

## Ultraschallanwendung bei landwirtschaftlichen Nutztieren im Rahmen biotechnologischer Verfahren

DETLEF RATH und DIEDRICH SMIDT

Institut für Tierzucht und Tierverhalten

Die Ultraschalluntersuchung hat sich seit vielen Jahren in der Tierzucht im Rahmen der Leistungsprüfung bei Schwein und Geflügel als aussagefähiges, nicht invasives Untersuchungsverfahren ebenso bewährt wie in der medizinischen Diagnostik. Seit ca. 10 Jahren hat die Sonographie Eingang in veterinärmedizinische Untersuchungsbereiche gefunden. Bei der Anwendung am Tier standen zunächst die Darstellung der weiblichen Reproduktionsorgane, vornehmlich zur Trächtigkeitsdiagnose, im Vordergrund der Untersuchungen. In zunehmendem Maß werden innere Organe und der Bewegungsapparat dieser Technik zugänglich gemacht.

### Prinzip:

Die Sonographie nutzt die akustischen Eigenschaften der verschiedenen Gewebearten gegenüber kurzwelligen Schallwellen. Für die Erzeugung solcher hochfrequenten Schallwellen, die für die Diagnostik zwischen 2 und 10 MHz liegen, wird der sog. "piezoelektrische Effekt" genutzt. Unter Einfluß eines sich ändernden elektrischen Feldes kontrahieren und dehnen sich piezoelektrische Kristalle in Abhängigkeit von der wechselnden Polarität. Der so zu Schwingungen angeregte Kristall emittiert dadurch Schallwellen. Der Effekt ist umkehrbar, mechanische Schwingungen verändern die Gitterstruktur der Kristalle und zwingen diese Elektronen freizusetzen.

Gegenüber niederfrequenten, langwelligen Schallwellen ändert hochfrequenter Schall seine Brechungseigenschaften an Grenzflächen und zeigt ähnliche Verhaltensweisen wie Licht. Treffen kurzwellige Schallwellen auf Gewebestrukturen, so werden sie reflektiert, gebrochen, absorbiert oder passieren das Gewebe m.o.w. ungehindert. Nur die reflektierten Energiemengen können zur piezoelektrischen Impulsumwandlung verwendet werden. Bildgebende Ultraschallgeräte arbeiten nach dem Impuls-Echo-Verfahren, d.h. nach Aussendung hochfrequenter Schallwellen werden die von den Organen reflektierten Energiemengen wieder aufgefangen. Die Relation Impulsdauer zu Impulsintervall beträgt etwa 1:1000. Hierdurch wird eine Erwärmung des beschallten Gewebes weitgehend vermieden. Nach

entsprechender Signalverstärkung (Abb.1) lassen sich aus den Einzelimpulsen komplette Schallbilder auf einem Monitor sichtbar machen.

Die Schallreflexion hängt in erster Linie von der akustischen Impedanz des untersuchten Organes ab. Beispielsweise lassen Flüssigkeiten Schallwellen nahezu ungehindert durch,

Abbildung 1: Schematischer Aufbau eines Sonographiesystems

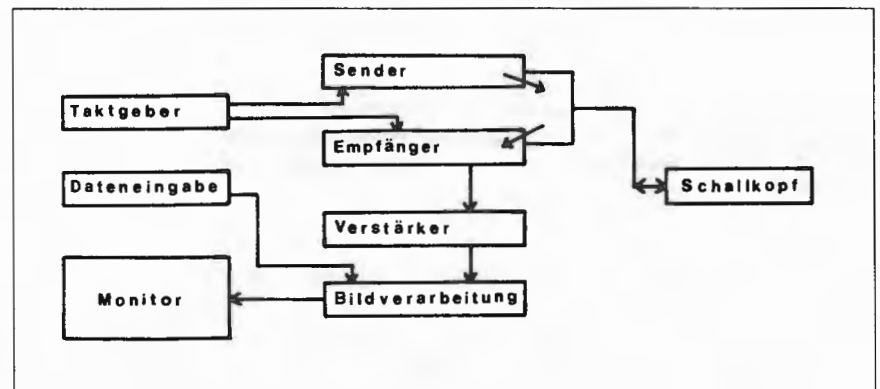


Abbildung 2: Sektor und Linearschallkopf

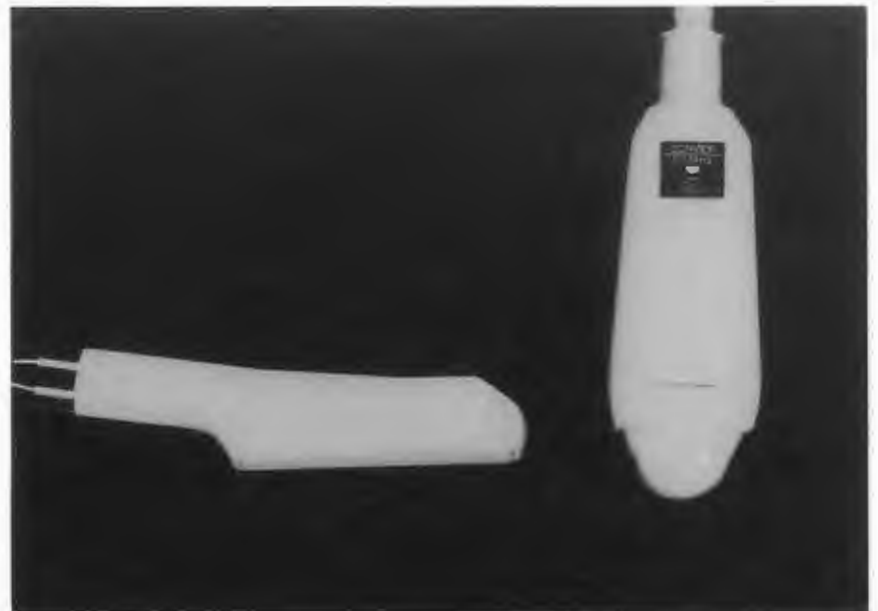


Abbildung 3a: Trächtigkeit beim Schwein, Tag 21



entsprechend ist der dazugehörige Abbildungspunkt auf dem Monitor dunkel, echoreiche Gewebeteile werden dagegen weiß bis hellgrau dargestellt. Allerdings impliziert "echofrei" nicht immer das Vorhandensein von Flüssigkeit. Besonders

Abbildung 3b: Trächtigkeit beim Hund, Tag 27

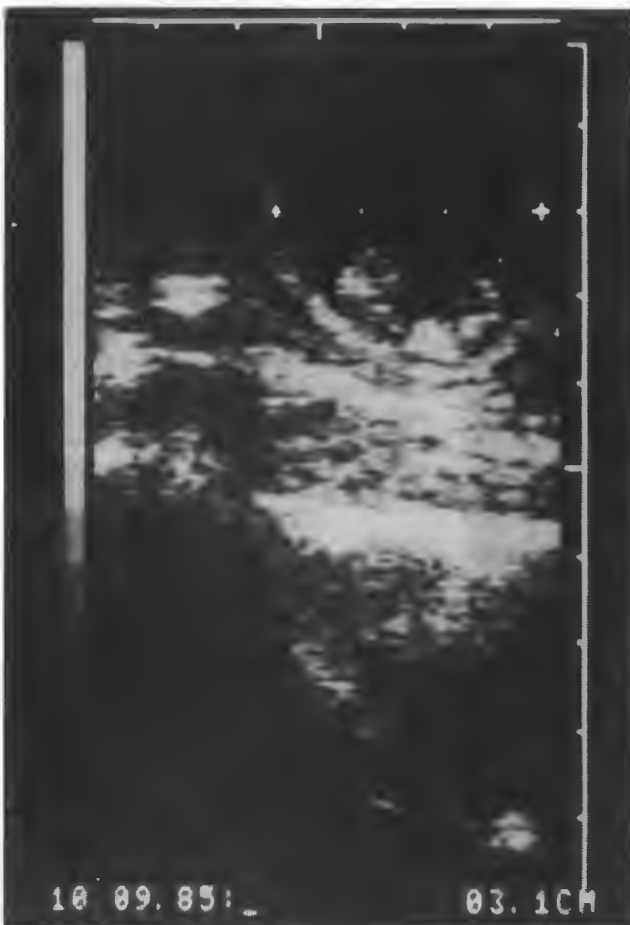


Abbildung 3c: Trächtigkeit bei einer Stute, Tag 32



entartetes Gewebe hat z.T. wenig reflektierende Eigenschaften und wird auch dunkel abgebildet. Wichtig ist die Bildinterpretation, die genaue anatomische Kenntnisse voraussetzt.

Die Bildpräsentation erfolgt entweder eindimensional (A-Mode Verfahren) und registriert die Reflexion als Amplitudenpeaks oder bildet die beschallten Organe zwei dimensional ab (B-Mode Verfahren). Ähnlich arbeitet das M-Mode Verfahren, bei dem eine zeitliche Dehnung der Bildinformation erfolgt. Die primäre Bildqualität wird durch die erreichbare Auflösung bestimmt. Sie verbessert sich mit steigender Schallfrequenz allerdings zu Ungunsten des Eindringvermögens.

Für die im B-Mode System arbeitenden Real time Scanner, die auch die Darstellung von Bewegungsabläufen zulassen, werden diverse Schallkopfsysteme (Abb.2) angeboten. Typische Abtaster sind Sektorschallkopf und Linearschallkopf. Daneben werden Spezialköpfe gefertigt. Alle vereinigen eine spezifische Zahl von Piezokristallen und dienen als Schallwellen-"sender" und "empfänger".

Abbildung 3d: Trächtigkeit beim Rind, Tag 42

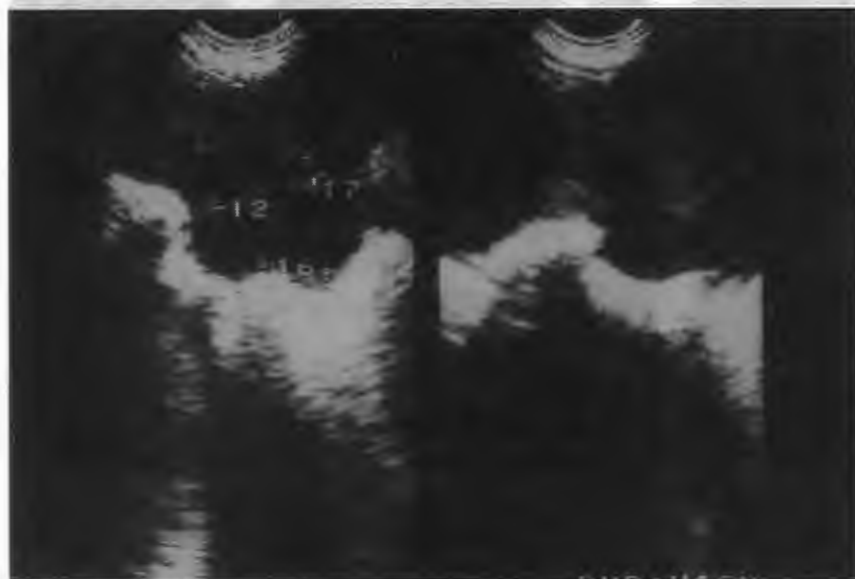


Das aktuelle Bild kann auf dem Monitor "eingefroren" werden und Maßeinrichtungen zur Strecken-, Flächen- und Volumenmessung lassen sich einblenden. Die Dokumentation als Hard copy ist über einen Videoausgang gewährleistet. Hieran lassen sich Videoprinter, Polaroidkamera und Videorecorder anschließen.

#### Anwendungsbereich Fortpflanzungsbiologie:

Die moderne Tierzucht erfordert eine immer genauere Vorhersage der Fruchtbarkeitsaussichten bei männlichen und weiblichen Zuchttieren. Die Sonographie ist hierzu in vieler Hinsicht ein probates Mittel, um ohne chirurgischen Eingriff eine Aussage über Zustand und Funktion der Genitalorgane zu treffen. Im Gegensatz zu röntgenologischen Verfahren ist

Abbildung 4: Follikel kurz vor der Ovulation, Schwein



eine Organbelastung bei Anwendung des Impuls-Echoverfahrens, soweit bekannt, auszuschließen.

Zur Untersuchung der weiblichen Geschlechtsorgane wird der Schallkopf entweder auf die äußere Haut im Bereich der zu untersuchenden Organe aufgesetzt (transkutane Untersuchung, möglich bei Kleintieren, Schaf, Ziege und Schwein) oder wird rektal eingeführt (Rind, Pferd, Schwein). Gleiches gilt für die Untersuchung der männlichen Geschlechtsorgane, wobei Hodensack und dessen Inhalt transkutan, die akzessorischen Geschlechtsdrüsen von rektal aus dargestellt werden.

#### Uterus:

Je nach Funktionszustand des Uterus ist dessen Inhalt darstellbar. Neben der Feststellung pathologischen Inhaltes (Endometritis, Zysten) wird der Trächtigkeitsdiagnose (Abb. 3) besondere Bedeutung zugemessen. Speziesabhängig sind erste Anzeichen für das Vorliegen einer Trächtigkeit schon frühzeitig, häufig vor dem palpatorisch zu erhebenden Befund erkennbar. (Pfd. Tag 10; Rind Tag 23; Schw. Tag 18; Schaf Tag 28; Hund Tag 18). Wichtiges Merkmal der Fötaldarstellung ist die Erkennung der Herzbewegung, die eine Aussage über die lebende Frucht zulässt. Beim Rind ist außerdem ab 100. Trächtigkeitstag eine Geschlechtsdifferenzierung der Föten beschrieben worden. Die frühzeitige Trächtigkeitserkennung hat therapeutische und ökonomische Relevanz. So sind Mehrlingsträchtigkeiten wesentlich früher als bisher erkennbar und erlauben durch gezielte Maßnahmen die Reduzierung zur Einlingsgravidität, was in der Pferdezucht wünschenswert ist, und zu ca. 60 % Aussicht auf Erfolg hat. Bei anderen Spezies kann die Früherkennung im Zusammenhang mit Embryotransferprogrammen vorteilhaft genutzt werden. Bei den Empfängertieren wird nach erfolglosem Transfer eher als bisher durch Prostaglandingaben eine Rückführung in den normalen Zyklus induziert. In wissenschaftlichen Experimenten ist es von Vorteil Graviditätsnachweise möglichst frühzeitig zu erhalten und somit den Anteil der embryonalen Resorption als Unsicherheitsfaktor in der Versuchsaussage zu minimieren. Die Sonographie ist sehr gut geeignet, um das Fruchtwachstum zu verfolgen und entsprechend zu dokumentieren.

Bei den Empfängertieren wird nach erfolglosem Transfer eher als bisher durch Prostaglandingaben eine Rückführung in den normalen Zyklus induziert. In wissenschaftlichen Experimenten ist es von Vorteil Graviditätsnachweise möglichst frühzeitig zu erhalten und somit den Anteil der embryonalen Resorption als Unsicherheitsfaktor in der Versuchsaussage zu minimieren. Die Sonographie ist sehr gut geeignet, um das Fruchtwachstum zu verfolgen und entsprechend zu dokumentieren.

#### Ovar:

Die Untersuchung des Ovars beinhaltet die Diagnose der Funktionskörper und damit des Zyklusstandes. Erkennbar sind Größe, Lage, Füllungszustand und Wandbeschaffenheit wachsender Follikel, Gelbkörper und zystischer Gebilde (Abb.4). Hieraus lassen sich einerseits notwendige therapeutische Maßnahmen ableiten, Aussagen über Stimulationsprogramme im Rahmen des Embryotransfers und der damit assoziierten Biotechniken gewinnen und als spezieller Anwendungsbereich Vorbereitungen zur

Eizellgewinnung für in vitro Befruchtungsverfahren durchführen.

#### **Männliche Genitalorgane:**

Die morphologische Untersuchung männlicher Geschlechtsorgane beruht bislang auf der adspektorischen und palpatorischen Befunderhebung. Aussagen über Gewebshistologie in vivo stellen den Ausnahmefall dar, da die hierzu erforderliche Biopsie möglicherweise zu irreversiblen Schädigungen des Hodenparenchyms führt. Die Ultraschalltechnik ermöglicht es "in die Genitalorgane hineinzusehen" und Strukturen sichtbar zu machen, die bei Anwendung computergesteuerter Echographiegeräte fast bis an histologische Übersichtspräparate heranreichen. Besonders hilfreich neben der Darstellung des Hodensackes mit seinem Inhalt ist die Untersuchung der akzessorischen Geschlechtsdrüsen, die nicht selten Ursache von Funktionsstörungen sind (Abb.5). Bei der klinischen Untersuchung waren sie bislang lediglich palpatorisch abzugrenzen, entsprechend spät wurden Veränderungen diagnostiziert. Mittels Ultraschall lassen sich pathologische Veränderungen wie z.B. Skrotalhämatome, Hydrozelen, Urinextravasationen, Hodenatrophie, Torsionen, Tumore, Kalzifikationen (Abb.6), Entzündungsprozesse u.a. feststellen und erlauben eine gezielte Therapie.

#### **Anwendungsbereiche der Ultraschalltechnik im Institut für Tierzucht und Tierverhalten:**

Seit einem Jahr steht dem Institut ein Ultraschallgerät der Firma Picker (Picker CS 9000) zur Verfügung. Im Mittelpunkt der Versuche steht die Entwicklung einer Ultraschallmethode

Abbildung 5: **Samenblasendrüse, Bulle**



zur Gewinnung von Eizellen auf nicht chirurgischem Weg bei Rind und Schwein. In der Humanmedizin ist die sonographisch geleitete Follikelpunktion seit Jahren Methode der Wahl. In vitro Fertilisationsprogramme bei Rind und Schwein greifen z.Zt. auf Schlachtorgane zurück, bzw. fordern die Gewinnung auf chirurgischem Weg. Damit scheidet Hochleistungstiere, die für solche Programme besonders interessant wären, für die Eizellgewinnung aus. Eine Arbeitsgruppe hat bereits gezeigt, daß die Sonographie eine einfache Eizellgewinnung möglich macht. Im Institut mußte zunächst ein spezieller Schallkopf entwickelt werden (Abb.7). Auf der Basis einer "Finger-Tip Sonde" wurde ein Spekulum gebaut, das vaginal bis in den Bereich des Muttermundes vorgeschoben wird. Innerhalb des Schallkopfträgers befindet sich ein Punktionskanal, der kurz vor der Schallkopfebene endet und die Punktionskanüle aufnimmt. Auf dem Monitorbild wird eine Führungslinie eingeblendet, die Spitze der Punktionsnadel ist ebenfalls sichtbar. Nachdem die Sonde vaginal positioniert wurde, führt der Untersucher von rektal aus das entsprechende Ovar in den Bereich des Schallfeldes und versucht die eingeblendete Führungslinie und den zu punktierenden Follikel zur Deckung zu bringen. Die Punktionsnadel wird durch die Vaginalwand bis zum Follikel vorgeschoben und eingestochen. Durch Absaugen und wiederholtes Spülen lassen sich die Eizellen aus den Follikel gewinnen. Die Punktion kann mehrmals ohne Schäden für das Spendertier wiederholt werden. Die bei operativer Gewinnung häufig auftretenden Organverklebungen und -verwachsungen, die eine weitere Fortpflanzungsfähigkeit einschränken oder verhindern, sind nach niederländischen Untersuchungen nicht zu befürchten.

Abbildung 6: **Kalzifikation im Hoden eines 18 Monate alten Bullen**

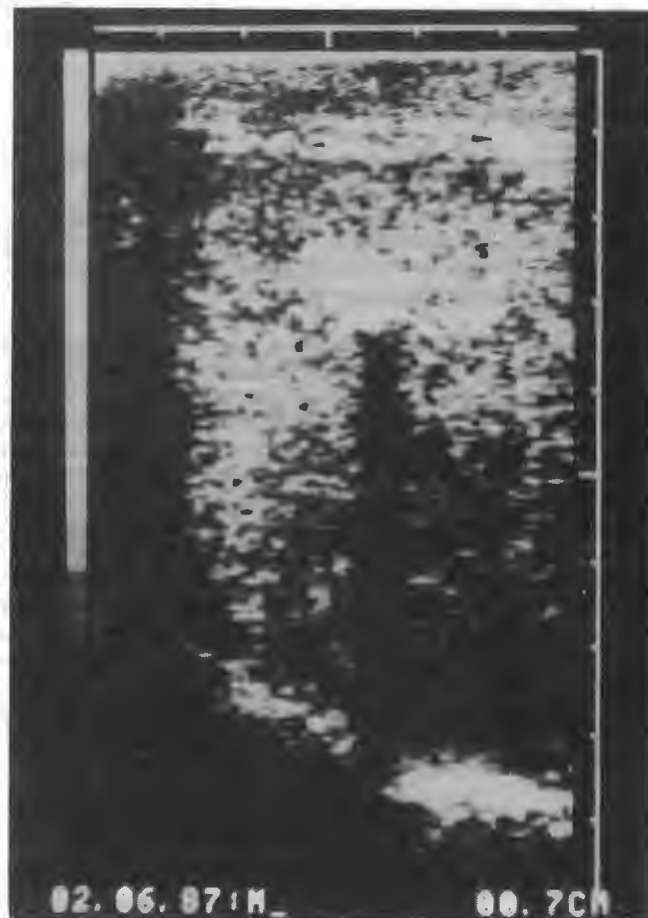
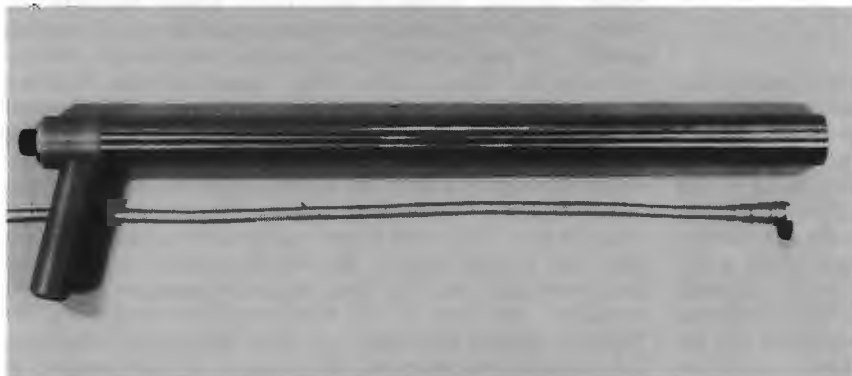


Abbildung 7: **Modifizierter Vaginenschallkopf zur Follikelpunktion beim Rind** Zusammenfassung



Die Sonographie hat sich als aussagefähiges Verfahren zur Leistungsprüfung bei Schwein und Geflügel ebenso bewährt wie für die diagnostische Anwendung unter veterinärmedizinischem Gesichtspunkt. Prinzip und Anwendungsmöglichkeiten für biotechnische Reproduktionsverfahren werden unter besonderer Berücksichtigung der Bedingungen des Institutes für Tierzucht und Tierverhalten, Mariensee beschrieben.

In Vorbereitung ähnlicher Möglichkeiten beim Schwein wird zur Zeit geprüft, mit welcher Sicherheit eine Follikeldarstellung möglich ist. Aufgrund der anatomischen Gegebenheiten wird eine Punktion nach gegenwärtigen Erkenntnissen nur transkutan durchführbar sein. Dies verringert die Abbildungsgenauigkeit und ist aufgrund der Lage des Darmkonvolutes nicht unproblematisch.

Neben der Follikelpunktion interessiert die Absicherung möglicher Schäden an Eizellen und Embryonen durch Ultraschall. Spendertiere werden vor der Gewinnung mehrmals beschallt und ein Einfluß auf die Embryoentwicklung geprüft. Außerdem werden Trächtigkeitsdiagnose und -überwachung bei Rind, Schwein und Schaf nach entsprechenden biotechnischen Eingriff regelmäßig durchgeführt. Der Ovarkontrolle kommt besondere Bedeutung nach hormoneller Zyklusinduktion und Superovulationseinleitung zu. Ein weiteren Projekt zielt darauf ab, beim Schwein unter Ultraschallkontrolle Embryonen unchirurgisch zu übertragen.

#### **Schädigungen durch Ultraschall:**

Wechselwirkungen zwischen Schallwellen und Zelle sind theoretisch möglich. Schädigungen können je nach Schallenergie thermische und/oder mechanische Einwirkung (Kavitation) haben. Im molekularen Bereich ist eine Umwandlung akustischer Energie in Wärme möglich, wenn die Moleküle in entsprechende Schwingungen gebracht werden.

Aufgrund der weiten Relation zwischen Impulsdauer (1µsec) und dem Impulsintervall (200-500 µsec) (gepulster Ultraschall) und bei den äußerst geringen Energiemengen (0,15-0,2 mW/cm<sup>2</sup>), wie sie im diagnostischen Bereich verwendet werden, ist eine Zellschädigung unwahrscheinlich und bisher nicht nachgewiesen worden. Gleiches gilt für chromosomale Veränderungen, die bisher bei Anwendung diagnostischer Verfahren nicht aufgetreten sind. Das "Committee on Bioeffects of the American Institute of Ultrasound in Medicine" hatte bereits 1976 gezeigt, daß keine biologischen Effekte an Säugerzellen auftreten, solange die Gesamtenergiemenge, der das Gewebe ausgesetzt ist, unterhalb von 50 J/cm<sup>2</sup> bleibt. In eigenen Untersuchungen an Bullspermien, die keinen Reparatursmechanismus besitzen und entsprechend empfindlich Veränderungen anzeigen, wurden morphologische und chromosomale Veränderungen nicht festgestellt. Die Fruchtbarkeit blieb vollständig erhalten.

#### **Applicability of sonographic systems in livestock as a tool for biotechnical methods**

Sonography has been established as a reliable method for progeny tests in pig and poultry as well as in the diagnostic application for veterinary purposes. Principle and applicability in the biotechnical field of reproduction, especially under the conditions of the "Institut für Tierzucht und Tierverhalten, Mariensee" are described.

Verfasser: Rath, Detlef, Dr. med. vet.; Smidt, Diedrich, Professor Dr. med. vet. Dr. sc. agr. Dr. med. vet. h. c., Institut für Tierzucht und Tierverhalten Mariensee der Bundesforschungsanstalt für Landwirtschaft Braunschweig-Völkenrode (FAL), Leiter: Professor Dr. med. vet. Dr. sc. agr. Dr. med. vet. h. c. Diedrich Smidt.