

75
2e.



Universidad Nacional Autónoma de México

Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia

**“DIAGNOSTICO DE GESTACION EN OVEJAS MIDIENDO
LOS NIVELES DE PROGESTERONA EN EL DIA 18
POST-SERVICIO UTILIZANDO LA PRUEBA
DE RADIOINMUNOANALISIS.”**



T E S I S

Que para obtener el título de:
MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

P r e s e n t a :

Ana Gabriela Flores Pellicer

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





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

I.	Resumen.....	1
II.	Introducción.....	2
III.	Revisión de la literatura.....	4
	1. Evaluación de la prueba diagnóstica de gestación.....	4
	2. Métodos de diagnóstico de gestación.....	8
	2.1 Observación de retorno al estro.....	10
	2.2 Palpación recto-abdominal.....	11
	2.3 Método de biopsia vaginal.....	12
	2.4 Métodos por ultrasonido.....	13
	2.4.1 Ultrasonido para detec - ción de líquidos.....	13
	2.4.2 Detector del pulso fetal.....	13
	2.4.3 Ultrasonido de tiempo real (formación de imagen).....	14
	2.5 Método radiográfico.....	15
	2.6 Método de laparoscopia esplora- toria.....	16
	2.7 Medición de concentraciones hor- monales.....	16
	2.7.1 Medición de estrógenos.....	17
	2.7.2 Medición de lactógeno placentario ovino (LPO).....	18
	2.7.3 Medición de progesterona.....	19
IV.	Material y Métodos.....	21
V.	Resultados.....	27
VI.	Discusión.....	29
VII.	Conclusiones.....	33
VIII.	Literatura citada.....	34
IX.	Cuadros.....	39

I. RESUMEN

FLORES PELLICER, ANA GABRIELA. "Diagnóstico de gestación en ovejas mediante un radioinmunoanálisis rápido de los niveles de progesterona en el día 18 post-servicio". (bajo la dirección de: Luis Zarco Quintero y Andrés Ducoing Watty).

Se utilizaron 160 borregas del Centro Ovino del Programa de Extensión Agropecuaria de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México. En el día 18 después de la inseminación artificial se obtuvieron muestras de sangre de cada borrega, las cuales se centrifugaron para obtener el plasma, en donde se determinó la progesterona por un radioinmunoanálisis (RIA) de fase sólida. Se consideró que los niveles de progesterona superiores a 1 ng/ml se deben a la presencia de un cuerpo luteo funcional, y por lo tanto indican gestación. El diagnóstico definitivo se estableció con base a las pariciones, al comparar el diagnóstico por RIA con las pariciones se encontró que hubo: 125 verdaderos positivos (VP), 19 verdaderos negativos (VN), 14 falsos positivos (FP) y 2 falsos negativos (FN). La sensibilidad del diagnóstico de gestación fue 98.4%, la especificidad del diagnóstico de gestación 57.7%, la precisión del diagnóstico de gestación fue de 89.9%, la precisión del diagnóstico de no gestación fue de 90.47%, la eficiencia global fue del 90%. Se calculó también el valor predictivo considerando varios niveles hipotéticos de fertilidad. La técnica de RIA de fase sólida para el diagnóstico de gestación temprana resultó ser una alternativa muy útil especialmente para el diagnóstico de no gestación en hatos ovinos en explotaciones intensivas.

II. Introducción:

La eficiencia reproductiva es un factor fundamental para lograr un aprovechamiento óptimo del potencial productivo de los hatos ovinos.

En cualquier especie, un componente importante para lograr una alta eficiencia reproductiva es el diagnóstico precoz y preciso de la gestación, pero esto es aún más importante en especies estacionales, pues en las hembras que son servidas al final de la época reproductiva no es posible saber si la falta de retorno a estro es debida a que el animal quedó gestante o si se debe simplemente a que se ha iniciado la época de anestro estacional. Esta misma duda surge cuando las hembras son inducidas para presentar calores en el período de anestro estacional (2,23,24,41). El diagnóstico precoz de la gestación ofrece la posibilidad de volver a servir a las hembras que no quedaron gestantes al ser servidas, lo que permite un rápido incremento en la cantidad de ganado debido al aumento de la eficiencia en el manejo reproductivo del hato (25).

Es común que la detección de las borregas vacías se realice hasta que la época de partos se aproxima. Esto puede tener consecuencias económicas desfavorables e innecesarias, pues se les estará proporcionando alimento a las ovejas vacías como si estuvieran gestantes. Es por ello que otra ventaja del diagnóstico precoz de la gestación es que permite la lotificación de las ovejas para aportarles los requerimientos nutricionales

adecuados a su situación reproductiva (7,17,27,37,39).

Por lo anterior se puede afirmar que el diagnóstico precoz de gestación es una práctica justificable para aumentar la eficiencia económica del hato (17,25,34).

Un método ideal de diagnóstico de gestación debe ser precoz y capaz de identificar con eficiencia tanto a los animales gestantes como a los no gestantes. Además el método ideal debe ser sencillo, económico y que permita obtener los resultados el mismo día en que se hace la prueba.

El objetivo del presente trabajo es evaluar la sensibilidad, especificidad, precisión, valor predictivo del diagnóstico y la eficiencia global del método, del diagnóstico de gestación y no gestación basado en la utilización de un radioinmunoanálisis rápido y sencillo para la determinación de los niveles plasmáticos de progesterona en el día 18 post-servicio.

III. REVISION DE LA LITERATURA

1.- Evaluación de las pruebas de diagnóstico de gestación.

En la literatura se han evaluado muchas pruebas para el diagnóstico de gestación en la oveja (42,37,29), sin embargo la mayor parte de estas evaluaciones son incompletas, ya que solo contemplan alguno o algunos de los parámetros que se deben evaluar; por esta razón se describirán en primer lugar los parámetros que se deben evaluar en las pruebas diagnósticas.

Para poder llevar a cabo esta evaluación es necesario comparar los resultados de la prueba diagnóstica con el único diagnóstico seguro de gestación, que es la ocurrencia del parto o aborto, para obtener de esta forma el número de diagnósticos verdaderos positivos (VP), es decir las borregas diagnosticadas como gestantes por la prueba y que en realidad lo están; el número de falsos positivos (FP), es decir el número de borregas diagnosticadas por la prueba como gestantes sin estarlo realmente; el número de verdaderos negativos (VN), que es el número de borregas diagnosticadas como no gestantes y que realmente están vacías y el número de falsos negativos (FN) que son las borregas diagnosticadas como vacías cuando en realidad están gestantes (11,12).

Posteriormente con los valores anteriores es posible

calcular los siguientes parámetros (11):

Sensibilidad del diagnóstico de gestación (SDG).-

Es el porcentaje de los animales gestantes que fueron diagnosticados como tales por la prueba. Se obtiene dividiendo el número de animales verdaderos positivos entre el total de los animales gestantes (VP + FN), por lo que la fórmula es (11):

$$SDG = \frac{VP}{VP + FN} (100)$$

Especificidad de la prueba de diagnóstico de gestación (EDG):

Es el porcentaje de animales no gestantes que fueron diagnosticados como vacías por la prueba. Es decir es el resultado de dividir los verdaderos negativos entre el total de los animales vacíos, (VN + FP), que es igual a (11):

$$EDG = \frac{VN}{VN + FP} (100)$$

Precisión del Diagnóstico de Gestación (PDG).-

Es el porcentaje de animales que, siendo diagnosticados como gestantes por la prueba, realmente lo estaban. Es decir es el resultado de dividir los verdaderos positivos entre el total de los animales diagnosticados como positivos, y se calcula de acuerdo a la siguiente fórmula (11):

$$PDG = \frac{VP}{VP + FP} (100)$$

Precisión del Diagnóstico de no gestación (PDNG).-

Es el porcentaje de animales que, siendo diagnosticados como no gestantes por la prueba realmente estaban vacíos. Es el resultado de dividir los verdaderos negativos entre todos los animales diagnosticados como negativos, y se calcula de acuerdo a la siguiente fórmula (11):

$$PDNG = \frac{VN}{VN + FN} (100)$$

Eficiencia global (EG).-

Es el porcentaje de animales clasificados correctamente por la prueba. Es el resultado de dividir los verdaderos positivos más los verdaderos negativos entre el total de animales analizados y se calcula de acuerdo a la siguiente fórmula (11):

$$EG = \frac{VP + VN}{VP + FP + FN + VN} (100)$$

Valor Predictivo del Diagnóstico de gestación (VPDG).-

Es la precisión que teóricamente tendrá la prueba para diagnosticar gestación en un hato con una incidencia de gestación determinada (39). La precisión de la prueba del diagnóstico de gestación depende de la probabilidad de que un animal esté gestante, es decir de la incidencia de gestación en el grupo de animales en los que se aplicará la prueba ya que es posible demostrar que la fórmula

$$\frac{VP}{VP + FP} (100)$$

se deriva de una

fórmula más general (12) que a su vez se deriva del teorema de Bayes (28) dicha fórmula general es:

$$\frac{\left[\begin{array}{c} \text{Sensibilidad} \\ \text{Diagnóstico} \\ \text{gestación} \end{array} \right] \times \left[\begin{array}{c} \text{Incidencia de} \\ \text{gestación} \end{array} \right]}{\left[\begin{array}{c} \text{Sensibilidad} \\ \text{Diagnóstico} \\ \text{gestación} \end{array} \right] \times \left[\begin{array}{c} \text{Incidencia} \\ \text{gestación} \end{array} \right] + \left[\begin{array}{c} 1-\text{Especifici-} \\ \text{dad Diagnósti-} \\ \text{co gestación} \end{array} \right] \times \left[\begin{array}{c} \text{Inciden-} \\ \text{cia de no} \\ \text{gestación} \end{array} \right]}$$

Valor predictivo del diagnóstico de no gestación (VPDNG).-

Es la precisión que teóricamente tendrá la prueba para diagnosticar no gestación en un hato con una incidencia de gestación determinada (39). La precisión de la prueba diagnóstica de no gestación depende de la incidencia de no gestación ya que es posible demostrar que la fórmula $\frac{VN}{VN + FN}$ se deriva de (100)

una fórmula más general (12) a su vez derivada del teorema de Bayes (28), dicha fórmula general es:

$$\frac{\left[\begin{array}{c} \text{Sensibilidad} \\ \text{Diagnóstico} \\ \text{de no} \\ \text{gestación} \end{array} \right] \times \left[\begin{array}{c} \text{Incidencia} \\ \text{de no} \\ \text{gestación} \end{array} \right]}{\left[\begin{array}{c} \text{Sensibilidad} \\ \text{Diagnóstico} \\ \text{de no} \\ \text{gestación} \end{array} \right] \times \left[\begin{array}{c} \text{Inciden-} \\ \text{cia de} \\ \text{no Ges-} \\ \text{tación} \end{array} \right] + \left[\begin{array}{c} 1-\text{Especifici-} \\ \text{dad Diagnósti-} \\ \text{co no Gestac-} \\ \text{ción} \end{array} \right] \times \left[\begin{array}{c} \text{Inciden-} \\ \text{cia de} \\ \text{Gestación} \end{array} \right]}$$

Solamente es posible saber a ciencia cierta cuales animales están gestantes y cuales no en forma retrospectiva (después de los partos) en esta situación al momento de realizar la prueba diagnóstica no es posible saber si los resultados de la prueba son falsos o verdaderos, por lo tanto para calcular la precisión

de la prueba no se pueden usar las fórmulas:

$$\frac{VP}{VP + FP} (100) \quad \text{ó} \quad \frac{VN}{VN + FN} (100)$$

sino que se tiene que recurrir a la fórmula general, utilizando como probabilidad de que un animal esté gestante, la incidencia de gestaciones que se ha obtenido en el pasado en experiencias similares. Por esta razón con las fórmulas generales se está prediciendo como se comportara la prueba cuando se tenga cierta probabilidad de gestación (39).

Esto significa que el valor predictivo de una prueba de gestación o de no gestación con sensibilidad y especificidad determinada variará al cambiar la probabilidad de gestación (39, 11), y por lo tanto la utilidad de cierta prueba será diferente si la probabilidad de gestación es baja (p. ej. cuando se utiliza semen congelado) comparando con un caso en que dicha probabilidad sea alta (p.ej. cuando se utiliza monta natural en animales de primer servicio).

3.2.- Métodos de diagnóstico de Gestación.

Se han descrito en la literatura gran cantidad de métodos para diagnosticar la gestación en ovejas. Los métodos que más se han utilizado son los siguientes:

- Observación del retorno al estro (25,34,41,42,46)
- Palpación recto-abdominal (24,26,34,42,44,46)
- Biopsia vaginal (24,29,46).
- Detección de líquidos placentarios mediante ultrasonido (6,9,18,19,24,42,46)
- Detección del pulso fetal mediante ultrasonido (19,24,34,37,42)
- Ultrasonido con formación de imagen (Tiempo real) (6,9,19,39,42)
- Radiografía (24,42,46)
- Laparoscopia exploratoria (35)
- Medición de concentraciones hormonales:
 - + Medición de estrógenos (5,15,24,41).
 - + Medición de Lactógeno Placentario Ovino (14,22,31,41).
 - + Medición de progesterona en sangre por Radioinmunoanálisis (RIA) (3,5,9,10,15,21,24,32,41,46).
 - + Medición de progesterona en leche por RIA (3,25,41).
 - + Medición de progesterona en sangre por Enzimoimmunoensayo (EIA), (1,3,24,41).
- + Además en bovinos se ha realizado la prueba de medición de progesterona en leche por EIA, la cual puede en el futuro usarse también en ovejas (8,45).

A continuación se describe cada una de estas técnicas, citando sus principales ventajas y desventajas; es necesario tomar en cuenta que, de acuerdo a lo expuesto en la sección anterior, los valores de precisión informados por la mayoría de los autores solamente son aplicables si la prueba se repite en grupos de animales con exactamente la misma incidencia de gestación que el hato experimental. Por esta razón la mayoría de las publicaciones tienen el defecto de no informar sobre el valor predictivo de la prueba en hatos con diferente fertilidad, ni proveer los valores de sensibilidad y especificidad, a partir de los cuales el lector podría calcular el valor predictivo.

3.2.1. Observación de retorno al estro

Este es un método de diagnóstico temprano de no gestación ya que si los animales no quedan gestantes entrarán en calor 16-18 días después del servicio (42).

Una dificultad para la utilización de éste método consiste en que la oveja, a diferencia de la vaca, no manifiesta comportamiento homosexual al encontrarse en estro, por lo que es necesario contar con machos celadores. Además, es necesario contar con instalaciones adecuadas y personal disponible para llevar a cabo diariamente la observación de estros, que es un proceso que absorbe bastante tiempo del personal. Una desventaja adicional es que la detección de estros en las borregas es más compleja que en otras especies, pues se caracterizan por

presentar anestro estacional (24,41), por lo que el no retorno al estro debido a la gestación no se puede diferenciar del anestro estacional que se produce al final de la estación reproductiva en hembras vacías (25). Con esta técnica se ha informado que la precisión del diagnóstico positivo de gestación es del 71.8% y la precisión del diagnóstico negativo es del 96.8% (42), lo que indica que la mayoría de las hembras detectadas con retorno al estro realmente están vacías. Sin embargo la sensibilidad del diagnóstico de no gestación es muy variable ya que la capacidad de detectar a las hembras en celo se ve afectada por factores como tamaño del hato (entre más grande el hato menor la eficiencia), habilidad de los machos celadores, número de hembras por macho celador, época del año, etc.

3.2.2. Palpación recto-abdominal:

En la técnica de palpación recto-abdominal se coloca a la borrega en decúbito dorsal, se inserta un bastón con punta roma por el recto y se manipula de un lado a otro con una mano, mientras que con la mano libre se palpa la región abdominal de la borrega hasta sentir la presencia del feto entre el bastón y la pared abdominal (17,23,26,42).

A pesar de ser muy popular, precisa y económica, esta técnica tiene la desventaja de que puede provocar daños como perforaciones (1-18% de los casos) y abrasiones rectales (18-46%), así como abortos y muerte de borregas (24,44). En animales muy nerviosos puede llegar a ser necesaria la sedación (46).

Además es necesario privar a los animales de alimento durante 12 horas, colocarlos en posición dorsal y practicarles un enema con solución jabonosa, todo lo cual constituye una tensión para las borregas (2,13,23,24,37).

Otra desventaja es que este método no es muy precoz ya que debe realizarse después de 60 días de gestación para obtener una sensibilidad del 97% (23,24,26,29). Trapp, (42) reportó que la precisión del diagnóstico positivo de gestación es del 66% y la precisión del diagnóstico negativo es de; 58.9% teniendo una eficiencia global del 62.7% .

3.2.3 Método de biopsia vaginal:

La técnica se basa en el conteo del número de capas de células escamosas presentes en la vagina. Las borregas no gestantes tienen varias capas de células escamosas poligonales (8 a 10), mientras que las gestantes tienen menos capas de células y estas son cuboidales (3 a 4) (24,29). Este método es poco práctico y no puede utilizarse en la granja, pues para realizar el conteo se requiere obtener quirúrgicamente una biopsia vaginal y procesarse para su estudio histopatológico (Bearden), necesitándose de un laboratorista bien entrenado, además de que la lectura requiere rutinariamente de por lo menos 48 horas.

La precisión de este método puede ir desde un 84% (2,37), hasta un 97% (29) cuando se realiza después del día 40 de preñez, y se ha reportado una precisión del 100% si se realiza a los 80 días(24,29).

3.2.4 Métodos por Ultrasonido:

3.2.4.1 Ultrasonido para detección de líquidos:

Esta técnica se basa en la detección de una diferencia en la impedancia acústica entre los tejidos o estructuras contenidas en el cuerpo (37). Consiste en la colocación externa de un transductor en el vientre, previa aplicación de unas gotas de aceite para lograr un mejor contacto. El transductor emite ondas de ultrasonido, que viajan hacia los tejidos internos y regresan en forma de eco al receptor. Si estas ondas chocan con el útero grávido, el cual está lleno de fluidos, un eco de profundidad determinada será detectado y se indicará la gestación. (18,37).

Este método tiene entre un 90 y 100% de precisión tanto para el diagnóstico de gestación como para el de no gestación (42) y tiene la ventaja de ser económico y no requerir entrenamiento especial para el personal que lo aplique (24,37). Sin embargo no es un método precoz ya que solamente es eficaz entre los días 65 y 100 posteriores al apareamiento (2,24,25). Se pueden producir falsos positivos al llegar a confundir la señal con eco de la vejiga, piometra u otras estructuras (24,37)

3.2.4.2 Detector del pulso fetal (Doppler):

El método Doppler consiste en la inserción de un sensor en el recto de la borrega, el cual detecta el pulso fetal (20,42). Se puede aplicar algún tranquilizante subcutáneo para facilitar la inserción del sensor (20). La utilización de sensores a comparación con las pruebas externas han eliminado el problema de

las ondas de ultrasonido que se absorben por las fibras de la lana (34).

Este método ha sido comparado con el método de palpación rectoabdominal, demostrándose que la precisión en ambos es muy similar (24). Plant. (26) reporta que la precisión del diagnóstico de gestación es del 68.3% y la precisión del diagnóstico de no gestación es del 84.8%, con una eficiencia global del 72.7% entre los 60 y 96 días después del apareamiento.

Este método tampoco es muy precoz, ya que la prueba solamente es precisa después del día 40 de gestación, con 88% de precisión, y si se realiza a los 81 a 100 días se puede obtener hasta un 96% de precisión (20,23,24,37,42).

Se requiere algo de experiencia para realizar esta prueba de gestación ya que pueden detectarse sonidos como el flujo de la arteria femoral (20). La presencia de heces blandas puede interferir con la transmisión del ultrasonido y puede causar errores (20). Esto se puede evitar si se dieta a las borregas 2 o 3 días antes con forraje seco.

Una desventaja del método es que puede provocar abrasiones en la pared rectal, abortos y muertes, debidas aparentemente a infecciones subsecuentes al daño rectal causado por operadores sin experiencia (42).

3.2.4.3 Ultrasonido de tiempo real (Con formación de imagen):

Es una técnica de diagnóstico de gestación que emplea ondas de ultrasonido para generar una imagen bidimensional, la cual es fotografiada por una cámara y mostrada en una pantalla (39).

Esta técnica se puede realizar en una etapa avanzada de gestación, (días 97 al 144), con una eficiencia global del 100% (9,39). Lindhal, (19) reporta una eficiencia global del 84%. Recientemente se ha informado que el ultrasonido con formación de imágenes desarrollado para medicina humana puede ser utilizado para diagnóstico de gestación y conteo de fetos en ovejas entre los días 40 y 90 de gestación (19,39).

Para realizar la prueba se coloca la sonda del transductor en el abdomen, justamente frente a la ubre de la borrega. La oveja puede permanecer de pie y puede ser sostenida por una sola persona (39). Se emiten ondas de 3.5 Mhz que pasan al interior de la borrega y se reflejan de regreso en diferentes tiempos e intensidades desde las vísceras. Estas ondas que regresan son dirigidas hacia el instrumento explorador y son mostradas como imágenes en una pantalla de video como sombras en diferentes tonos de gris (6). La principal desventaja de esta técnica es el alto costo del equipo y el requerir de cierta experiencia para la interpretación de las imágenes.

3.2.5 Método radiográfico:

Este método tiene aplicación limitada para la investigación ya que aunque presenta un 100% de precisión, esta solamente es lograda a partir del día 70 a 90 de gestación, pues es cuando ocurre la osificación del esqueleto fetal (2,23,24). Otra desventaja es el alto costo del equipo.

Rizzoli, 1976 diseñó una técnica radiográfica móvil para utilizarse en el campo basándose en la técnica para examinar tórax de humanos.

3.2.6 Método de Laparoscopia :

Se ha informado que esta técnica es muy confiable y segura (35). Algunos investigadores mencionan que la no gestación se puede detectar tan temprano como 15 días post-servicio observando la regresión del cuerpo lúteo (35).

Al día 25 de gestación el útero muestra cierta distensión y una variación en el color de rosa brillante a azul grisáceo, los cuernos uterinos tienen apariencia segmentada y el epitelio uterino se encuentra más vascularizado en las borregas gestantes (37,35).

La principal desventaja de esta técnica es el manejo de los animales, ya que para realizarla se recomienda vaciar la vejiga para evitar puncionarla, privar a la ovejas de alimento 24 horas antes de la laparoscopia, aplicar anestesia general o tranquilizar y aplicar anestesia local. Además es necesario colocar a las borregas en posición dorsal en un ángulo de 45 grados con la cabeza hacia abajo para lograr un óptimo acceso al área anatómica (35). También es necesario contar con un operador experimentado, y el examen de cada borrega requiere de varios minutos (35).

3.2.7 Medición de concentraciones hormonales

Las investigaciones sobre reproducción en ovinos se facilitan por las técnicas de medición de las concentraciones

hormonales en varios líquidos corpóreos (3,21,24,25). Estas técnicas se han utilizado también en la vaca (15,33,36) y en la cabra (40).

La medición de hormonas se está convirtiendo, cada vez más en un importante instrumento empresarial y de diagnóstico, así como para vigilar la respuesta a diferentes tratamientos hormonales (25).

Durante mucho tiempo, uno de los principales obstáculos para la medición de las hormonas de la reproducción consistió en que los métodos químicos y de bioensayo de que se disponía carecían de la sensibilidad necesaria para detectar las bajísimas concentraciones circulantes de estas hormonas (25).

El empleo de radioisótopos, sin embargo, ha facilitado la creación de todo un grupo de técnicas, llamadas de ensayo de radioligandos, que permiten superar esta dificultad (25). Uno de éstos es el Radioinmunoanálisis (RIA). La prueba de RIA es tan sensible que permite detectar concentraciones muy bajas (pg/ml) de hormonas en la sangre periférica, prefiriéndose realizar en el plasma, aunque también es posible en el suero y en otros líquidos corporales como la leche (25,41).

3.2.7.1 Medición de estrógenos:

A pesar de que la unidad feto-placentaria comienza a producir sulfato de estrona poco después de la implantación, la hormona circula principalmente en la sangre fetal. Por esta razón las concentraciones en la sangre materna son muy bajas al inicio

de la gestación, por lo que es necesario esperar hasta los días 100 a 110 de la gestación para poder detectar la hormona y dar un diagnóstico (41). Es por esto que la medición de estrógenos se ha utilizado como una prueba tardía de gestación, entre los días 100 y 110. Las hembras con niveles mayores a 0.3 ng por ml de sangre se clasifican como gestantes (5,24,41).

3.2.7.2 Medición de lactógeno placentario ovino (LPO):

La producción de lactógeno placentario ovino (LPO) o somatotropina coriónica ovina (SCO) se ha demostrado en el trofoblasto ovino desde los días 16 y 17 de la gestación. Esta hormona es producida por los cotiledones o vellosidades coriónicas (22).

Las concentraciones de LPO en la placenta se elevan lentamente, hasta el día 100, después hay un rápido incremento, y alrededor del día 140 las concentraciones disminuyen (22).

La concentración de LPO se medía anteriormente por la actividad lactogénica de la sangre por medio de un ensayo de radioreceptores. (14,22,41).

Actualmente se han determinado concentraciones de LPO en el plasma sanguíneo de la madre, así en el plasma del cordón umbilical y en el líquido alantoideo por medio de un RIA homólogo para LPO (22,31,41).

Este método tiene la ventaja de basarse en la demostración de una proteína específica de la gestación, por lo que el riesgo de falsos positivos es mínimo (4).

Robertson, (31) afirma que este método de diagnóstico de

gestación puede ser efectivo si se utiliza a partir del día 55 después del apareamiento obteniendo un 99% de precisión.

La desventaja principal consiste en la tardía aparición del LPD en concentraciones detectables en plasma materno ya que solo se puede detectar en éste a partir del día 40 a 50 de la gestación (14).

Otra desventaja es que el método de RIA que se utiliza es complejo y los reactivos necesarios no se encuentran fácilmente disponibles.

3.2.7.3 Medición de progesterona:

Recientemente se ha demostrado que aunque la progesterona no es una hormona específica de la gestación, ya que se encuentra también en la sangre de animales vacíos durante la fase de diestro, la determinación de niveles de progesterona sanguínea puede ser utilizada para el diagnóstico de gestación cuando se conoce el día que ocurrió el apareamiento (21,25,32,40).

Tales niveles se miden directamente por radioinmunoanálisis (RIA) (21,38) habiéndose usado anteriormente en cabras (40) y en vacas (45).

En una hembra no gestante, la concentración de progesterona en el plasma declina cuando el cuerpo lúteo sufre regresión, por lo que los niveles de progesterona serán bajos entre los días 16 a 19 después del estro o servicio (48). En cambio en la hembra gestante, el cuerpo lúteo persiste, por lo que los niveles de esta hormona serán elevados durante toda la gestación, incluyendo el día 16 a 18 post-servicio (5,13,25,36,49).

Para poder efectuar la prueba de RIA se requiere un antígeno sin marcar, que es la progesterona contenida en el plasma (progesterona no marcada), antígenos marcados con isótopos radioactivos (^3H , ^{14}C , ^{125}I) que en este caso es progesterona marcada con ^{125}I y anticuerpos específicos contra progesterona. El antígeno marcado y el no marcado competirán por el anticuerpo. Determinando la cantidad de progesterona radioactiva unida al anticuerpo se podrá conocer en que proporción la hormona radioactiva fue desplazada por la hormona presente en la muestra, lo que indicará la concentración de esta última en ng/ml (43).

IV MATERIAL Y METODOS

El presente trabajo se realizó en el centro Ovino del Programa de Extensión Agropecuaria (C.O.P.E.A.) de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México.

El centro cuenta con 600 borregas, de las cuales se utilizaron 160 hembras adultas de las razas Dorset, Tarsset, Suffolk, Tabasco y cruza. Estas fueron sincronizadas reproductivamente con acetato de melengestrol (MGA) y posteriormente inseminadas artificialmente con semen fresco.

El muestreo se llevó a cabo 18 días después de la inseminación. Se obtuvieron 7 ml de sangre de la vena yugular de cada borrega utilizando tubos al vacío heparinizados. Las muestras se transportaron en refrigeración a 4°C al Departamento de Reproducción de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia donde se centrifugaron durante 10 minutos a 1500-2000 revoluciones por minuto para separar el plasma, el cual se colocó en tubos de ensayo previamente identificados. El plasma se mantuvo congelado a una temperatura de -20°C hasta el momento de ser analizado. La determinación de los niveles de progesterona se realizó por medio de un radioinmunoanálisis comercial de fase sólida que utiliza ¹²⁵I como trazador y que está constituido por:

-Tubos de polipropileno cubiertos en su interior con anticuerpos específicos contra progesterona.

-Progesterona marcada con 125-I.

-Plasma bovino conteniendo cantidades conocidas de progesterona (0, 0.393, 0.786, 1.572, 3.144, 6.289, 12.578 ng/ml), los cuales se utilizan como estándares para la curva de calibración. Cada curva standard puede ser utilizada para procesar 200 muestras sin alterarse.

-Controles de calidad, uno con un nivel bajo de progesterona y otro con un nivel alto de progesterona que se incluyen en cada grupo de estándares.

Este sistema ha sido utilizado y validado para la determinación de progesterona en la yegua, perra y vaca (38).

El RIA se realizó de la siguiente forma:

Los tubos del ensayo se dividieron en cuatro grupos:

1.-Tubos de la curva de calibración, dos tubos para cada punto de la curva.

2.-Tubos destinados a control de calidad, dos tubos para el control alto y dos para el control bajo.

3.-Tubos para las muestras de plasma ovino, un tubo para cada muestra destinada al diagnóstico de gestación.

4.-Tubos para cuentas totales, dos tubos.

En cada uno de los tubos de la curva de calibración se colocaron 100 μ l del estándar correspondiente y se le adicionó 1 ml de progesterona marcada.

En dos de los tubos destinados al control de calidad se colocaron 100 μ l del control alto y 1 ml de progesterona marcada y en los otros dos tubos se colocaron 100 μ l del control bajo y 1 ml de progesterona marcada.

En cada una de los tubos para las muestras se colocaron 100 μ l del plasma respectivo ovino para diagnóstico de gestación y 1 ml de progesterona marcada.

En cada tubo para cuentas totales se colocó solamente 1 ml de progesterona marcada.

Los tubos se dejaron incubar durante 4 horas a temperatura ambiente.

Pasado el tiempo de la incubación se decantaron todos los tubos (excepto el de cuentas totales) y se esperó de 2 a 3 minutos para que escurrieran. Posteriormente se golpearon sobre papel absorbente para eliminar las gotas restantes. En seguida se colocaron en un contador de rayos Gamma (modelo Packard multi-Prias 4), el cual cuenta la radioactividad liberada por cada muestra durante un minuto.

Utilizando las cuentas por minutos emitidas por los estándares se calculó una curva de calibración con la cual se compararon las cuentas emitidas por las muestras de plasma ovino para determinar la concentración de progesterona, expresándola en ng/ml de plasma.

De acuerdo a lo informado en la literatura con respecto a concentraciones de progesterona en el día 18 post-estro en borregas gestantes y no gestantes los niveles superiores a 1 ng de progesterona por ml de sangre se consideraron como positivos y los inferiores a éste nivel como negativos (40,49).

El diagnóstico definitivo se estableció con base a las pariciones.

Al comparar los resultados del RIA con los de las pariciones se obtuvo el número de diagnósticos verdaderos positivos (VP), falsos positivos (FP), verdaderos negativos (VN) y falsos negativos (FN).

Utilizando estos valores se calculó:

La sensibilidad del diagnóstico de gestación.

La especificidad del diagnóstico de gestación.

Precisión del diagnóstico positivo

Precisión del diagnóstico negativo

Eficiencia global del método

Para realizar dichos cálculos se utilizaron las siguientes fórmulas (11):

Sensibilidad del diagnóstico de gestación :

$$\frac{VP}{VP + FN} (100)$$

Especificidad del diagnóstico de gestación :

$$\frac{VN}{VN + FP} (100)$$

Precisión del diagnóstico positivo:

$$\frac{VP}{VP + FP} (100)$$

Precisión del diagnóstico negativo:

$$\frac{VN}{VN + FN} (100)$$

Eficiencia global del método:

$$\frac{VP + VN}{VP + FP + FN + VN}$$

Para calcular el valor predictivo del diagnóstico de gestación se utilizó la fórmula general:

$$\left[\begin{array}{l} \text{Sensibilidad} \\ \text{diagnóstico} \\ \text{gestación} \end{array} \right] \times \left[\begin{array}{l} \text{Incidencia de} \\ \text{gestación} \end{array} \right]$$

$$\left[\begin{array}{l} \text{Sensibilidad} \\ \text{diagnóstico} \\ \text{gestación} \end{array} \right] \times \left[\begin{array}{l} \text{Incidencia} \\ \text{de gestación} \end{array} \right] + \left[\begin{array}{l} 1-\text{Especifi-} \\ \text{dad diagnós-} \\ \text{tico de ges-} \\ \text{tación} \end{array} \right] \times \left[\begin{array}{l} \text{Incidencia} \\ \text{de no} \\ \text{gestación} \end{array} \right]$$

La cual se repitió utilizando diferentes incidencias de gestación.

Y para calcular el valor predictivo del diagnóstico

de no gestación se utilizó la fórmula general (11):

$$\frac{\left(\begin{array}{c} \text{Sensibilidad} \\ \text{diagnóstico} \\ \text{no gestación} \end{array} \right) \times \left(\begin{array}{c} \text{Incidencia} \\ \text{de no} \\ \text{gestación} \end{array} \right)}{\left(\begin{array}{c} \text{Sensibilidad} \\ \text{diagnóstico} \\ \text{no gestación} \end{array} \right) \times \left(\begin{array}{c} \text{Incidencia} \\ \text{de no} \\ \text{gestación} \end{array} \right) + \left(\begin{array}{c} \text{1-Especificidad} \\ \text{diagnóstico de} \\ \text{no gestación} \end{array} \right) \times \left(\begin{array}{c} \text{Incidencia} \\ \text{de} \\ \text{gestación} \end{array} \right)}$$

La cual se repitió utilizando diferentes incidencias de no gestación.

V. RESULTADOS

Al revisar las fechas del parto de las borregas se encontró que 127 de las 160 borregas utilizadas quedaron gestantes en el servicio estudiado, lo que indica un índice de concepción del 79.3%.

Al comparar los resultados del diagnóstico de gestación a los 18 días con las pariciones se encontraron los siguientes resultados:

VP=	125
VN=	19
FN=	2
FP=	14

La sensibilidad del diagnóstico de gestación fue de 98.4% indicando que este porcentaje de los animales gestantes fueron diagnosticados como tales.

La especificidad del diagnóstico de gestación fue de 57.7% , indicando que el 42.3% de los animales vacíos no fueron detectados como tales.

La precisión del diagnóstico positivo fue de 89.9 % lo que indica que existe tal probabilidad de que un animal diagnosticado como gestante realmente lo esté.

La precisión del diagnóstico negativo fué de 90.47%, lo que indica que existe tal probabilidad de que un animal diagnosticado como vacío realmente lo esté.

La eficiencia global del metodo fue del 90%.

Asumiendo que la sensibilidad y la especificidad de la prueba se mantienen constantes, es posible determinar cual será la precisión de la prueba al utilizarla en hatos con diferente fertilidad. En este caso, la estimación de la precisión se denomina valor predictivo. En el cuadro 1 se presenta el valor predictivo de la prueba de RIA utilizada en este trabajo para el diagnóstico de gestación en hatos con diferente fertilidad asumiendo una sensibilidad del 98.4% y una especificidad del 57.7%.

En el cuadro 1 tambien se muestra la ventaja que se obtiene al aplicar la prueba con respecto a la selección aleatoria de hembras, tomando en cuenta que si por sorteo se clasificara a las hembras como gestantes o vacias, el porcentaje de aciertos sería igual al porcentaje de hembras gestantes en el grupo (fertilidad).

En el cuadro 2 se presenta el valor predictivo de la prueba de RIA para diagnóstico de no gestación en hatos con diferente fertilidad.

En el cuadro 2 también se muestra la ventaja en precisión que se obtendría, en hatos con diferente fertilidad, al seleccionar a las borregas gestantes por medio del RIA aquí propuesto, comparado con la precisión que se obtendría si se seleccionan por sorteo las borregas vacias. Esta ventaja llegará a ser hasta de un 70% cuando la prueba se aplica en hatos con alta fertilidad.

VI. DISCUSION

En este trabajo la sensibilidad del diagnóstico de gestación fue muy elevada (98.4%), indicando que casi todos los animales gestantes fueron detectados por la prueba. Solamente dos animales gestantes tuvieron niveles de progesterona menores a 1 ng/ml al momento de obtener la muestra de sangre (0.079 y 0.196 ng/ml respectivamente). Debido a que la progesterona es indispensable para el mantenimiento de la gestación (5) o más probable es que los niveles extremadamente bajos encontrados en estos dos animales se debieran a errores en la identificación de los animales o de las muestras. Esto indicaría que la prueba tiene el potencial para detectar a la mayoría de los animales gestantes, aunque se puede esperar un margen de falla reducido.

En cambio, la especificidad del diagnóstico de gestación fue mucho más baja (57.7%), lo cual indica que aproximadamente un 42% de los animales que no parieron habían sido diagnosticados como gestantes. Este resultado es esperado ya que existen varias razones por las que una borrega no gestante puede tener realmente niveles elevados de progesterona en el día 18 post-servicio. La principal causa de esto es la mortalidad embrionaria después del día 14 post-servicio, ya que en este caso el reconocimiento de la gestación ya ha ocurrido, por lo que la fase lútea se alarga aunque el embrión ya no esté presente (22,25,41). También puede ocurrir que el embrión efectivamente esté presente en el día 18

post-servicio pero sea reabsorbido o abortado posteriormente sin que el aborto se detecte. En estos casos la borrega no llega a parir y el resultado de la prueba es clasificado como falso positivo aunque el animal realmente estaba gestante al realizar la prueba.

Una tercera causa de que los niveles de progesterona estén elevados en el día 18 post-servicio en hembras vacías es la persistencia espontánea del cuerpo lúteo, la cual ocurre en un porcentaje reducido de animales, aparentemente por una falla en el mecanismo de liberación pulsátil de prostaglandina F2 alfa (17,47).

Una última razón para que se presenten estos falsos positivos es la variabilidad natural en la longitud del ciclo estral de la borrega (48), que puede hacer que ciertos animales que se encuentran ciclando tengan un cuerpo lúteo funcional en el día 18 post-servicio.

En este trabajo la precisión que se obtuvo para el diagnóstico de gestación fue de un 89.9%, lo que indica que si la prueba se hubiera utilizado para seleccionar animales gestantes (por ejemplo para venta, para alimentación especial, etc.) hubiese habido un 9.1% de animales no gestantes que se mezclarían con los gestantes. Esta precisión fue superior a las informadas por Rawlings (27) (40-70%) y por Thimonier (41) (83.5%). Sin embargo es necesario aclarar que si bien la precisión depende de la sensibilidad y especificidad de la prueba, es además directamente proporcional a la fertilidad (índice de concepción) de los animales en que se aplique la prueba. Esto ha sido demostrado con datos reales obtenidos

cuando una misma prueba se ha utilizado en hatos con diferente fertilidad (41). La alta precisión del diagnóstico de gestación encontrada en este trabajo puede entonces explicarse porque un porcentaje elevado (79.3%) de las borregas en que se aplicó la prueba estaban gestantes.

Como se puede observar en el cuadro 1, el valor predictivo de la prueba se eleva conforme se eleva la fertilidad, pero la ventaja derivada de la aplicación de la prueba aumenta hasta llegar a un máximo al aplicarse en hatos con un 50% de fertilidad y luego disminuye. La precisión derivada de la utilización de la prueba es en el mejor de los casos un 20% superior a la que se obtendría si la selección de los animales gestantes se realizara por sorteo. Esto indica que la prueba es más útil para el diagnóstico de no gestación.

Como resultado de los parámetros anteriores, y del índice de concepción de las borregas utilizadas (79.3%), la precisión del diagnóstico de no gestación fue del 90.5%, la cual es ligeramente inferior al 96% informado por Rawlings (27) y al 99.6% informado por Thimonnier (41).

Como una explicación a esta precisión inferior es necesario recordar que, inversamente a lo que ocurre con la precisión de una prueba de gestación, la precisión de una prueba de no gestación disminuye conforme aumenta la fertilidad del hato en el que se aplica. La alta fertilidad del hato investigado en este estudio puede entonces explicar la precisión obtenida.

Como se puede observar en el cuadro 2, el valor predictivo de la prueba de no gestación objeto del presente estudio es del 97.3% al aplicarse en hatos con 50% de fertilidad, lo que está muy cercano a la precisión del 99.6% encontrada por Thimonier al utilizar otra técnica de radioinmunoanálisis en un hato con 48% de fertilidad.

Estos resultados demuestran que la prueba es útil para el diagnóstico de no gestación, ya que aunque solamente detecta al 57.7% de las hembras no gestantes, se tiene una alta seguridad de que las hembras detectadas realmente estén vacías, lo que permite implementar las medidas pertinentes (eliminación, tratamientos, etc) disminuyendo el riesgo de afectar a hembras gestantes que por error fueran clasificadas como vacías.

La eficiencia global del método fue del 90%, lo que indica que el 90% del total de los diagnósticos (positivos o negativos) fueron acertados. Esta eficiencia es similar a la reportada por otros autores utilizando métodos más complicados para la determinación de progesterona (27,32,41) lo que indica la utilidad de esta prueba.

VII. CONCLUSIONES

Debido a la sencillez del método de RIA de fase sólida para la determinación de progesterona, a la posibilidad de analizar hasta 400 muestras simultáneamente obteniéndose el resultado el mismo día en que se haga el muestreo, y a que los resultados son comparables a los que se han obtenido con métodos más complicados de radioinmunoanálisis, se concluye que el método evaluado en el presente trabajo es una alternativa útil, especialmente para el diagnóstico de no gestación en hatos ovinos en explotaciones intensivas.

Este método de diagnóstico puede introducirse en los países en desarrollo, tal vez vinculándolo al servicio de inseminación artificial y a los programas de extensión, como alternativa a los servicios de diagnóstico de preñez aunque los costos que entraña la realización de ensayos hormonales pueden a primera vista impedir su empleo en los países en desarrollo, conviene recordar que las ganancias que cabe esperar de la aplicación de estas técnicas para la rápida multiplicación de ganado genéticamente superior pueden ser sustanciales y, desde el punto de vista económico, a la larga se justifica su empleo .

VIII. LITERATURA CITADA

- 1.-AMEZCUA, R.: Diagnóstico de gestación en ovejas mediante la determinación de los niveles de progesterona en el día 18 post-servicio usando la técnica de Enzimoimmunoensayo. Tesis de licenciatura. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F., 1988.
- 2.-BEARDEN, J. and FUQUAY, J. : Reproducción Animal Aplicada, Edit. El Manual Moderno, México, (1982).
- 3.-BOOTH, J.M.: Milk Progesterone Pregnancy Testing in Cattle and other Species. Proceedings of 9th International Congress on animal Reproduction and Artificial Insemination, Madrid, España, RT C-2:109-117 (1980).
- 4.-CERINI, M., CERINI, J.C., FINDLAY, J.K. and LAWSON, R.A.S.: Preliminary Characterization of Pregnancy Specific Antigens in the Ewe. Proceedings of the Australian Society for Reproductive Biology (1980).
- 5.-CURRIE, B.W.: Endocrinology of pregnancy and parturition in sheep and goats. Management of Reproduction in Sheep and Goats Symposium University of Wiconsin, Wiconsin 72-78 (1977).
- 6.-DAVEY, C.G.: An evaluation of pregnancy testing in sheep using a real-time ultrasound scanner, Aus. Vet. J., **63**:347-348, (1986).
- 7.-FRASER, A.F., NAGARATNAM, V. and CALLICOTT, R.B.: The comprehensive use of doppler ultrasound in farm animal reproduction. Vet. Rec., **88**:202-205, (1971).
- 8.-FOULKES, J.A., COOKSON, A.D. and SAUER, M.S.: AI in cattle based on daily microtitre plate enzyme immunoassay of progesterone in whole milk. Brit. Vet. J., **138**:515-521 (1982).
- 9.-FUKUI, Y., KOBAYASHI, M., TSUBAKI, M., TETSUKA, M., SHIMODA, K. and ONO, H.: Comparison of two ultrasonic methods for multiple pregnancy diagnosis in sheep and indicators of multiple pregnant ewes in the blood. Anim. Reprod. Sci., **11**: 25-33, (1986).
- 10.-GADSBY, J.E., HEAP, R.B., POWELL, D.G. and WALTERS, D.E., Diagnosis of pregnancy and of the number of the fetuses in sheep from plasma progesterone concentrations. Vet. Rec., **90**: 339-342, (1972).

- 11.-GALEN,S.R.: New math in the lab. Predictive value theory. Diagnostic Medicing,31-39 (1979).
- 12.-GERTSMAN,B. and CAPPUCCI,D., Evaluating the reliability of diagnostic test results. JAVMA,188:248-251 (1986).
- 13.-HAFEZ,E.S.E.:Reproduction in Farm Animals,4th ed. Lea and Febiger,Philadelphia, (1980).
- 14.-HANDMERGER,D.,CRENSHAW,C.J., MAURER,W.F., BARRET,J., HURLEY,T.W., GOLANDER,A. and FELLOWS,R.E.: Studies on ovine placental lactogen secretion by homologous radioimmunoassay. J. Endocr.,72:27-34,(1977).
- 15.-HEAP,R.B. and HAMON,M.: Oestrone sulphate in milk and its association with pregnancy. Brit. Vet. J.,137:561-571,(1981).
- 16.-HOOPER, S.B. and THORBURN,G.D.:Prostaglandin F2a and oxytocin release during persistence of the corpus luteum in sheep. Acta Endocrinologica (Copenh),115:469-477,(1987).
- 17.-HULET,C.V.: Management of reproduction in sheep. Management of Reproduction in Sheep and Goats Symposium.University of Winsconsin, Winsconsin 119-131 (1977).
- 18.-LANE,S.F. and LEWIS, P.E. Detection of pregnancy in ewe with the ultrasonic scanopreg. J. Anim. Sci.,52:463-467,(1981).
- 19.-LINDHAL,L.I.: Pregnancy diagnosis in ewe by ultrasonic scanning. J. Anim. Sci., 43:1135-1140,(1975).
- 20.-LINDHAL,L.I.:Pregnancy diagnosis in the ewe by intrarectal doppler. J. Anim. Sci., 32:922-925,(1971).
- 21.-MAC DONNELL,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).
- 22.-MARTAL,J. and DJIANE,J.: The production of chorionic somatomammotrophin in sheep. J. Reprod. Fert.,49:285-289,(1977).
- 23.-MEMON,M.A. and OTT,R.S.: Methods of pregnancy diagnosis in sheep and goats. Cornell Vet.,70:226-231,(1979).
- 24.-OTT,R.S. and MEMON,M.A.: Pregnancy diagnosis. Sheep and Goat Manual Society for Theriogenology,x:34-36 (1980).

- 25.-PERERA, M.A.O. y ABEYRATNE, A.S.: El empleo de técnicas nucleares para mejorar la aptitud reproductora del ganado doméstico. Rev. Mundial de Zootecnia, 32:2-8, (1979).
- 26.-PLANT, J.W.: Evaluation of a rectal-abdominal palpation technique for pregnancy diagnosis in sheep. Australian Vet. J., 50:178-179, (1974).
- 27.-RAWLINGS, N.C., JEFFCOATE, I.A., SAVAGE, N.C., STEUART, D.M.K. and STEUART, L.H.M.: Pregnancy diagnosis and assessment of fetal numbers in the ewe in a commercial setting. Theriogenology, 19:655-663, (1983).
- 28.-REMINGTON, D.R. and SCHORK, M.A.: Statistics with Applications to the Biological and Health Sciences. Prentice Hall, Inc. (1970).
- 29.-RICHARDSON, C.: Diagnosis of pregnancy in the ewe by vaginal biopsy. Brit. Vet. J., 128:316-329, (1972).
- 30.-RIZZOLI, D.J., WINFIELD, C.G., HOWARD, T.J. and ENGLUND, I.K.J.: Diagnosis of multiple pregnancy in ewes on a field scale. J. Agric. Sci., 97:671-677, (1976).
- 31.-ROBERTSON, H.A., CHAN, J.S.D., HACKETT, A.J., MARCUS, G.T. and FRIESEN, H.G.: Diagnosis of pregnancy in the ewe at mid-gestation. Anim. Reprod. Sci., 3:67-71, (1980).
- 32.-ROBERTSON, H.A. and SARDA, I.R.: A very early pregnancy test for mammals: Its application to the cow, ewe and sow. J. Endocrin., 49:407-419, (1971).
- 33.-SAIZ, C.F. and PEREZ, G.T.: Pregnancy diagnosis from milk: latest results from Spain. Brit. Vet. J., 138:538-542 (1982).
- 34.-SCOTT, E.G.: The Sheepman's Production Handbook. 2a ed. Abegg Printing Co, Colorado (1977).
- 35.-SEEGER, K.H. and KLATT, P.R.: Laparoscopy in the Sheep and Goat. Animal Laparoscopy. Williams and Wilkins, p.107-120 (1979).
- 36.-SHEMMESH, M.: Progesterone cyclicity and the effect of the conceptus on plasma progesterone in cattle and sheep. Proceedings of 7th International Congress on Animal Reproduction and Artificial Insemination, Madrid, España, RI-CI: 103-108 (1980).
- 37.-SORENSEN, A.: Animal Reproduction. Mc. Graw Hill. U.S.A., 1979.

- 38.-SRIKANDAKUMAR,A., INGRAHAM,R.H., ELLSWORTH,M., ARCHBALD,L.F., LIAO,A. and GODKE,R.A.: Comparison of a solid phase no-extraction radioimmunoassay for progesterone with an extraction assay for monitoring luteal function in the mare, bitch, and cow. Theriogenology,26:779-793 (1986).
- 39.-TAVERNE,M.A.M.,LAVOIR,M.C.,VAN OORD,R. and VAN DER WEYDEN,G.C.:Accuracy of pregnancy diagnosis and prediction of foetal numbers in sheep with linear-array real-time ultrasound scanning.The Veterinary Quarterly,7:256-263(1985).
- 40.-THIBIER,M.,JEAN GUYOT,N. and DE MOTGNY,G.:Accuracy of early pregnancy diagnosis in goats based on plasma and milk progesterone concentrations.Int. Goat and Sheep Research,2:1-6 (1982).
- 41.-THIMMONIER,J.B.,DJIANE,J.,MARTAL,J. and TERQUI,M.:Hormonal diagnosis of pregnancy and number of fetuses in sheep and goat symposium. University of Wisconsin, 79-88, (1977).
- 42.-TRAPP,M.J. and SLYTER,A.L.:Pregnancy diagnosis in the ewe.J. Anim. Sci.,57:1-5(1983).
- 43.-TIZARD,I.:Inmunología Veterinaria,2a ed., Ed. Interamericana, México,D.F., (1984).
- 44.-TYRREL,R.N. and PLANT,J.W.:Rectal damage in ewes following pregnancy diagnosis by rectal-abdominal palpation.J. Anim. Sci.,49:348-350 (1979).
- 45.-VAN DE WIEL and KOOPS,W.: Direct measurement of progesterone in milk and plasma by a sensitive and simple enzyme immunoassay,Brit. Vet. J.,138:454 (1982).
- 46.-WEST,D.M.:Pregnancy Diagnosis in the Ewe. Current Therapy in Theriogenology. W.B. Saunders Comp. 850-852 (1986).
- 47.-ZARCO,L., STABENFELDT,G.H., KINDAHL,H., QUIRKE,J.F. and GRANSTROM,E.: Persistence of luteal activity in the nonpregnant ewe. Anim. Reprod. Sci.,7:245-267, (1984).
- 48.-ZARCO,L., STABENDELDT,G.H., QUIRKE,J.F., KINDAL,H. and BRADFORD,G.E.: Release of prostaglandin F2 and the timing of events associated with luteolysis in ewes with oestrus cycles of different lengths. J. Reprod. Fert.,83:517-526, (1988).

49.-ZARCO, L., STABENFELT, G.H., BASU,S., BRADFORD, G.E. and KINDAHL,H.: Modification of prostaglandin F-2a synthesis and release in the ewe during the initial establishment of pregnancy. *J. Reprod. Fert.*, **83**:527-536 (1988).

IX. CUADROS

Cuadro 1. Valor predictivo del diagnóstico de gestación mediante la determinación de progesterona plasmática en el día 18 post-servicio utilizando un radioinmunoanálisis de fase sólida en hatos con diferentes niveles de fertilidad.

Fertilidad del ható %	Valor predictivo del sorteo (VPS) %	Valor predictivo del Diagnóstico por RIA (VP RIA) %	Incremento en la precisión (IP) %
0	0	0	0
10	10	20	10
20	20	37	17
30	30	50	20
40	40	60	20
50	50	70	20
60	60	78	18
70	70	84	14
80	80	90	10
90	90	95	5
100	100	100	0

(VPS) Es la probabilidad de que una hembra elegida como gestante mediante sorteo (azar), realmente esté gestante.

(VP RIA) Es la probabilidad de que una hembra elegida como gestante por el radioinmunoanálisis de fase sólida realmente lo esté. Se asume que la sensibilidad se mantiene en 98.4% y la especificidad en 57.7%.

(IP) Es la resta de (VP RIA)-(VPS)

Cuadro 2. Valor predictivo del diagnóstico de no gestación

mediante la determinación de progesterona plasmática en el día 18 post-servicio utilizando un radioinmunoanálisis de fase sólida en hatos con diferentes niveles de fertilidad.

Fertilidad del hato %	Valor predictivo del sorteo (VPS) %	Valor predictivo del diagnóstico por RIA (VP RIA) %	Incremento en la precisión (IP) %
0	100	100	0
10	90	99.7	9.7
20	80	99.3	19.3
30	70	98.8	28.8
40	60	98.1	38.1
50	50	97.3	47.3
60	40	96.0	56.9
70	30	93.9	63.9
80	20	90.0	70.0
90	10	80.0	70.0
100	0	0	0

(VPS) la probabilidad de que una hembra elegida como vacía mediante sorteo realmente esté vacía.

(VP RIA) Es la probabilidad de que una hembra elegida como vacía por el radioinmunoanálisis de fase sólida realmente lo está. Se asume que la sensibilidad del diagnóstico de no gestación se mantiene en 57.7% y su especificidad en 98.4%.

(IP) Es la resta de (VP RIA)-(VPS).