majeur tandis que la manipulation de l'ovaire et son maintien contre la sonde est assuré par l'annulaire et le petit doigt. La voie transvaginale a été proposée pour améliorer la visualisation des ovaires. Cette méthode suppose néanmoins des conditions sanitaires d'examen plus strictes et le recours à un guide métallique de la sonde échographique (linéaire ou, préférentiellement sectorielle) dans le vagin tandis que l'ovaire est maintenu manuellement par voie transrectale.

2. Diagnostic des structures physiologiques et pathologiques de l'ovaire

Les *follicules* sont aisément distingués par échographie (Pierson et Ginther 1984a, Pierson et Ginther 1988a, 1988b, Kahn et Leidl 1989, Pieterse 1989, Edmondson et al. 1986). Ils apparaissent comme des zones noires plus ou moins bien circonscrites, anéchogènes, de taille inférieure à 25 mm, limitées par une paroi mince. Le manque d'atténuation de l'onde ultrasonore par le liquide folliculaire est responsable de la présence d'une zone hyperéchogène de renforcement des échos à la partie ventrale du follicule. L'échographie sous-évalue de 2 à 3 mm environ le diamètre anatomique du follicule (Quirk et al. 1986) car seule la cavité folliculaire est observable de manière précise. Une étroite corrélation existe cependant entre les mesures anatomiques et échographiques des follicules de taille supérieure à 3 mm (Pierson et Ginther 1987a). Selon certains auteurs (Pier-

son et Ginther 1984a, Edmondson et al. 1986), il est possible d'observer des follicules d'un diamètre égal ou supérieur à 2 mm avec une sonde de 5 MHz alors qu'une sonde de 3.5 MHz ne permet pas de voir les follicules de taille inférieure à 6 mm. Cependant, d'autres auteurs estiment à 5 mm la limite de détection des follicules avec une sonde de 5 MHz, les follicules de taille comprises entre 2 et 4 mm pouvant aisément être confondus avec des vaisseaux sanguins (Pieterse 1989). Ceux-ci sont localisés au bord de l'ovaire, et plus particulièrement au niveau de son hile, ou autour de l'ovaire en période dioestrale. Par convention, le diamètre d'un follicule se détermine en positionnant les repères échographiques de mesure sur la paroi interne du follicule. Il s'agit donc d'une mesure de la cavité folliculaire et non du follicule lui-même. Si plusieurs follicules sont présents, leur forme irrégulière est due à une compression par les follicules ou le corps jaune adjacent ou à l'absence de mise en évidence de la paroi folliculaire (Pierson et Ginther 1984a). Dans ce dernier cas, un diamètre folliculaire moyen est calculé entre le plus petit et le plus grand diamètre (Pierson et Ginther 1988b). Les follicules peuvent être observés tout au long du cycle œstral ou lors d'un traitement de superovulation (Zalesky et al. 1986). L'échographie est une bonne méthode pour étudier la croissance folliculaire au cours du cycle ou en début de gestation (Pierson et Ginther, 1984a, 1986, 1987b, 1987c, 1988a).

L'*ovulation* est indirectement mise en évidence par la disparition du follicule préovulatoire ou la réduction brutale de son diamètre (Pierson et Ginther 1984a, 1988a).

Le *corps jaune* peut être détecté au moyen d'une sonde de 5 MHz dès le lendemain des chaleurs. Une étude récente (Kastelic et al. 1990a) a confirmé la possibilité de détecter le corps jaune dans 73 % des cas le jour de l'ovulation (JO) et dans 16 %, 5 % et 1 % des cas respectivement 1, 2 ou 3 et 4 jours après l'ovulation. C'est cependant 3 à 4 jours environ après l'ovulation qu'une structure lutéale bien distincte (corps jaune

hémorragique) est identifiée sous la forme d'une zone anéchogène renfermant quelques points plus - échogènes, bien démarquée du stroma ovarien (Pierson et Ginther 1984a, Edmondson et al. 1986, Kastelic et al. 1990a).

L'échogénicité de la structure lutéale s'intensifie au cours du dioestrus (Pieterse 1989). Le corps jaune apparaît comme une zone grise plus ou moins échogène, à l'inverse du follicule anéchogène ou du tissu ovarien plus échogène. Il n'est pas possible de préciser par échographie le stade du dioestrus auquel l'animal se trouve (Pieterse 1989). Le corps jaune cyclique est également discernable pendant sa phase de régression jusqu'en moyenne 1 à 3 jours après l'ovulation suivante (corpus albicans) (Pierson et Ginther 1984a, Kastelic et al. 1990a). L'image du corps jaune n'est pas différente chez les animaux gestants ou non gestants à ce stade du cycle.

L'échographie offre la possibilité avantageuse de pouvoir quantifier, par une mesure de surface, le développement du tissu lutéal au cours du cycle. Une étude échographique associée à l'évaluation de la progestéronémie a confirmé le parallélisme du développement lutéal et l'augmentation de la progestérone plasmatique entre les jours 2 et 8 du cycle chez la vache. En fin de cycle la régression lutéale est moins rapide que la chute de la progestérone plasmatique, la surface lutéale diminuant de 20 % par jour et la concentration de la progestérone de 28 % (Kastelic et al. 1990b). Il existe aussi une corrélation étroite et significative entre la surface de tissu lutéal et la concentration de la progestérone plasmatique dans la première moitié du cycle tant chez les animaux gestants que non-gestants ($r = 0.73$ à 0.85). Cette corrélation n'a été observée, au cours de la seconde moitié du cycle, que chez les animaux gestants ($r = 0.77$ vs 0.33) (Kastelic et al. 1990b).

Les *kystes ovariens* constituent une cause non négligeable d'infertilité chez la bête bovine (Hanzen 1988). Leur fréquence est comprise entre 3 et 29 % avec une incidence moyenne par lactation estimée à 12 % (Ste-

venson et Call 1988). La palpation manuelle des ovaires permet de considérer comme kystique tout follicule dont la taille est supérieure à 2,5 cm et/ou dont la présence peut être décelée pendant au moins une semaine (*kyste folliculaire*). La paroi de ces kystes est mince. Une étude hormonale a précisé que dans 23 % des cas, ces follicules kystiques présentent des traces de lutéinisation (*kyste folliculaire lutéinisé*) (Al Dhash et David 1977) qui contribuent à augmenter l'épaisseur de la paroi du kyste (Marion et al. 1968). Le diagnostic différentiel des kystes ovariens par palpation manuelle n'est pas aisé. Il est cependant important pour le choix d'une thérapeutique appropriée. La mise en évidence par palpation rectale (Morrow et al. 1966, Kaneda 1980) ou après prélèvement des ovaires à l'abattoir (McEntee 1958) d'une cavité centrale dans le corps jaune (*corps jaune kystique*) a été décrite chez la bête bovine. Ce type de corps jaune a été (McEntee 1958, Kaneda 1980) ou non (Morrow et al. 1966, Donaldson et Hansel 1968) rendu responsable d'infertilité.

L'échographie constitue une méthode de choix non seulement pour établir un diagnostic différentiel entre les différents types de kystes ovariens mais également pour préciser la prévalence, les caractéristiques et les effets des corps jaunes kystiques.

Le *kyste folliculaire* présente les mêmes caractéristiques échographiques que le follicule et ne s'en différencie que par l'évaluation de son diamètre. Les kystes ont un diamètre supérieur à 25 mm et une paroi dont l'épaisseur est habituellement inférieure à 5 mm. Leur configuration est sphérique, ovoïde ou polygonale en fonction des pressions relatives exercées par les kystes adjacents sur l'ovaire (Kahn et Leidl 1989). La forme sphérique est habituellement rencontrée lors de la présence d'un seul kyste. Les kystes folliculaires sont anéchogènes. Comme dans le cas des follicules, une zone hyperéchogène (artéfact de transmission) peut être observée à la partie ventrale du kyste. Le *kyste folliculaire lutéinisé* ou *kyste lutéal* possède à sa périphérie du tissu lu-

téal, d'une épaisseur de quelques mm (≤ 5 mm), entourant une cavité centrale anéchogène, d'un diamètre égal ou supérieur à 25 mm. Cette cavité est dans certains cas entrecoupée par des trabécules conjonctifs échogènes (Pieterse 1989). Des formes intermédiaires ont été signalées et sont d'un diagnostic plus difficile.

La présence d'une cavité centrale au sein du corps jaune (*corps jaune kystique*) a été identifiée par échographie dans 37 % à 79 % des cas (Kito et al. 1986, Pierson et Ginther 1987a, Kastelic et al. 1990a). Les différences observées dans la prévalence des corps jaunes kystiques peuvent être dues à la fréquence des examens échographiques réalisés ainsi qu'à la dimension des cavités centrales lutéales. L'échogénicité de cette cavité centrale est semblable à celle du follicule (Kahn et Leidl 1989). Cependant, elle est habituellement moins sphérique, plus lobulée, entourée de tissu lutéal et peut renfermer des trabécules échogènes correspondant à des amas de cellules sanguines hémolysées (Pierson et Ginther 1987a). Par contre, chez la jument, la dissection de ces cavités lutéales a permis de mettre de la fibrine en évidence. Cette différence pourrait être expliquée par une vascularisation lutéale différente chez ces deux espèces. Il y aurait perte de sang chez la jument et seulement de liquides chez la vache (Pierson et Ginther 1984b).

La cavité centrale du corps jaune a un diamètre compris entre 2 à 22 mm. Selon Kito (Kito et al. 1986) 83 %, 59 % et 24 % des cavités ont un diamètre respectivement supérieur à 6, 9 et 20 mm. Selon Kastelic (Kastelic et al. 1990a), 35 % des cavités ont un diamètre supérieur à 10 mm, 52 % d'entre elles sont comprises entre 6 et 10 mm et 13 % entre 2 et 5 mm. Cette cavité centrale peut persister ou au contraire disparaître au cours du cycle. C'est vers le 5^{ème} ou 6^{ème} jour suivant l'ovulation que son diamètre maximal peut être mesuré, et cela quelque soit sa taille. Cependant, les grandes cavités sont plus longtemps détectables que les autres et elles le restent en général jusqu'au jour précédant l'ovulation suivante. A l'in-

verse, les cavités de petite taille ou de taille moyenne régressent au bout d'une semaine environ. Chez la jument, la cavité du corps jaune est détectable moins rapidement et présente son diamètre maximal plus tardivement que chez la vache. En cas de fécondation, ces larges cavités peuvent être détectées jusqu'au 28^{ème}, voire 48^{ème} jour de gestation (Kastelic et al. 1990a, Kito et al. 1986). Chez les animaux non-gestants, la surface de tissu lutéal des corps jaunes kystiques est comparable quelque soit le diamètre de la cavité centrale. Par contre, la surface totale du corps jaune dépend de la dimension de la cavité centrale, que l'animal soit gestant ou non. La présence d'un corps jaune kystique n'influence ni le délai de retour en chaleurs, ni la progestéronémie au 10^{ème} jour du cycle, ni le pourcentage de gestation. Il n'existe pas une tendance à voir apparaître une cavité centrale d'un cycle à l'autre chez un même animal (Kito et al. 1986, Kastelic et al. 1990a). On peut donc conclure à l'absence d'effet négatif des corps jaunes kystiques sur la fertilité chez la bête bovine. A la différence des autres kystes ovariens, les corps jaunes kystiques ne résultent pas d'une absence de rupture du follicule.

Le diagnostic différentiel entre un corps jaune kystique et un kyste folliculaire lutéinisé repose sur plusieurs éléments (Kahn et Leidl 1989). La cavité du corps jaune kystique est habituellement inférieure à 25-30 mm et l'épaisseur du tissu lutéal périphérique est comprise entre 5 et 10 mm. La cavité centrale du corps jaune kystique revêt un aspect oval, à la différence de celui du kyste folliculaire lutéinisé qui est davantage sphérique. La cavité du kyste folliculaire lutéinisé comporte quant à elle beaucoup plus fréquemment des trabécules conjonctifs et la couche périphérique de tissu lutéal est plus irrégulière (Pieterse 1989). Enfin, la cavité centrale du corps jaune kystique tend à régresser à partir du 10^{ème} jour du cycle.

Les *tumeurs ovariennes* sont extrêmement rares dans l'espèce bovine. Les tumeurs de la granuleuse sont habituellement polykystiques et anéchogènes et encapsulées par du

tissu conjonctif plus échogène (Kahn et Leidl 1989).

3. Intérêt de l'échographie dans l'évaluation des structures ovariennes

L'établissement d'un diagnostic correct et le choix d'une thérapeutique appropriée dépendent notamment d'une interprétation exacte des structures ovariennes normales ou pathologiques. La détection d'un corps jaune hémorragique ou d'un corps jaune en voie de lutéolyse est difficile, que ce soit par palpation manuelle ou par échographie (Pieterse et al. 1990). La difficulté de détection du corps jaune hémorragique par palpation manuelle est imputable à sa petite dimension et à sa faible échogénicité lors de son diagnostic par échographie. En phase de régression, l'échogénicité du corps jaune est semblable à celle du stroma ovarien ce qui explique la difficulté diagnostique par échographie. Il est donc utile d'examiner également le reste du tractus génital pour préciser le diagnostic à ces stades du cycle.

Par rapport à la palpation manuelle, l'échographie constitue une méthode de diagnostic plus exacte pour confirmer la présence (degré d'exactitude : 85 à 91 % vs 73 à 88 %) ou l'absence (degré d'exactitude : 78 à 88 % vs 70 à 93 %) d'un corps jaune âgé de 5 à 16 jours (Pieterse et al. 1990, Sprecher et al. 1989, Watson et Munro 1980, Ott et al. 1986). L'une et l'autre méthodes permettent de confirmer la présence d'un corps jaune fonctionnel mieux que son absence.

Il existe une corrélation ($r = 0.68$) entre la taille du corps jaune évaluée par échographie et la progestéronémie (Sprecher et al. 1989). Une structure lutéale d'un diamètre supérieur à 11 mm s'accompagne d'une progestéronémie supérieure à 5 ng/ml. Une telle corrélation n'a pas été décrite pour la palpation manuelle (Watson et Munro 1980, Mortimer et al. 1983).

Bien qu'il soit possible, de diagnostiquer par échographie (sonde de 5 ou 7,5 MHz) les follicules de taille

inférieure à 5 mm, cette technique ne permet de dénombrer que 34 % des follicules ovariens de diamètre compris entre 5 et 10 mm. Une amélioration de cette détermination peut être obtenue par l'utilisation d'une sonde de 7.5 MHz ou par l'analyse d'enregistrements vidéos (Quirk et al. 1986, Sirois et Fortune 1988). Certains auteurs ont obtenu une corrélation comprise entre 80 et 97 % entre les dimensions mesurées au moyen d'une sonde de 5 MHz et celles mesurées au microscope (Pierson et Ginther 1987a). Comparée à la palpation manuelle, l'échographie est significativement plus performante pour la détection des follicules de diamètre supérieur à 10 mm, puisque ces derniers ont été diagnostiqués dans 96 % des cas par échographie et dans 72 % des cas par la palpation manuelle (Pieterse et al. 1990, Kahn et Leidl 1986).

L'examen échographique permet de faire de manière plus précise que l'examen par palpation manuelle le diagnostic des kystes ovariens qu'ils soient de nature folliculaire ou lutéale (Sprecher et al. 1988, Farin et al. 1990, 1992). Comparée à la palpation manuelle (sensibilité 50 % et spécificité 62 %; Sprecher et al. 1988), l'échographie permet de détecter de manière plus exacte les kystes lutéaux que les kystes folliculaires (sensibilité 92 %, spécificité 70 %; Farin et al. 1990).

4. La ponction écho-guidée des follicules ovariens

Dans l'espèce bovine, la fécondation in vitro d'ovocytes prélevés in vivo au cours du cycle sexuel et leur transfert après maturation constitue une alternative intéressante à la production d'embryons. Un tel prélèvement peut être opéré par laparotomie, par laparoscopie (Lambert et al. 1983, Laurencik et al. 1991) ou par ponction écho-guidée au travers de la fosse ischio-anale (Callesen et al. 1987).

Récemment, la ponction écho-guidée par voie transvaginale a été expérimentée dans l'espèce bovine. Les ovaires sont visualisés au moyen d'une sonde sectorielle de 5 MHz (Pieterse et al. 1988) ou de 7.5 MHz

(Pieterse et al. 1991a, 1991b, Van der Schans et al. 1991). La manipulation de la sonde vaginale est assurée par un guide métallique. Ce dernier permet également le passage d'une aiguille de ponction de diamètre externe compris entre 0.8 et 1.2 mm et de diamètre interne compris entre 0.6 et 0.8 mm. Les ovaires sont manipulés par voie transrectale. L'aiguille de ponction est reliée à un système d'aspiration. Par rapport au nombre de follicules ponctionnés, le pourcentage d'ovocytes ainsi récoltés est selon les auteurs de 27 (Pieterse et al. 1988), 42 (Van der Schans et al. 1991), 52 (Pieterse et al. 1991b) voire 55 % (Pieterse et al. 1991a). Un tel pourcentage est inférieur aux résultats obtenus par endoscopie (58 à 88 %) (Lambert et al. 1983, Laurencik et al. 1991) mais comparable à ceux obtenus par la voie sacrosciatique (42 %) (Callesen et al. 1987).

La fréquence de ponction hebdomadaire n'influence ni le nombre de follicules potentiellement ponctionnables, ni le pourcentage de récupération des ovocytes (Van der Schans et al. 1991). En utilisant une sonde de 7.5 MHz, il apparaît que le pourcentage de récupération diminue lorsque la taille du follicule ponctionné augmente (Pieterse et al. 1991a, 1991b). Ainsi, selon certains auteurs 92 % des ovocytes obtenus proviennent de follicules de diamètre compris entre 2 et 5 mm (Van der Schans et al. 1991). L'observation inverse a été rapportée avec l'utilisation d'une sonde de 5 MHz (Pieterse et al. 1988). Le nombre de follicules ponctionnables dépend du stade du cycle et est plus élevé au début (J3-J4) qu'au milieu (J9-J10) ou qu'en fin de cycle (J15-J16). Une stimulation ovarienne préalable contribue à augmenter le pourcentage de récupération des ovocytes (Pieterse et al. 1988). D'autres facteurs, tels que la réalisation simultanée ou non d'un flushing de la cavité folliculaire (Downing 1984), le diamètre et le degré de biseautage de l'aiguille et la pression d'aspiration (Pieterse et al. 1988), influencent aussi le pourcentage de récupération des ovocytes.

La ponction écho-guidée des follicules permet d'effectuer en moyenne trois prélèvements au cours d'un cycle de 21 jours et de ponctionner ainsi environ 13 follicules par cycle (Pieterse et al. 1991a). Effectuées à ce rythme pendant plusieurs mois, ces ponctions n'induisent ni traumatismes sévères des ovaires ou de l'utérus, ni interférence avec la cyclicité de l'animal (Pieterse et al. 1991b).

Les possibilités d'application de la ponction écho-guidée des follicules ovariens dans le cadre de la production d'embryons a fait l'objet d'une publication récente (Kruip et al. 1991). Quoique des mises au point

complémentaires soient encore nécessaires, cette méthode a permis l'obtention de 9 % d'embryons transférables par rapport au nombre de follicules ponctionnés. Cette technique offre l'avantage de pouvoir être réalisée sans traitement de superovulation préalable. Elle est également applicable à des animaux gestants (Ryan et al. 1990) et constitue une méthode intéressante pour le prélèvement de liquides fœtaux (Vos et al. 1990), la ponction des kystes ovariens, l'injection in situ (ovaire, utérus) de substances thérapeutiques. Elle peut aussi servir à mettre en évidence l'effet du stade du cycle sur la qualité des ovocytes prélevés.

SUMMARY

Clinical use of ultrasonography in bovine reproduction. 1. Ovarian diagnosis

This review is devoted to the clinical examination of ovarian structures in the bovine.

Follicles are easy to distinguish using ultrasonography. In contrast to the liquid-filled follicles, corpus luteum have a granular echogenic structure and can be detected the day after oestrus. The echogenic structure of the corpus luteum is similar in pregnant and non-pregnant animals. The development of corpus luteum evaluated by ultrasonography is correlated with peripheral progesterone levels.

The differential diagnosis between follicular and luteinized follicular cysts is easier to do by ultrasonography than by manual palpation. Ultrasonography is moreover a good method to study the prevalence, pathogeny and effects of cystic corpus luteum.

Still developing, aspiration of bovine oocytes using transvaginal ultrasonography is an other new application of ultrasound in bovine reproduction as ovarian cysts puncture and local injection of therapeutic agents.

5. BIBLIOGRAPHIE

- ABBITT B, BALL L, KITTO GP, SITZMAN CG, WILGENBURG B, RAIM LW, SEIDEL GE. Effect of three methods of palpation for pregnancy diagnosis per rectum on embryonic and fetal attrition in cows. *J.A.V.M.A.* 1978, **173**, 973-977.
- AL-DAHASH S.Y.A., DAVID J.S.E., Histological examination of ovaries and uteri from cows with cystic ovaries. *Vet Rec* 1977; **101**, 342-347.
- BELLING T.H. Palpating bovine ovaries: how to identify and treat the abnormal. *Vet. Med.*, 1986, **81**, 669-672.
- CALLESEN H., GREVE T., CHRISTENSEN F. Ultrasonically guided aspiration of bovine follicular oocytes. *Theriogenology*, 1987, **27**, 17, (Abstr.).
- CARNIEL P. Données de base de l'échographie. *Le point vétérinaire*, 1987, **105**, 199-212.
- DAWSON F.L.M. Accuracy of rectal palpation in the diagnosis of ovarian function in the cow. *Vet. Rec.*, 1975, **96**, 218-220.
- DONALDSON L.E., HANSEL W. Cystic corpora lutea and normal and cystic Graafian Follicles in the cow. *Austr. Vet. J.*, 1968, **44**, 304-308.
- DOWNING B. Oocyte pick-up. In: Clinical in vitro fertilization. Eds Wood C. and Trouson A. Springer Verlag, Berlin 1984, pp. 67-81.
- EDMONDSON A.J., FISSORE R.A., PASHEN R.L., BONDURANT R.N. The use of ultrasonography for the study of the bovine reproductive tract. 1. Normal and pathological ovarian structures. *Anim. Reprod. Sci.*, 1986, **12**, 157-165.
- FARIN P.W., YOUNGQUIST R.S., PARFET J.R., GARVERICK H.A. Diagnosis of luteal and follicular ovarian cysts in dairy cows by sector scan ultrasonography. *Theriogenology*, 1990, **34**, 633-642.
- FARIN P.W., YOUNGQUIST R.S., PARFET J.R., GARVERICK H.A. Diagnosis of luteal and follicular ovarian cysts by palpation per rectum and linear-array ultrasonography in dairy cows. *J.A.V.M.A.*, 1992, **200**, 1085-1089.
- FOOTE R.H., OLTENACU E.A.B., KUMMERFELD H.L., SMITH R.D., RIEKLAND P.M., BRAUN R.K. Milk progesterone as a diagnostic aid. *Br. Vet. J.*, 1979, **135**, 50-558.
- FOSGATE O.T., SMITH V.R. Prenatal mortality in the bovine between pregnancy diagnosis at 34-50 days post-insemination and parturition. *J. Dairy Sci.*, 1954, **32**, 1071-1073.
- HANZEN CH. Aspects épidémiologiques, cliniques, pathogéniques, hormonaux, histologiques et thérapeutiques du kyste ovarien dans l'espèce bovine. *Spectrum*, 1988, **31**, 1-8.
- HANZEN CH., LAURENT Y., JAKOVJLEVIC S. Méthodologie et applications de l'échographie bidimensionnelle à la physiopathologie de la reproduction équine. 1. L'ovaire et l'utérus non-gestant. *Ann. Méd. Vét.*, 1989a, **133**, 329-334.
- HANZEN CH., LAURENT Y., JAKOVJLEVIC S. Méthodologie et applications de l'échographie bidimensionnelle à la physiopathologie de la reproduction équine. 2. La gestation. *Ann. Méd. Vét.*, 1989b, **133**, 335-342.

- HANZEN CH., LAURENT Y., LAMBERT E., DELSAUX B., EC-TORS F. Etude épidémiologique de l'infécondité bovine. 1. Mise au point d'un programme informatisé de gestion de la reproduction. *Ann. Méd. Vét.*, 1990, **134**, 93-103.
- HANZEN CH., LAURENT Y., JAKOVJLEVIC S. Applications de l'échographie en reproduction bovine. 2. L'utérus gestant et non-gestant. *Ann. Méd. Vét.*, 1992, 137.
- HAWK H.W., WILTBANK J.N., KIDDER H.E., CASIDA L.E. Embryonic mortality between 16 and 34 days postbreeding in cows of low fertility. *J. Dairy Sc.*, 1955, **38**, 673-676.
- KAHN W., LEIDL W. Diagnosis of ovarian function in the cow by sonography. *Tierarzliche Umschau*, 1986, **41**, 3.
- KAHN W., LEIDL W. Ultrasonic characteristics of pathological conditions of the bovine uterus and ovaries. Diagnostic ultrasound and animal reproduction. M.M. Taverne and A.H. Willemse (Eds), 1989, 53- 65, Kluwer Academic Publisher.
- KANEDA Y., DOMEKI I., NAKAHARA T. Effects of removal of cystic fluid from cystic corpus luteum on luteinization and conception rate in dairy heifers. *Japan. J. Anim. Reprod.*, 1980, **26**, 37-42.
- KASTELIC J.P., PIERSON R.A., GINTHER O.J. Ultrasonic morphology of corpora lutea and central luteal cavities during the estrous cycle and early pregnancy in heifers. *Theriogenology*, 1990a, **34**, 487-498.
- KASTELIC J.P., BERGFELT D.R., GINTHER O.J. Relationship between ultrasonic assessment of the corpus luteum and plasma progesterone concentration in heifers. *Theriogenology*, 1990b, **33**, 1269-1278.
- KELTON D.F. Accuracy of palpation of bovine corpora lutea. *Cornell Vet.*, 1989, **79**, 301-305.
- KITO S., OKUDA K., MIYAZAWA K., SATO K. Study of the appearance of the cavity in the corpus luteum of cows by using ultrasonic scanning. *Theriogenology*, 1986, **25**, 325-333.
- KRUIP Th.A.M., PIETERSE M.C., VAN BENEDEN TH.H., VOS P.L.A.M., WURTH Y.A., TAVERNE M.A.M. A new method for bovine embryo production: a potential alternative to superovulation. *Vet. Rec.*, 1991, **128**, 208-210.
- LAMBERT R.D., BERNARD C., RIOUX J.E., BELAND R., D'ARMOURS D., MONTREUIL A. Endoscopy in cattle by the paralumbar route: technique for ovarian examination and follicular aspiration. *Theriogenology*, 1983, **20**, 149-161.
- LAURENCIK J., PICHA J., PICOVA D., OBERFRANC M. Timing of laparoscopic aspiration of preovulatory oocytes in heifers. *Theriogenology*, 1991, **35**, 415-423.
- MARION C.B., GIER H.T., CHOUDARY J.B. Micromorphology of the bovine ovarian system. *J. Anim. Sci.*, 1968, **27**, 451-465.
- McENTEE K. Cystic corpora lutea in cattle. *Int. J. Fert.*, 1958, **3**, 120-128.
- MORROW D.A., ROBERTS S.J., McENTEE K., GRAY H.G., Postpartum ovarian activity and uterine involution in dairy cattle. *J.A.V.M.A.*, 1966, **149**, 1596-1609.
- MORTIMER R.G., OLSON J.D., HUFFMAN E.M., FARIN P.W., BALL L. ABITT B. Serum progesterone concentration in pyometric and normal postpartum dairy cows. *Theriogenology* 1983, **19**, 647-653.
- OTT R.S., BRETZLAFF K.N., HIXON J.E. Comparison of palpable corpora lutea with serum progesterone concentration in cows. *J.A.V.M.A.*, 1986, **188**, 1417-1419.
- PAISLEY L.G., MICKELSEN W.D., FROST O.L. A survey of the incidence of prenatal mortality in cattle following pregnancy diagnosis by rectal palpation. *Theriogenology*, 1978, **9**, 481- 489.
- PIERSON R.A., GINTHER O.J. Ultrasonography of the bovine ovary. *Theriogenology*, 1984a, **21**, 495-504.
- PIERSON R.A., GINTHER O.J. Ultrasonography for the detection of pregnancy and study of embryonic development in heifers. *Theriogenology*, 1984b, **22**, 225-233.
- PIERSON R.A., GINTHER O.J. Ovarian follicular populations during early pregnancy in heifers. *Theriogenology*, 1986, **26**, 649-659.
- PIERSON R.A., GINTHER O.J. Reliability of diagnostic ultrasonography for identification and measurement of follicles and detecting the corpus luteum in heifers. *Theriogenology*, 1987a, **28**, 929-936.
- PIERSON R.A., GINTHER O.J. Follicular populations during the estrus cycle in heifers. 1. The influence of day. *Anim. Reprod. Sci.*, 1987b, **14**, 165-176.
- PIERSON R.A., GINTHER O.J. Follicular populations during the estrus cycle in heifers. 2. Influence of right and left sides and intraovarian effects of corpus luteum. *Anim. Reprod. Sci.*, 1987c, **14**, 1177-1186.
- PIERSON R.A., GINTHER O.J. Follicular populations during the estrus cycle in heifers. 3. Time of selection of the ovulatory follicle. *Anim. Reprod. Sci.*, 1988a, **16**, 81-95.
- PIERSON R.A., GINTHER O.J. Ultrasonic imaging of the ovaries and uterus in cattle. *Theriogenology*, 1988b, **29**, 21- 37.
- PIERSON R.A., KASTELIC J.P., GINTHER O.J. Basic principles and techniques for transrectal ultrasonography in cattle and horses. *Theriogenology*, 1988, **29**, 3-20.
- PIETERSE M.C., KAPPEN K.A., KRUIP Th.A.M., TAVERNE M.A.M. Aspiration of bovine oocytes during transvaginal ultrasound scanning of the ovaries. *Theriogenology*, 1988, **30**, 751- 762.
- PIETERSE M.C. Ultrasonic characteristics of physiological structures on bovine ovaries. Diagnostic ultrasound and animal reproduction. M.M. Taverne and A.H. Willemse (Eds), 1989, pp 53-65, Kluwer Academic Publisher.
- PIETERSE M.C., TAVERNE M.A.M., KRUIP Th.A.M., WILLEMSE A.H. Detection of corpora lutea and follicles in cows: A comparison of transvaginal ultrasonography and rectal palpation. *Vet. Rec.*, 1990, **126**, 552-554.
- PIETERSE M.C., VOS P.L.A.M., KRUIP Th.A.M., WURTH Y.A., VAN BENEDEN TH.H., WILLEMSE A.H., TAVERNE M.A.M. Transvaginal ultrasound guided follicular aspiration of bovine oocytes. *Theriogenology*, 1991a, **35**, 857-862.
- PIETERSE M.C., VOS P.L.A.M., KRUIP Th.A.M., WILLEMSE A.H., TAVERNE M.A.M. Characteristics of bovine estrous cycles during repeated transvaginal ultrasound guided puncturing of follicles for ovum pick- up. *Theriogenology*, 1991b, **35**, 401-413.
- QUIRK S.M., HICHEY G.J., FORTUNE J.E. Growth and regression of ovarian follicles during the follicular phase of the oestrous cycle in heifers undergoing spontaneous and PGF 2a induced luteolysis. *J. Reprod. Fert.*, 1986, **77**, 211-219.
- RYAN D.P., BLAKEWOOD E.G., SWANSON W.F., RODRIGUES H., GODKE R.A. The use of follicle stimulating hormone (FSH) to stimulate follicle development for in vitro fertilization during the first trimester of pregnancy in cattle. *Theriogenology*, 1990, **33**, 315.
- SIROIS J., FORTUNE J.E. Ovarian follicular dynamics during the oestrous cycle in heifers monitored by real-time ultrasonography. *Biol. Reprod.*, 1988, **39**, 308-317.
- SPRECHER D.J., NEBEL R.L., WHITTIER W.D. Predictive value of palpation per rectum vs milk and serum progesterone levels for the diagnosis of bovine follicular cysts and luteal cysts. *Theriogenology*, 1988, **30**, 701-709.
- SPRECHER D.J., NEBEL R.L., WHITMAN S.S. The predictive value, sensitivity and specificity of palpation per rectum and transrectal ultrasonography for the determination of bovine luteal status. *Theriogenology*, 1989, **31**, 1165-1172.
- STEVENSON J.S., CALL, E.P. Reproductive disorders in the periparturient dairy cow. *J. Dairy Sci.*, 1988, **71**, 2572-2583.
- VAILLANCOURT D., BIRSCHWAL C.J., OGWU D., ELMORE R.G., MARTIN C.E., SHARP A.J., YOUNGQUIST R.S. Correlation between pregnancy diagnosis by membrane slip and embryonic mortality. *J.A.V.M.A.* 1979, **175**, 466-468.
- VAN DER SCHANS A., VAN DER WESTERLAKEN L.A.J., DE WITT A.A.C., EYESTONE W.H., DE BOER H.A. Ultrasound guided transvaginal collection of oocytes in the cow. *Theriogenology*, 1991, **35**, 288.
- VOS P.L.A.M., PIETERSE M.C., VAN DER WEYDEN G.C., TAVERNE M.A.M. Bovine fluid collection: transvaginal, ultrasound guided puncture technique. *Vet. Rec.*, 1990, **127**, 502-504.
- WATSON E.D., MUNRO C.D. A re-assessment of the technique of rectal palpation of corpora lutea in cows. *Br. Vet. J.*, 1980, **136**, 555-560.
- ZALESKY D.D., THAYER K.M., FORREST D.W., WELSH T.H., BONDIOLI K.R., LOONEY C.R., NILL K.G. Relationships between endocrine and ultrasound evaluation of ovulation in superovulated cows. *Theriogenology*, 1986, **25**, 220.