

12
24



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia

**"DIAGNOSTICO DE GESTACION EN OVEJAS
MEDIANTE LA DETERMINACION DE LOS NIVELES
DE PROGESTERONA EN EL DIA 18 POST-
SERVICIO USANDO LA TECNICA DE ENZIMO-
INMUNOENSAYO".**

TESIS PROFESIONAL

**QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA
P R E S E N T A :
MARIA DEL ROCIO AMEZCUA MORENO**



**Asesores: M.V.Z. Luis Zarco Quintero
M.V.Z. Andrés Ducoing Watty**

México, D.F.

1988



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

CONTENIDO

	PAGINAS
I. INTRODUCCION	2
1. ANTECEDENTES	2
2. REVISION DE LA LITERATURA	4
2.1 DETECCION DE ESTROS	4
2.2 TECNICAS DE ULTRASONIDO	4
2.3 PALPACION RECTO ABDOMINAL	6
2.4 PALPACION UTERINA POR LAPARATOMIA	6
2.5 RADIOLOGIA	7
2.6 BIOPSIA VAGINAL	7
2.7 PRUEBAS HORMONALES	8
2.7.1. LACTOGENO PLACENTARIO OVINO	8
2.7.2. ESTROGENOS	8
2.7.3. PROGESTERONA	9
3. JUSTIFICACION	13
4. HIPOTESIS	13
5. OBJETIVO	13
II. MATERIAL Y METODOS	14
1. PROCEDIMIENTO DE EIA	14
2. ANALISIS DE LOS DATOS	15
III. RESULTADOS	17
IV. DISCUSION	18
V. CONCLUSIONES	21
VI. LITERATURA CITADA	22

RESUMEN

AMEZCUA MORENO MARIA DEL ROCIO. "Diagnóstico de gestación en ovejas mediante la determinación de los niveles de progesterona en el día 18 post-servicio usando la técnica de enzimoimmunoensayo". Bajo la dirección de Luis Zarco Quintero y Andrés Ducoing Watty.

El trabajo se realizó con el fin de evaluar la técnica de enzimoimmunoensayo (EIA) como diagnóstico de gestación, mediante la determinación de los niveles de progesterona, en 170 borregas del Centro Ovino de Programa de Extensión Agropecuaria de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la U.N.A.M. Dieciocho días después de la inseminación de las ovejas, se les extrajo a cada una 10 ml. de sangre de la yugular. Las muestras con anticoagulante, se centrifugaron para obtener el plasma, en donde se determinó la hormona por medio de la técnica de enzimoimmunoensayo. Los valores obtenidos en la prueba se confirmaron con los partos y los resultados se determinaron como verdaderos positivos (VP), verdaderos negativos (VN), falsos positivos (FP), falsos negativos (FN) y sospechosos. Los datos se evaluaron de acuerdo al análisis estadístico propuesto por Galen, encontrándose los siguientes porcentajes: sensibilidad del diagnóstico 91.86%, especificidad del diagnóstico 62.06%, valor predictivo del diagnóstico positivo 91.12%, valor predictivo del diagnóstico negativo 64.28% y eficiencia global del método 86.18%. La cantidad de sospechosos alcanzó el 8.92%. La técnica de enzimoimmunoensayo (EIA) para el diagnóstico de preñez temprana, resultó ser una prueba rápida, con alta sensibilidad, eficacia y valor predictivo del diagnóstico de gestación. Los resultados obtenidos para especificidad y valor predictivo del diagnóstico negativo no fueron los esperados en comparación con lo encontrado en la literatura. Este trabajo es el primero que se realiza con estos fines en borregas, por lo que requiere de mayores estudios ofreciendo una alternativa para investigaciones posteriores de la técnica de EIA.

I. INTRODUCCION.

1.- ANTECEDENTES

En todas las especies, las pruebas de diagnóstico de gestación son importantes para mejorar la eficiencia reproductiva, puesto que al identificar a las hembras que no están gestantes es posible volverlas a servir, tratarlas, o eliminarlas en caso de tener problemas serios de fertilidad (25, 34).

Actualmente ha aumentado el interés de llevar a cabo un diagnóstico de gestación temprano y eficaz en ovejas, ya que la eliminación de borregas estériles representa una gran ventaja económica, al eliminar animales improductivos. Además el diagnóstico de gestación es especialmente importante en ésta especie porque la falta de estro debido a preñez impide diferenciarla del período de anestro que ocurre al final de la época reproductiva (3, 4, 21, 22, 34).

Para que una prueba de diagnóstico sea útil debe ser simple, barata, eficaz y que pueda realizarse a nivel de campo con un mínimo de manejo del animal (3).

La determinación de los niveles de progesterona mediante radioinmunoanálisis entre los días 16 y 18 post-servicio ofrece la posibilidad de un diagnóstico temprano y práctico de no gestación (4, 13, 18, 21, 22, 28). El desarrollo de técnicas para medir progesterona mediante enzoinmunoanálisis ha facilitado el trabajar gran número de muestras en poco tiempo, a

un costo relativamente bajo y sin los riesgos asociados al uso de materiales radioactivos (6, 23, 32, 41).

Zarco y col. (47), utilizando el enzimoimmunoanálisis desarrollado por Munro y Stabenfeldt (23), encontraron que los niveles de progesterona en borregas no gestantes se mantenían por debajo de 0.5 ng/ml entre los días 16 y 18 post-estro, mientras que en las borregas gestantes los niveles de progesterona se mantuvieron por encima de 0.75 ng/ml en ese mismo lapso (48). Sin embargo, el propósito de dichos estudios no fue el diagnóstico de preñez, y en la borrega no se ha evaluado la sensibilidad, especificidad ni valor predictivo del enzimoimmunoensayo de progesterona como método para el diagnóstico precoz de gestación.

2.- REVISION DE LA LITERATURA.

A continuación se revisarán los principales métodos que se han utilizado para el diagnóstico de preñez en borregas:

2.1.-Detección de estros.

El diagnóstico de gestación a través de la observación de no retorno a estro es el método más tradicional y comúnmente utilizado. Es una prueba simple, barata y con eficacias del 84%. Sin embargo, la interacción entre la conducta social y sexual de los animales tiene efecto sobre la calidad de la detección de calores. Además, el incremento en el tamaño de los rebaños y el decremento en las horas de trabajo han hecho que la observación de los animales sea más difícil, ya que para ser efectiva se requiere observar a todos estos dos veces al día. Otra desventaja consiste en que las hembras servidas al final de la época reproductiva y que no quedan gestantes, entran a una etapa de anestro estacional antes de tener oportunidad de manifestar un celo más, por lo que no retornan a estro a pesar de estar vacías, ocasionando que sean diagnosticadas como gestantes sin estarlo (3, 17, 25, 34, 39).

2.2. Técnicas de ultrasonido.

Existen dos tipos de técnicas que utilizan el principio de ultrasonido para el diagnóstico de preñez en borregas:

a). Técnica A-Scope: Que aplica las ondas ultrasónicas externamente para detectar líquidos fetales. Se ha utilizado con una efectividad del 83% entre los días 61-150 de gestación. Es una prueba rápida y segura, útil a nivel de campo obteniéndose buenos resultados si se cuenta con operadores experimentados (3, 20, 21, 22, 39).

b). Técnica Doppler: En esta técnica se aplican las ondas ultrasónicas intrarectalmente detectando básicamente el pulso fetal. Presenta una eficacia del 94% al día 46 y hasta 100% después del día 60 de gestación, con rangos de 25 a 75% para diagnóstico de no gestantes (21, 22, 24). Si se considera solamente su eficacia, este método podría ser el de elección para pequeños rumiantes, pero no es lo suficientemente rápido para utilizarse extensivamente ya que se requieren en promedio 5 minutos para examinar cada oveja, sin contar el tiempo que se necesita para sujetarla (3, 12, 21, 22, 24, 28, 38, 39, 40).

Las desventajas de ambos métodos de ultrasonido son la alta inversión inicial en la compra del equipo, así como el costo de su mantenimiento (21, 24, 26) y la necesidad de experiencia por parte del operador para obtener mayor eficacia (40, 44). Además, en el método para detectar líquidos fetales se presentan altos porcentajes de falsos positivos debido a que lo registrado por aparato es un útero distendido, sin diferenciar si se trata de gestación o de un caso de piometra, mucometra, maceración fetal, hembras recién paridas, abortos u otro órgano que desplace al útero, como sería el caso de una vejiga pletórica, que ocupa una

posición similar al útero en preñez temprana (3, 20, 38).

2.3. Palpación recto abdominal.

En esta técnica se inserta por vía rectal un bastón de plástico con extremos redondeados, previamente lubricado, que se manipula con una mano y la otra se coloca en el abdomen posterior. Se dá un diagnóstico positivo de gestación cuando se detecta una obstrucción significativa al movimiento libre del bastón (21, 22, 24, 26).

La prueba es simple, rápida y barata teniendo una efectividad del 97% después del día 65 post-servicio. Una desventaja es que esta prueba no es apta para un diagnóstico temprano de preñez (21, 22, 24) y que existe la posibilidad de causar daño rectal, abortos, infecciones y muerte de la borrega. Además requiere experiencia por parte del operador y puede confundirse con casos de piometra, mucometra y momificación fetal (21, 22, 24, 38).

2.4. Palpación uterina por laparatomía.

Se lleva a cabo realizando una pequeña incisión anterior a la ubre. La gestación se detecta como un adelgazamiento de la pared del útero y una acumulación de fluido en el mismo. Con esta técnica se obtiene solamente un 3% de errores en ovejas con 4 a 8 semanas de preñez. Las desventajas son que se requiere experiencia, es necesario todo el manejo sanitario de una intervención quirúrgica, y sólo puede realizarse en un número limitado de borregas (21, 22, 38).

2.5. Radiología.

Se ha informado que la gestación puede diagnosticarse con un 100% de eficiencia mediante una radiografía del abdomen entre los días 90 a 150 de preñez (21, 22, 24). Sin embargo, este método tiene desventajas: es necesaria la sujeción completa del animal, dificultándose con ovejas grandes y gordas; el costo del método limita su uso en condiciones de campo, además de la posibilidad que existe de causar daño a la salud del operador y la borrega por el uso de radiaciones (3, 12, 22, 40). Otra desventaja importante es que es eficiente en etapas tardías de la gestación, por lo que no sirve para un diagnóstico temprano (21, 22).

2.6. Biopsia vaginal.

La evaluación histológica de una biopsia vaginal para diagnóstico de preñez tiene una eficacia del 97% después del día 40 de la monta (21, 22, 29). Las hembras gestantes presentan generalmente un sólo tipo celular, cúbico, y menos de seis estratos celulares. Es un método eficaz y que aparentemente no produce daño en la mucosa vaginal (21, 22, 29).

La prueba tiene muchas limitaciones, requiere que la muestra sea enviada y procesada en un laboratorio y que sea examinada por personas entrenadas (21, 22, 29, 39), no pudiéndose obtener el resultado en menos de 48 horas. Además pueden encontrarse muchos falsos positivos en la lectura, o en ocasiones se exceden los estratos celulares reportando a la borrega como no gestante. Por todas estas desventajas no es una técnica de elección en el

diagnóstico de gestación en borregas a nivel de campo (29).

2.7. Pruebas hormonales.

Las investigaciones sobre la reproducción animal se ven muy facilitadas por las técnicas de medición de la concentración de hormonas en la sangre y otros líquidos corpóreos. El ensayo de hormonas en la sangre es una forma conveniente de evaluar las condiciones reproductivas de un individuo y se están convirtiendo en un importante instrumento de diagnóstico (25, 34).

A continuación se describen las principales hormonas que se han medido para realizar diagnóstico de gestación.

2.7.1. Lactógeno placentario ovino (OPL) o Somatotropina coriónica ovina (OCS).

Esta hormona es una proteína específica de la preñez por que es producida por el epitelio de las vellosidades coriónicas de la placenta a partir de los días 16-17 de gestación, siendo detectable en sangre y orina conforme se incrementa el peso de los cotiledones (7, 19, 30).

Las ovejas con niveles detectables de OCS en sangre se diagnostican como preñadas, sin embargo estas concentraciones se alcanzan sólo después del día 64 de gestación por lo que a pesar de obtener eficiencias del 97% para las hembras preñadas y 100% para las no preñadas no es una prueba útil debido a lo tardío de su uso. Los niveles de la hormona aumentan drásticamente hasta los días 110 a 125 de gestación y después disminuyen (5, 19, 30).

2.7.2. Estrógenos.

Durante la preñez los estrógenos se sintetizan esencialmente

en la placenta y pueden ser detectados en leche, orina y sangre (34, 43, 44).

Estos esteroides se encuentran principalmente conjugados, existiendo en la circulación en forma sulfatada (sulfato de estrona y 17 B estradiol) (7, 15). En la oveja los niveles de estrógenos aumentan entre los días 80 y 90 de gestación y su concentración alcanza el máximo después del día 100, con valores de 0.5 a 3 ng/ml. (15, 16, 21, 22). El diagnóstico de preñez a través de la determinación de esta hormona entre los días 115 a 125 post-servicio presenta un 99% de efectividad para las hembras preñadas y un 83% para las no preñadas (7, 15, 16, 21, 22, 34).

La desventaja más importante de esta prueba es que sólo se utiliza como un diagnóstico tardío de gestación, restringiéndose su uso a la confirmación de los resultados de una prueba más temprana (16, 21, 22, 34).

2.7.3. Progesterona.

La determinación de los niveles de progesterona entre los días 16 y 18 post-servicio ofrece la posibilidad de un diagnóstico muy temprano y práctico de no gestación (4, 13, 18, 21, 22, 28).

Para la determinación de progesterona en ovejas se utiliza preferentemente plasma (4, 9, 23, 27, 35) aunque es posible realizarla en saliva (6), suero (37) o leche (1, 2, 6, 11, 31, 32, 33, 35, 41, 42).

La prueba se basa en el hecho de que en los animales no gestantes el cuerpo lúteo que se formó al ovular sufre una regresión entre los días 14 y 16 post-servicio, dejando de

producir progesterona, la que solamente volverá a elevarse en la circulación 3 ó 4 días después de la siguiente ovulación, manteniendose basales los niveles de progesterona de la oveja no preñada durante 5 ó 7 días a partir del día 16 del ciclo estral (7, 25). En contraste, el cuerpo lúteo de los animales gestantes no regresa en los días 14 ó 16, sino que se mantiene en el ovario durante el resto de la preñez, produciendo continuamente cantidades elevadas de progesterona, teniendo como consecuencia que la muestra de sangre tomada a un animal gestante el día 16 ó 18 post-servicio presentará concentraciones elevadas de la hormona (3, 7, 18, 35, 48).

La técnica más extensamente usada para medir progesterona ha sido el Radioinmunoensayo (RIA), el cual utiliza yodo radioactivo ($I-125$) (10) o tritio ($H-3$) como marcadores (13, 18, 25, 27, 35). Esta prueba ha demostrado ser eficaz, sensible y rápida (10), sin embargo tiene varias limitaciones para su uso rutinario como son el empleo de material radioactivo, siendo un riesgo potencial para la salud del personal. Además requiere instalaciones especiales que muchos laboratorios no poseen, el equipo es caro y difícil de mantener, los reactivos no pueden almacenarse durante mucho tiempo y se requiere la implementación de sistemas eficaces de desecho de material radioactivo, así como capacitación de personal especializado (1, 25, 33, 37, 42, 46).

Por esta razón, durante la última década se ha buscado el desarrollo de técnicas alternativas, que siguen el mismo principio de RIA (competencia de antígenos marcados y no marcados por un anticuerpo específico), pero utilizando marcadores no radioactivos como son las enzimas o los grupos

fluorescentes (1, 23, 31, 37, 41, 42, 46).

A la técnica inmunológica que utiliza enzimas como marcadores se le llama Enzimoimmunoensayo (EIA). Se han desarrollado varios métodos para la determinación de progesterona por EIA (1, 6, 23, 32, 33, 41, 42) las cuales ofrecen una buena alternativa al uso de RIA en la detección de progesterona en plasma.

De los EIA que existen, el de tipo competitivo es el que se emplea para medir progesterona. En estos métodos la hormona marcada con una enzima compete con la progesterona de la muestra para ocupar los sitios de unión de un anticuerpo antiprogestero. La cantidad de progesterona marcada que se une al anticuerpo está en relación inversa a la cantidad de progesterona en la muestra. La enzima pegada al anticuerpo se puede medir por su actividad, que se traduce en cambios de color de un sustrato cromógeno, los cuales pueden ser evaluados cuantitativamente por medio de un espectrofotómetro o cualitativamente a través de la inspección visual (1, 2, 23, 32, 33, 36, 41, 42).

Se ha comprobado con buenos resultados el empleo generalizado de EIA ya que se puede prescindir de equipo especializado, realizándose en cualquier laboratorio o incluso a nivel de campo con mucha rapidez y seguridad, procesándose hasta 300 muestras en un día (1, 2, 6, 37, 41, 42, 46).

El EIA de progesterona se ha utilizado como diagnóstico de gestación en gran escala para bovinos (1, 2, 4, 6, 11, 23, 31, 33, 37, 42). En esta especie las muestras se extraen los días 19

y 21 después de la inseminación, utilizando preferentemente la leche, aunque también se ha desarrollado en muestras de plasma obteniendo resultados del 84.5% para el diagnóstico positivo y 97% para el diagnóstico negativo de gestación, con una efectividad global desde el 81 hasta el 92%. Los porcentajes de sospechosos reportados son del 2.1% (4, 6, 23, 38, 42).

En el ovino también se ha utilizado el EIA para medir niveles de progesterona en plasma (47, 48), sin embargo no se ha evaluado su uso como método para el diagnóstico de preñez.

3. JUSTIFICACION

La implementación de una técnica que permita el diagnóstico temprano de gestación en la borrega permitirá acortar el intervalo entre partos y evitar que los animales entren en anestro estacional antes de quedar gestantes.

4. HIPOTESIS

La técnica de EIA es adecuada y confiable para determinar gestación temprana en ovejas mediante la medición de niveles plasmáticos de progesterona.

5. OBJETIVO

Evaluación de la sensibilidad, especificidad, valor predictivo y eficacia del diagnóstico de gestación en la borrega mediante la determinación de los niveles de progesterona en el día 18 post-inseminación utilizando la técnica de EIA.

II. MATERIAL Y METODOS

El trabajo de investigación se realizó en el Centro Ovino del Programa de Extensión Agropecuaria (C.O.P.E.A.) de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnica de la U.N.A.M..

Se utilizaron 170 borregas adultas de razas Dorset, Tarsset, Suffolk, Tabasco y cruza, las cuales fueron sincronizadas con acetato de melengestrol e inseminadas con semen fresco o congelado al mostrar signos de estro. Dieciocho días después de la inseminación se obtuvieron 10 ml de sangre de la vena yugular de cada animal, utilizando tubos al vacío heparinizados. Las muestras se transportaron en refrigeración (4C) al Laboratorio de endocrinología del departamento de Reproducción de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la U.N.A.M. donde se centrifugaron a 4000 rpm durante 10 min para separar el plasma, que fue transferido a tubos de ensayo y congelado a -20C hasta que se realizó la determinación de los patrones de progesterona por medio de la técnica de enzimoimmunoensayo.

1. PROCEDIMIENTO DE EIA.

Se empleó la técnica de enzimoimmunoensayo desarrollada por Munro y Stabenfeldt (23) la cual ha sido utilizada para la determinación de progesterona en muestras de plasma ovino (48).

Para esta técnica se utilizan placas de microtitulación previamente recubiertas con anticuerpos contra progesterona. El plasma es extraído con éter de petróleo y el extracto lípido del plasma es evaporado en tubos de ensayo y reconstituido en Buffer

de fosfato. En cada pozo de la placa se agrega una cantidad conocida de progesterona conjugada a la enzima peroxidasa, así como 50 microlitros (ul) de la muestra reconstituida en Buffer. La progesterona conjugada y la progesterona de la muestra compiten por los sitios de unión del anticuerpo, de tal forma que a mayor cantidad de hormona en la muestra, menor la cantidad de progesterona conjugada que se une al anticuerpo. Posteriormente se lava la placa para eliminar la progesterona no unida y se añade un substrato cromógeno (ABTS), que formará un color verde cuya intensidad es directamente proporcional a la cantidad de progesterona conjugada unida al anticuerpo. La coloración se mide en un espectrofotómetro. El tiempo total para llevar a cabo el análisis de hasta 300 muestras es de 4 horas.

La sensibilidad de la prueba de EIA es de 75 pg/ml. El coeficiente de variación inter-ensayo varía del 10.9 al 14.5% a diferentes concentraciones de la hormona; el coeficiente de variación intra-ensayo varía de 4.9 a 10.5% (23, 47, 48).

2. ANALISIS DE LOS DATOS.

Se consideró que una borrega estaba gestante si sus niveles de progesterona plasmática en el día 18 post-servicio eran superiores a 1 ng/ml. Se consideró como vacía si dichos niveles eran inferiores a 0.75 ng/ml. Los valores entre 0.75 y 1ng/ml se consideraron como sospechosos.

Los resultados se confirmaron con los partos, reportándose entonces como Verdaderos positivos (VP), Verdaderos negativos (VN), Falsos positivos (FP), Falsos negativos (FN) y sospechosos.

Para evaluar la especificidad, sensibilidad, valor predictivo y eficiencia del diagnóstico de gestación se empleó al análisis de valor predictivo propuesto por Galen (14), que utiliza los siguientes modelos.

Sensibilidad del diagnóstico de gestación:

$$\frac{VP}{VP + FN} \times 100 =$$

Especificidad del diagnóstico de gestación:

$$\frac{VN}{VN + FP} \times 100 =$$

Valor predictivo del diagnóstico de gestación:

$$\frac{VP}{VP + FP} \times 100 =$$

Valor predictivo del diagnóstico negativo de gestación:

$$\frac{VN}{VN + FN} \times 100 =$$

Eficiencia global del método:

$$\frac{VP + VN}{VP + FP + FN + VN} \times 100 =$$

III. RESULTADOS

Los resultados obtenidos en la prueba se compararon con la ocurrencia de los partos, obteniéndose las siguientes cantidades: VP = 113 muestras, VN = 18 muestras, FP = 11 muestras, FN = 10 muestras, y sospechosos = 16 muestras.

Con las cantidades anteriores, se calcularon los porcentajes de cada uno de los modelos propuestos por Galens:

La sensibilidad del diagnóstico fue de 91.86% indicando el porcentaje de animales gestantes que fueron diagnosticados como tales.

La especificidad del diagnóstico fue de 62.06%, indicando el porcentaje de hembras no gestantes que fueron diagnosticadas como vacías.

El valor predictivo del diagnóstico positivo fue de 91.12%, este valor indica el porcentaje de animales diagnosticados como gestantes y que realmente parieron.

El valor predictivo del diagnóstico negativo fue de 64.2% que indica las hembras diagnosticadas como no preñadas y que realmente no parieron.

La eficacia global de la prueba fue de 86.18%.

Por último se calculó la cantidad de sospechosos, alcanzando un 8.92%.

IV. DISCUSION

La baja especificidad (62.06%) de la prueba de EIA para el diagnóstico de gestación en ovejas encontrada en este trabajo se puede explicar por la gran cantidad de falsos positivos encontrados, debidos posiblemente a la mortalidad embrionaria que según lo reportado por Edey. T. N. (8) alcanza hasta un 20 a 30% durante la preñez temprana, con la mayoría de las pérdidas ocurridas antes del día 18 de gestación. Algunas pérdidas pueden ocurrir después del día 12 del ciclo estral, prolongando la fase lútea, dando diagnósticos falsos de gestación. Además, las irregularidades del ciclo estral y la persistencia del cuerpo lúteo debido a patología uterina pueden ser causa de una sobrestimación en el porcentaje de preñez (45).

El valor predictivo de los resultados encontrados en esta prueba (91%) fue mayor al obtenido por otros autores que trabajaron con esta técnica en el bovino (4, 12, 27, 28, 35, 34). En cambio el valor predictivo del diagnóstico de no gestación (64.2%) fue menor al compararlo con otros autores que han encontrado 97 a 100% (4). Estos resultados se pueden explicar en parte porque éstos dos parámetros se ven afectados por la incidencia de gestaciones, la cual fue muy elevada en el experimento, lo que provocó que apareciera una gran cantidad de falsos negativos.

En este experimento se utilizaron muestras de plasma debido

a que es el líquido de elección para borrega y a que, de acuerdo a lo reportado por Thivier y col. (35), los niveles de progesterona en plasma de hembras preñadas son 10 veces superiores a los encontrados en las hembras no preñadas a diferencia de la leche, en la que los niveles de progesterona en hembras gestantes solamente son 2 ó 3 veces superiores a los de hembras vacías. Además, el contenido de grasa y nitrógeno de la leche pueden interferir con los niveles de progesterona. Una tercera razón para no utilizar leche fue que la mayoría de los animales servidos estaban secos.

La cantidad encontrada de sospechosos fue muy alta (8.92%) en comparación con lo obtenido por Booth en vacas (4) que alcanzo sólo el 2.1%, sin embargo, estas muestras pueden volver a repetirse y volver a catalogarse dentro de los resultados positivos o negativos, tomando en cuenta que por la rapidez de la prueba ésto es muy posible.

Cabe mencionar que para poder realizar la prueba de diagnóstico de gestación por determinación de niveles de progesterona es necesario conocer el día en que se realizó el servicio, siendo necesario complementarla con técnicas de inducción de estros, especialmente si se aplica durante el período de anestro (34).

La prueba de EIA demostró ser una buena opción para el diagnóstico de preñez en la oveja ya que puede realizarse en pequeños laboratorios, sin equipo sofisticado, sin riesgo por el uso de material radioactivo y a bajo costo. Sin embargo, en países en desarrollo no se ha hecho una evaluación profunda de esta prueba para medir progesterona, y los resultados de algunos

parámetros calculados en el experimento no fueron los esperados, recomendandose mayores estudios al respecto para que la utilización de esta técnica pueda de alguna manera generalizarse en nuestro país.

V. CONCLUSIONES

La detección de progesterona por EIA es una prueba de diagnóstico de gestación muy temprana, rápida y segura, capaz de efectuarse en gran escala si se conoce el día de monta, pudiéndose realizar en cualquier laboratorio.

La prueba de EIA es muy sensible y eficaz pero presenta una baja especificidad.

Se requiere de estudios subsecuentes para una mejor evaluación de este trabajo.

VI. LITERATURA CITADA

1. ARNSTADT, K. I. and CLEERE, F. W.: Enzyme-immunoassay for determination of progesterone in milk from cows. J. Reprod. Fert., 62: 173 - 180 (1981).
2. ARNSTADT, K. I. and SCHMIDT, B. S.: Direct enzymeimmunoassay for determination of progesterone in milk from cows. Br. Vet. J., 138: 436 - 438 (1982).
3. BONDURANT, R. H.: Pregnancy diagnosis in sheep and goats: field test with an ultrasound unit. California Veterinarian, 1: 26 - 28 (1980).
4. BOOTH, J. M.: Milk progesterone pregnancy testing in cattle and other species. Proceeding of 9th International Congress on Animal Reproduction and Artificial Insemination. Madrid, España, RT-C-2: 109 - 117 (1980).
5. CERINI, M., FINDLAY, J. K. and LAWSON, A. S.: Pregnancy specific antigens in the sheep: application to the diagnosis of pregnancy. J. Reprod. Fert., 46: 65 - 69 (1976).
6. CLEERE, F. W. et al.: A high performance, high throughput enzymeimmunoassay for the analysis of progesterone in plasma or milk. Irish Vet. J., 39: 6 - 14 (1985).
7. CURRIE, B. W.: Endocrinology of pregnancy and parturition in sheep and goats. Management of Reproduction in Sheep and Goats Symposium. University of Wisconsin, Wisconsin: 72 - 78 (1977).
8. EDEY, T. N.: Embryo mortality in sheep Breeding. Proceedings of the 1976 International Congress. Western Australian Institute of Technology. 315 (1976).
9. ECKERSALL, P. D. and HARVEY, J. A.: The use of a bovine plasma progesterone ELISA kit to measure progesterone in Equine, Ovine and Canine Plasmas. Vet. Rec.: 5 (1987).
10. FLORES, P. G., ZARCO, Q. L., DUCDING, W. A. y QUISPE, Q. T.: Diagnóstico de gestación en ovejas mediante un radioinmunoensayo rápido de los niveles de progesterona en el día 18 post-servicio. Memorias de la Reunión de Investigación Pecuaria en México. Dic. 1987.
11. FOULKES, A. J., COOKSON, D. A. and SAUER, J. M.: A.I. in cattle based on daily microtitre plate enzymeimmunoassay of progesterone in whole milk. Br. Vet. J., 138: 515 - 521 (1982).

12. FUKUI, Y., KIMURA, T. and ONO, H.: Multiple pregnancy diagnosis in sheep using an ultrasonic doppler method. Vet. Rec. 61: 145 (1984).
13. GADSBY, J. E. and HEAP, R. B.: Diagnosis of pregnancy and of the number of fetuses in sheep from plasma progesterone concentrations. Vet. Rec.: (1972).
14. GALEN, S. R.: New math in the lab. Predictive Value Theory. Diagnostic Medicine: 31 - 39 (1979).
15. HEAP, R. B.: Oestrogen synthesis by embryos of the pig, cow and sheep. J. Anim. Sci. 49: (Suppl. 1) 298 - 299 (1979).
16. HEAP, R. B. and HAMOND, M.: Oestrone sulphate in milk and its association with pregnancy. Br. Vet. J. 135: 462 - 463 (1979).
17. HULET, C. V.: Management of reproduction in sheep. En Proceedings of the Symposium. Management of Reproduction in Sheep and Goats. University of Wisconsin. 24 - 25 (1977).
18. MAC DONEELL, H.: Peripheral plasma progesterone in the ewe: its application to the diagnosis of early pregnancy following oestrus synchronization treatment. Irish. Vet. J. 11 - 15 (1976).
19. MARTAL, J. and DJIANE, J.: The production of chorionic somatomammotrophin in sheep. J. Reprod. Fert. 49: 285 - 289 (1977).
20. MEREDITH, J. and MADANI, K. O.: The detection of pregnancy in sheep by a-mode ultrasound. Br. Vet. J. 136: 325 - 331 (1980).
21. MEMON, A. M. and OTT, R. S.: Methods of pregnancy diagnosis in sheep and goats. Cornell Veterinarian. 70: 226 - 231 (1980).
22. MEMON, A. M. and OTT, R. S.: Pregnancy diagnostic. Sheep and Goat Manual. Society for Theriogenology. X: 34 - 36 (1980).
23. MUNRO, C. and STABENFELDT, G.: Development of a microtitre plate enzymeimmunoassay for the determination of progesterone. J. Endocr. 101: 41 - 49 (1984).
24. OTT, R. S., BRAUN, W. F., LOCK, T. F., MEMON, A. M. and STOWATER, J. L.: A comparison of intrarectal doppler and rectal abdominal palpation for pregnancy testing in goats. J. Am. Vet. Med. Ass. 178: 730 - 731 (1981).
25. PEREREA, B. M. A. C. y ABEYRATNE, A. S.: El empleo de técnicas nucleares para mejorar la aptitud reproductora del ganado doméstico. Rev. Mund. Zoot. 32: 2 - 8 (1979).
26. PLANT, J. W.: Pregnancy diagnosis in sheep using a rectal probe. Vet. Rec. 106: 305 - 306 (1980).

27. RAMSAY, A. M. and SAD, R. M. F. S.: Deteccon of pregnancy in living bighorn sheep by progestin determination. J. Wildl. Manage. 43: 970 - 973 (1979).
28. RAWLINGS, N. C., JEFFCOATE, I. A., SAVAGEN, N. C. and STEUART, D. M. K.: Pregnancy diagnosis and assessment of fetal numbers in the ewe in a commercial setting. Theriogenology, 19: 655 - 668 (1983).
29. RICHARDSON, C.: Diagnosis of pregnancy in the ewe by vaginal biopsy. Br. Vet. J. 128: 316 - 329 (1972).
30. ROBERTSON, A., CHAN, J. S. and FRIESEN, H. G.: The use of a pregnancy specific antigen, chorionic somatomammotrophin, as an indicator of pregnancy in sheep. J. Reprod. Fert. 58: 279 - 281 (1980).
31. SAIZ, C. F. and PEREZ, G. T.: Pregnancy diagnosis from milk: latest results from Spain. Br. Vet. J. 138: 538 - 542 (1978).
32. SAUER, J. M., FOULKES, A. J. and ONEILL, M. P.: Use of microtitre plate EIA for direct determination of progesterone in whole milk: application of heterologous systems for improved sensitivity. Br. Vet. J. 138: 522 - 532 (1982).
33. SAUER, J. M., FOULKES, A. J., WORSFOLD, A. and MORRIS, A.: Use of progesterone 11-glucuronide-alkaline phosphatase conjugate in a sensitive microtitre-plate enzymeimmunoassay of progesterone in milk and its application to pregnancy testing in dairy cattle. J. Reprod. Fert. 76: 375 - 391 (1986).
34. THIMONIER, J., BOSCH, M., DJIANE, J., MARTAL, J. and TERQUI, M.: Hormonal diagnosis of pregnancy and number of fetuses in sheep and goats. Management of Reproduction in Sheep and Goats. Symposium. University of Wisconsin, Wisconsin.
35. THIVIER, M., JEANGUOT, N. and MONTIGNY, G.: Accuracy of early pregnancy diagnosis in goats based on plasma and milk progesterone concentrations. Int. Goat and Sheep Res. 2: 1 - 6 (1982).
36. TIZARD, I.: Inmunologia Veterinaria. 2a. ed. INTERAMERICANA, México, D. F., (1984).
37. TOSHIHIKO, N.: Practical procedure for enzymeimmunoassay of progesterone in bovine serum. Acta Endocr. 23: 223 - 227 (1980).
38. WANI, G. M.: Ultrasonic pregnancy diagnosis in sheep and goats. A review. World. Review Anim. Prod. XVII: 43 - 48 (1981).
39. WATT, R. B., ANDERSON, A. G. and CAMPBELL, P. I.: A comparison of six methods used for detecting pregnancy in sheep. Australian Vet. J. 61: 377 - 382 (1984).

40. WHITE, R. I., RUSSEL, F. J. A. and FOWLER, G. D.: Real-time ultrasonic scanning in the diagnosis of pregnancy and the determination of fetal numbers in sheep. Vet. Rec. 115: 140 - 143 (1984).

41. WIEL, M. and KOOPS, W.: Direct measurement of progesterone in milk and plasma by sensitive and simple enzymeimmunoassay. BC. Vet. J. 138: 454 (1982).

42. WIEL, M. and KOOPS, W.: Development and validation of an enzymeimmunoassay for progesterone in bovine milk or blood plasma. Anim. Reprod. Sci. 10: 201 - 213 (1986).

43. WILLIAMS, CH.: Developing the new pregnancy testing kit. Dairy Goat. J. 63: 18 (1985).

44. WILLIAMS, CH.: Goat urine pregnancy test. Dairy Goat. J. 63: 7 (1985).

45. ZARCO, G. L., STABENFELDT, G. H., KINDAHL, H., QUIRKE, J. F. and GRANSTROM, E.: Persistence of luteal activity in the non-pregnant ewe. Anim. Reprod. Sci. 7: 245 - 267 (1984).

46. ZARCO, G. L.: Enzimoimmunoanálisis (EIA) para la determinación de progesterona en plasma y leche. Memorias del seminario destinado a América Latina para mejorar la eficacia reproductora y la sanidad del ganado por medio de radioimmunoanálisis y técnicas conexas. ARCAL. Maracay, Ven. (1987).

47. ZARCO, G. L., STABENFELDT, G. H., QUIRKE, J. F., KINDAHL, H. and BRADFORD, G. E.: Modification of prostaglandin F-2 synthesis and release in the ewe during the initial establishment of pregnancy. J. Reprod. Fert. 83: en prensa, (1988).

48. ZARCO, G. L., STABENFELDT, G. H., QUIRKE, J. F., KINDAHL, H. and BRADFORD, G. E.: Release of prostaglandin F-2 and the timing of events associated with luteolysis in ewes with oestrus cycles of different lengths. J. Reprod. Fert. 83: en prensa (1988).