



FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD



COMPARACIÓN DEL RESULTADO DE LA PRUEBA ELISA IDEXX RAPID PREGNANCY TEST EN VACAS GESTANTES, CON ECOGRAFÍA, EN LA HACIENDA SANTA CLARA DE LA PROVINCIA DEL CARCHI, ECUADOR.



AUTOR

Julio Andrés Hernández Solís

AÑO

2020



FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

Comparación del resultado de la prueba ELISA IDEXX Rapid Pregnancy Test en vacas gestantes, con ecografía, en la hacienda Santa Clara de la provincia del Carchi, Ecuador.

Trabajo de Titulación presentado en conformidad con los requisitos establecidos para optar por el título de Médico Veterinario Zootecnista

Profesor Guía

Cristian Fernando Cárdenas Aguilera

Autor

Julio Andrés Hernández Solís

Año

2020

DECLARACIÓN DEL PROFESOR GUÍA

“Declaro haber dirigido el trabajo, Comparación del resultado de la prueba ELISA IDEXX Rapid Pregnancy Test en vacas gestantes, con ecografía, en la hacienda Santa Clara de la provincia del Carchi, Ecuador, a través de reuniones periódicas con el estudiante Julio Andrés Hernández Solís, en el semestre 2020-10, orientando sus conocimientos y competencias para un eficiente desarrollo del tema escogido y dando cumplimiento a todas las disposiciones vigentes que regulan los Trabajos de Titulación”.



Cristian Fernando Cárdenas Aguilera

Médico Veterinario Zootecnista

C.I. 1718185778

DECLARACIÓN DEL PROFESOR CORRECTOR

“Declaro haber revisado este trabajo, Comparación del resultado de la prueba ELISA IDEXX Rapid Pregnancy Test en vacas gestantes, con ecografía, en la hacienda Santa Clara de la provincia del Carchi, Ecuador, del estudiante Julio Andrés Hernández Solís, en el semestre 2020-10, dando cumplimiento a todas las disposiciones vigentes que regulan los Trabajos de Titulación”.



Dr. Martín Alonso Ortíz Vinueza.
Médico Veterinario, MSc.
C.I. 0601272925

DECLARACIÓN DE AUTORÍA DEL ESTUDIANTE

“Declaro que este trabajo es original, de mi autoría, que se han citado las fuentes correspondientes y que en su ejecución se respetaron las disposiciones legales que protegen los derechos de autor vigentes”.



Julio Andrés Hernández Solís

C.I. 1717466591

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a mis padres y hermana, quienes fueron mi apoyo incondicional durante el transcurso de mi carrera, de igual manera al Dr. Cristian Cárdenas por ser mi guía durante la realización de este trabajo de titulación.

DEDICATORIA

Dedico este trabajo de titulación a mi padre Julio Hernández, a mi madre María Elena Solís, por ser el soporte de mi formación académica, a Karla Borja por su apoyo y amor en todo momento del transcurso de esta carrera.

RESUMEN

En el Ecuador, las pruebas diagnósticas de gestación temprana en bovinos se limitan a pruebas operario dependientes como la ecografía y palpación rectal, sin embargo, se desconoce el uso de nuevas pruebas diagnósticas usando kits con suero sanguíneo, siendo el objetivo de la presente investigación comparar el resultado de dos pruebas diagnósticas de gestación temprana, el kit Elisa IDEXX versus ecografía transrectal. La investigación se realizó en una hacienda en el cantón San Pedro de Huaca, la cual cuenta con un total de 222 bovinos de razas lecheras entre ellas Brown Swiss, Holstein y Montbéliarde, siendo escogidas 42 vacas bajo criterios de inclusión y exclusión, las mismas que fueron sometidas a dos métodos diagnósticos de gestación aplicados al mismo tiempo en cuatro muestreos, a los días 0, 28, 45 y 60 post servicio, para poder evaluar los resultados entre pruebas. Para el análisis estadístico se aplicó estadística no paramétrica a los resultados obtenidos de las dos pruebas diagnósticas en donde en el primer, tercer y cuarto muestreo tanto del kit Elisa como de ecografía alcanzaron los mismos resultados, adicionalmente la prueba del Coeficiente Kappa de Cohen y de chi cuadrado se utilizaron en el segundo muestreo en el cual existió una desviación en el resultado en la identificación de vacas vacías con el kit Elisa IDEXX el cual detectó 2,8% animales negativos (1) a diferencia de la ecografía que lo detectó como positivo, siendo esta última incorrecta, no obstante el resultado para los dos métodos diagnósticos se encuentran estrechamente relacionadas debido a que estadísticamente no es calculable porque no existe una variación entre los resultados de las pruebas diagnósticas, aceptando la hipótesis nula porque el grado de significancia obtenido de la prueba del Coeficiente Kappa de Cohen fue menor a 0,05 (,000).

Palabras clave: Gestación, Kit Elisa IDEXX, ecografía, bovino, diagnóstico.

ABSTRACT

In Ecuador, diagnostic tests for early pregnancy in cattle are limited to dependent operative tests such as ultrasound and rectal palpation, however, the use of current diagnostic tests using blood serum kits is unknown, the objective of this investigation is to compare the results of two early pregnancy diagnostic tests, the Elisa IDEXX kit versus transrectal ultrasound. The investigation was conducted at a farm in the San Pedro de Huaca canton, which has 222 dairy cattle of breeds such as Brown Swiss, Holstein and Montbeliarde where 42 cows being chosen under inclusion and exclusion criteria were subjected to two diagnostic methods of gestation, both of them applied at the same time in four samples, on days 0, 28, 45 and 60 post-service, to be able to evaluate the results between tests. For the statistical analysis, non-parametric statistics were applied to the results obtained from the two diagnostic tests. In the first, third and fourth samples of both methods, the Elisa and ultrasound kit achieved the same results, in the other hand the Cohen Kappa Coefficient test and chi square were used in the second sampling and there was a deviation in the result in the identification of not pregnant cows with the Elisa IDEXX kit which detected 2.8% negative animals (1) unlike the ultrasound that detected it as positive , the last one being incorrect, however the result for the two diagnostic methods is closely related because it is not statistically calculable because there was no variation between the results of the diagnostic tests, accepting the null hypothesis because the degree of significance obtained from Cohen's Kappa Coefficient test was less than 0.05 (.000).

Key words: Gestation, Elisa IDEXX Kit, ultrasound, bovine, diagnosis.

ÍNDICE

Capítulo I: Introducción	1
1.1. Objetivos	3
1.1.1. Objetivo general	3
1.1.2. Objetivos específicos	3
1.2. Hipótesis	3
Capítulo II: Marco teórico	4
2.1. Periodo embrionario	4
2.1.2. Etapa I – del cigoto.	4
2.1.3. Etapa II – del embrión.	5
2.1.4. Crecimiento fetal	6
2.2. Endocrinología bovina de la gestación	7
2.2.1 Señales embrionarias de la gestación	7
2.2.3. Glicoproteínas asociadas a la gestación (Pregnancy-associated glycoprotein - PAG)	10
2.2.4. Muerte embrionaria	11
2.4. Técnicas diagnósticas de gestación en vacas	13
2.4.1. No retorno al estro	13
2.4.2. Palpación rectal	14
2.4.2.1. Cambios uterinos	14

2.4.2.2. La vesícula amniótica	15
2.4.2.3. Membranas fetales.	15
2.4.2.4. Palpación de placentomas.....	16
2.4.2.5. Palpación del feto	16
2.4.2.6. Palpación de la arteria uterina – <i>fremitus</i>	19
2.4.3. Ecografía transrectal.....	19
2.4.4. Detección de PAG	22
Capítulo III: Materiales y métodos	24
3.1. Ubicación	24
3.2. Población y muestra.....	25
3.2.1. Criterios de inclusión y exclusión.....	25
3.3. Materiales	26
3.3.1. Campo y laboratorio	26
3.3.2. Oficina.....	27
3.4. Metodología.....	27
3.4.1. Sincronización e inseminación artificial.....	27
3.4.2. Determinación de gestación	27
3.4.3. Comparación del resultado de los métodos diagnósticos	28
3.4.4. Variables	28
3.5. Análisis estadístico	29

Capítulo IV: Resultados y discusión	31
4.1. Resultados	31
4.1.1. Prueba del Coeficiente Kappa de Cohen.....	32
4.1.2. Prueba del Chi cuadrado.	33
4.2. Discusión	33
4.3. Limitantes.....	35
Capítulo V: Conclusiones y recomendaciones.....	36
5.1. Conclusiones	36
5.2. Recomendaciones	36
REFERENCIAS.....	38

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Medida céfalo – caudal en fetos bovinos con la edad aproximada en días.....	17
Tabla 2. Cambios estructurales durante el desarrollo y crecimiento fetal.....	18
Tabla 3. Características de acuerdo con la fecha del chequeo ginecológico con ecografía transrectal.....	21
Tabla 4. Rango de los datos meteorológicos en el año 2015.....	25
Tabla 5. Criterios de inclusión y exclusión.....	26
Tabla 6. Fechas de muestreo.....	28
Tabla 7. Operacionalización de variables de estudio.....	29
Tabla 8. Resultados kit Elisa IDEXX y ecografía del total de animales en cuatro muestreos.....	31
Tabla 9. Tabla cruzada KIT ELISA * ECOGRAFÍA Coeficiente Kappa de Cohen.....	32
Tabla 10. Medidas simétricas Coeficiente Kappa de Cohen.....	32
Tabla 11. Prueba de chi-cuadrado del segundo muestreo	33

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Desarrollo esquemático de un embrión bovino desde la fertilización hasta el día 30.	6
Figura 2. Feto bovino	17
Figura 3. Diagnóstico gestacional mediante ecografía transrectal.....	21
Figura 4. Ubicación geográfica de la hacienda Santa Clara.	24

Capítulo I: Introducción

El crecimiento de la productividad de los hatos ganaderos está dado por el diagnóstico temprano de la gestación, para lo cual, actualmente existen distintos métodos diagnósticos: palpación rectal, ecografía transrectal y pruebas sanguíneas (Northrop, Rich, Rhoades, & Perry, 2019).

El avance más reciente en el diagnóstico de preñez implica el uso de análisis de sangre, como la prueba ELISA IDEXX Rapid Pregnancy Test (Thatcher, 2017).

La prueba ELISA es una prueba diseñada para la consulta veterinaria, se fundamenta en un inmunoensayo enzimático que se realiza sin equipos para ELISA tradicionales e interpretación visual (Moussafir, Allai, El Khalil, Essamadi, & El Amiri, 2018).

La presente investigación tuvo como objetivo comparar el resultado de la prueba “ELISA IDEXX Rapid Pregnancy Test” versus ecografía para determinar la gestación temprana en vacas, con el fin de evaluar la funcionalidad del Kit Elisa, todo esto para permitir al médico veterinario llegar a un diagnóstico temprano, el cual es clave para acortar el intervalo entre partos de las vacas a través de la reducción de días abiertos y su tratamiento oportuno.

Para el cumplimiento del estudio se ejecutó muestreos a un grupo de 42 animales seleccionados en base a criterios de inclusión y exclusión, para lo cual fue necesario la obtención de muestras de sangre y pruebas de imagen (ultrasonido) durante los días 0, 28, 45 y 60 de gestación, esto con el objetivo de efectuar dos métodos para el diagnóstico temprano de preñez, donde, la prueba de ELISA determina la preñez por medio de las proteínas asociadas a la gestación (PAGs) y la ecografía determina la preñez mediante imagen.

Con el resultado de dichas pruebas se logró comparar las dos pruebas diagnósticas, evaluando la eficiencia de la prueba ELISA IDEXX Rapid Pregnancy Test y la posibilidad de utilizar la misma en la detección temprana de preñez en las ganaderías del Ecuador.

1.1. Objetivos

1.1.1. Objetivo general

Comparar el resultado del kit Elisa versus ecografía para la detección temprana de preñez en vacas de la Hacienda Santa Clara de la provincia del Carchi, con el fin de evaluar la funcionalidad del Kit Elisa.

1.1.2. Objetivos específicos

- Determinación de preñez mediante la aplicación de dos métodos diagnósticos en un grupo de animales seleccionados por medio de registros de inseminación artificial en la provincia del Carchi.
- Comparar los métodos diagnósticos de gestación mediante el resultado Elisa y ecografía en vacas gestantes mediante el uso de herramientas estadísticas.

1.2. Hipótesis

H0: Los resultados de diagnóstico gestacional mediante ecografía no difieren con los resultados de Kit Elisa a los días 0, 28, 45 y 60 post servicio.

H1: Los resultados de diagnóstico gestacional mediante ecografía difieren con los resultados de Kit Elisa a los días 0, 28, 45 y 60 post servicio.

Capítulo II: Marco teórico

2.1. Periodo embrionario

El periodo embrionario está comprendido desde la fertilización hasta las primeras etapas del desarrollo de los órganos que en bovinos esto ocurre aproximadamente entre 60 días (Valadão, Moreira da Silva, & Moreira da Silva, 2019).

La fertilización es la fusión de los gametos, dando origen a un cigoto, célula que da origen a un nuevo individuo, esta etapa culmina con la división celular del cigoto (Thomas F. Fletcher, 2013).

2.1.2. Etapa I – del cigoto.

Tras la fertilización, el cigoto, se divide en dos y posteriormente cuatro células, mientras los embriones de una célula se proyectan hacia el útero en el oviducto, los cigotos sufren cinco o seis divisiones celulares mitóticas, sin aumentar el volumen total del *conceptus*, embrión con todas sus membranas asociadas, formando los blastómeros (Van Leeuwen, Berg, & Pfeffer, 2015).

El cigoto se divide en varios blastómeros hasta que las 16 células forman la mórula al cuarto día después de la fertilización, la masa de células internas de la mórula que formarán a los tejidos embrionarios y las células circundantes, crean la masa celular externa que contribuirá a la formación de la placenta (Valadão et al., 2019).

2.1.3. Etapa II – del embrión.

La segunda etapa está comprendida entre el inicio de la adhesión del trofoectodermo al endometrio y la culminación del periodo de diferenciación embrionaria (Carrillo, Sanín, & Osorio, 2016).

El embrión se ubica dentro del útero, creando un conjunto de aproximadamente 100 células y se deriva el *conceptus* como blastocisto (Valadão et al., 2019).

Los trofoblastos son las células que forman la cubierta externa y luego se desarrollarán en el saco coriónico y la porción fetal de la placenta, el órgano de nutrientes, desechos e intercambio de gases entre madre y la descendencia en desarrollo (Alberto et al., 2013).

Las células de la masa celular interna pasan a ser un embrioblasto, que se ubica en un extremo, y las células de la masa celular externa, que se engrasan y forman la pared epitelial del blastocisto (Van Leeuwen et al., 2015).

El trofoblasto se diferencia en citotrofoblasto y posteriormente en sincitiotrofoblasto para dar lugar a la erosión de tejidos maternos y la circulación primitiva uteroplacentaria (FAO, 2012).

Durante la tercera semana se inicia la morfogénesis, terminando con la definición de las tres capas básicas de la región cefálica, ectodermo, mesodermo y endodermo (Sponchiado et al., 2017).

Al final de la cuarta semana, se comienza con la diferenciación de tejidos, membranas extraembrionarias y órganos (Thomas F. Fletcher, 2013), ver figura 1.

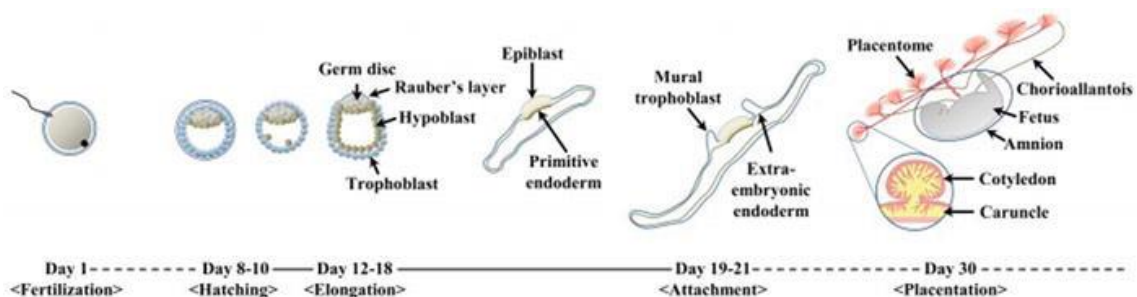


Figura 1. Desarrollo esquemático de un embrión bovino desde la fertilización hasta el día 30.

Tomado de (Valadão et al., 2019).

2.1.4. Crecimiento fetal

El crecimiento masivo se da en el día 13 cuando el embrión alcanza 3mm de largo, y para el día 18 las membranas fetales son grandes y capaces de ocupar ambos cuernos uterinos (Waters, 2017).

En el día 20 a 22 se establece un latido cardíaco en el feto, y para el día 25 se empiezan a desarrollar las extremidades junto con el desarrollo de órganos, como el hígado, el páncreas, los pulmones, la tiroides, el cerebro y los riñones (Krog, Agerholm, & Nielsen, 2018).

En el día 45 de gestación, los testículos del feto masculino comenzarán a desarrollarse, en la hembra, el desarrollo ovárico tiene lugar entre 50 a 60 días después de la ovulación y alrededor del día 49, el sistema digestivo comenzará a desarrollarse (Alonso-Alanusa, Galina-Hidalgo, Romero-Zúñiga, Estrada-König, & Galindo-Badilla, 2012).

Las tasas de crecimiento y desarrollo son indicadores importantes de la viabilidad del embrión, los embriones bovinos experimentan un aumento exponencial en el tamaño, de 170 µm de diámetro en un día de edad a más de 50 mm de longitud a los 16 días de edad, lo que representa un aumento de más de 300 veces (P. Herrera, 2007).

2.2. Endocrinología bovina de la gestación

Una parte de la reproducción en la hembra depende de las hormonas, que son sustancias químicas específicas, producidas por glándulas especializadas llamadas glándulas endocrinas (Kindahl, Kornmatitsuk, Königsson, & Gustafsson, 2012).

Las hormonas reproductivas se originan en el hipotálamo, pituitaria, gónadas, útero y placenta, etc., las mismas que pasan a la sangre y los fluidos linfáticos, y se transportan a varias partes del cuerpo, donde ejercen varios efectos específicos en los órganos diana (Lamming, 2013; Wallace, 2019).

La placenta sintetiza distintas hormonas neuromediadoras y factores de crecimiento que intervienen con el equilibrio hormonal de la gestación y la regulación del desarrollo fetal (Gerhard Schuler, Rainer Fürbass, 2018).

2.2.1 Señales embrionarias de la gestación

a. Interferón TAU

El interferón TAU (INT – t) es un producto del *conceptus* bovino, el cual es secretado por las células embrionarias del trofoblasto, el mismo que emite una señal conocida como reconocimiento de gestación (Shirasuna et al., 2015).

El reconocimiento materno de la preñez se define como un proceso fisiológico mediante el cual el *conceptus* indica su existencia al sistema materno, evitando la luteólisis y prolongando la vida útil del cuerpo lúteo (CL) (Thomas R Hansen, 2017).

En bovinos la señal del reconocimiento madre – embrión se emite por medio del alargamiento del *conceptus* que produce INT – t (Gerhard Schuler, Rainer Fürbass, 2018).

La producción del INT – t bovino aumenta en el día 15 de la preñez, siendo su punto máximo en los días 19 a 20 y se reduce posterior al inicio de la unión del *conceptus* al epitelio uterino (Kusama et al., 2017).

La principal función del INT – t es prevenir el retorno a la ciclicidad ovárica, funcionando como factor endocrino en el cuerpo lúteo (CL) para inducir la capacidad refractaria contra la acción luteolítica de prostaglandina F2 α en el endometrio, asegurando la producción continua de progesterona por el CL, garantizando que se mantenga la gestación (Brooks & Spencer, 2015).

Los efectos antiluteolíticos del INT – t participan de forma paracrina en el endometrio para inducir o mejorar la expresión de genes para regular la receptividad uterina y el alargamiento e implantación del *conceptus* (Brooks, Burns, & Spencer, 2014).

b. Factor de preñez temprana (Early pregnancy factor - EPF)

La actividad del factor de preñez temprana depende de la presencia de dos componentes: EPF-A y EPF-B, donde el factor A se forma en el útero durante el celo y la gestación, mientras que el EPF-B se produce en el ovario y se asocia solo con la preñez, por lo tanto la producción de EPF-B es el resultado de una acción combinada de señales endocrinas de la pituitaria y el cigoto (Almond, 2006).

El EPF, es una proteína de 10.84 kDa, la cual se encuentra presente en el suero sanguíneo de las hembras de mamíferos gestantes (Balhara, Gupta, Singh, Mohanty, & Singh, 2013).

El factor de preñez temprana es una proteína secretora con propiedades inmunosupresoras asociadas a la gestación (Ghaffari Laleh, Ghaffari Laleh, Pirany, & Moghadaszadeh Ahrabi, 2008).

El EPF de preñez puede ser detectable entre las 6 y 24 horas posteriores a la fertilización y desaparece dentro de 24 a 48 después a la muerte embrionaria, además este factor está presente hasta los dos primeros tercios de la gestación (Alice C. Cavanagh, 1996).

El EPF es un punto de referencia sérico para la fecundación positiva, por lo cual esta proteína tiene una alta capacidad inmunosupresora que se demuestra mediante una prueba de inhibición de roseta (Morton, Cavanagh, Athanasas-Platsis, Quinn, & Rolfe, 1992).

c. Progesterona (P4)

La progesterona, hormona de la gestación, coordina una serie de eventos complejos que finalmente conducen al desarrollo sincronizado del embrión y a la diferenciación de las células uterinas para su implantación (Aisemberg et al., 2013).

La P4 es producida por el cuerpo lúteo, siendo esencial para el establecimiento y conservación de la preñez (Karen et al., 2014).

La hormona P4 actúa en la regulación de las secreciones endometriales para estimular y mediar los cambios en el crecimiento del *conceptus* y su diferenciación (Lonergan, Forde, & Spencer, 2016).

En los bovinos la supervivencia embrionaria se ve afectada por las concentraciones de progesterona, ya que ejercen un efecto indirecto sobre el *conceptus* a través del endometrio para regular el crecimiento de los blastocistos (Brooks et al., 2014).

Las concentraciones elevadas de progesterona sérica materna al inicio de la gestación se han asociado con tasas más altas de preñez y de crecimiento embrionario en el ganado (Barnwell, Farin, Whisnant, Alexander, & Farin, 2015).

2.2.3. Glicoproteínas asociadas a la gestación (Pregnancy-associated glycoprotein - PAG).

La familia de las PAG está compuesta por 20 proteínas individuales y dos docenas de genes, las cuales son proteinasas aspárticas (Northrop et al., 2019).

Las proteinasas son producidas por células binucleadas del trofoblasto embrionario de la placenta de rumiantes y se usan para diagnosticar la gestación (Northrop et al., 2019; Reese et al., 2019).

Las células binucleadas se fusionan con las células epiteliales uterinas y liberan productos secretores (PAG) en la circulación materna (Reese, Pereira, Edwards, Vasconcelos, & Pohler, 2018).

Cuando las PAG se liberan en la sangre materna, se pueden utilizar para el diagnóstico de preñez, el seguimiento de la gestación y para el seguimiento de la función trofoblástica (Lotfan et al., 2018).

Las PAG se consideran como una señal potencial del embrión (Lucy & Society for Reproduction and Fertility., 2010; McClure, 2008), son detectadas en sangre materna después de la implantación como células binucleadas y migran del trofoectodermo, fusionándose con las células epiteliales uterinas (Sakumoto, 2016).

Las glicoproteínas son detectadas desde la tercera semana de preñez, donde los niveles de concentración en sangre llegan a ser altos (Rodriguez, 2012).

Las glicoproteínas asociadas a la gestación son proteínas secretadas por las células del *conceptus* y son reconocidas por la madre, sintetizadas específicamente por las células trofoblásticas que juegan un papel fundamental en la placentogénesis (Idexx, 2013).

Las determinaciones sistemáticas de las PAG en la sangre de las vacas preñadas permiten seguir el desarrollo de la gestación y también detectar el embrión de manera temprana o la muerte fetal (Gajewski, Melo De Sousa, & Pawlinski, 2009).

2.2.4. Muerte embrionaria

2.2.4.1. Causas infecciosas

La muerte embrionaria es asociada con virus, bacterias y protozoos (*Neospora caninum*), el virus de la diarrea viral bovina (DVB) es el agente viral más importante (Santos, Thatcher, Chebel, Cerri, & Galvão, 2004).

En el ganado seronegativo a DVB, la inseminación artificial con semen contaminado con DVB resulta en tasas de concepción reducidas y endometritis, el resultado de la infección depende de la cantidad de virus y las propiedades de la cepa del virus (Vanroose, De Kruif, & Van Soom, 2000).

El virus de la DVB causa destrucción de las células embrionarias, además se replica en las células del oviducto, dando como resultado la lisis celular y la eliminación de sus funciones biológicas, como la secreción de factores embriotróficos que apoyan el desarrollo embrionario (Diskin, Parr, & Morris, 2012).

2.2.4.2. Desequilibrios hormonales

Existe una relación entre los bajos niveles de progesterona materna y la pérdida embrionaria temprana, el aumento tardío de progesterona post – ovulatoria como las decrecientes concentraciones de la fase lútea se asocian con un desarrollo pobre del embrión y la escasa producción de interferón-t para prevenir la regresión lútea (ANDREW SANDEEN, 2012).

El efecto de concentraciones bajas de P4 en la supervivencia del embrión es la maduración prematura de los ovocitos, lo que compromete la capacidad del embrión para continuar el desarrollo normal después de la fertilización (Parrish et al., 1986).

2.2.4.3. Trauma

El trauma posterior al diagnóstico gestacional por palpación rectal o mediante ecografía provocan la pérdida gestacional, el diagnóstico precoz de preñez se realiza entre los 35 y 50 días de gestación, que es el período de finalización de la diferenciación, por lo tanto, existe el riesgo de que el embrión muera (Michael O'Connor, 2006).

Tanto la palpación rectal como la ecografía no generan ningún efecto perjudicial al embrión cuando son realizados correctamente (Vanroose et al., 2000).

2.2.4.5. Balance energético negativo

Un balance energético negativo (BEN) de las vacas lecheras de alto rendimiento después del parto afecta la calidad de los ovocitos y contribuye a la muerte embrionaria una vez que la vaca ha sido inseminada (Berry et al., 2007).

Debido a que durante el BEN la concentración máxima de progesterona en vacas lactantes es reducida, esto implica una capacidad lútea inhibida para secretar

progesterona la cual garantiza la supervivencia del embrión (Leroy, Opsomer, Van Soom, Goovaerts, & Bols, 2008).

2.4. Técnicas diagnósticas de gestación en vacas

La gestación temprana hace referencia a los 28 días de gestación post servicio.

2.4.1. No retorno al estro

El diagnóstico gestacional por medio de no retorno al estro es un cuando un animal no vuelve al celo post servicio, esto sucede durante la gestación, el *conceptus* inhibe la regresión del cuerpo lúteo, evitando que el animal regrese al estro (USDA & DAIReXNET, 2019).

El animal no regresa al estro debido a la no regresión del cuerpo lúteo por causas inherentes a la gestación como quistes ováricos, entre otros (Balhara et al., 2013).

El anestro post servicio en bovinos afecta la confiabilidad del no retorno al estro como método de diagnóstico de preñez, además, la dificultad en la detección del estro y el estro silencioso hacen que este método no sea adecuado para la aplicación en ganaderías lecheras (Abdela, Bekele, Addis, & Ahmed, 2016).

La expresión del estro está reducida en intensidad y duración en las vacas lecheras de alta producción, lo que conduce a una menor eficiencia de detección del estro, por lo tanto, la probabilidad de diagnóstico erróneo de vacas gestantes por observación de retorno al estro aumenta (Fricke, Ricci, Giordano, & Carvalho, 2016).

La precisión de la identificación de no retorno al estro para el diagnóstico visual es bajo y un médico debe usarla como ayuda para el diagnóstico gestacional (Patel, Parmar, & Patel, 2016).

2.4.2. Palpación rectal

La palpación rectal (PR) es el método más antiguo y más empleado para la valoración temprana de gestación en bovinos, además es un método económico, rápido y sin daño para el animal ni el feto, sin embargo, existe un ligero aumento en el riesgo de muerte fetal a medida que la edad embrionaria aumenta (28 a 42 días) (Alonso-Alanusa et al., 2012; Romano & Fahning, 2013).

La PR es un método preciso de diagnóstico de preñez en bovinos después del día 35 post servicio para un veterinario capacitado, no obstante, este método no proporciona información sobre la viabilidad del embrión antes de 30 días de gestación (Lotfan et al., 2018).

El cuerno uterino gestante sufre cambios secuenciales en tamaño, ubicación y morfología, forman la base para el diagnóstico gestacional, el útero en una gestación temprana se ubica en la cavidad pélvica en vaconas y en vacas multíparas se encuentra delante del borde pélvico (Northrop et al., 2019).

Durante la gestación temprana, entre 30 y 60 días, los médicos dependen del hallazgo del deslizamiento de la membrana fetal o de la palpación de la vesícula amniótica (Romano et al., 2006).

Los signos definitivos de la preñez en bovinos que son determinados mediante PR son: palpación del cuerno uterino agrandado que contiene los líquidos placentarios, palpación de la vesícula amniótica, deslizamiento de las membranas fetales, palpación del feto, palpación de los placentomas, palpación de arterias uterinas (Balhara et al., 2013).

2.4.2.1. Cambios uterinos

El aumento en el diámetro de los cuernos uterinos se caracteriza por un adelgazamiento de la pared uterina, el útero se palpa como una goma gruesa a

los 40 – 90 días de gestación, teniendo una sensación de una estructura llena de líquido (Fricke et al., 2016).

El volumen de líquido aumenta rápidamente los primeros 5 meses de gestación y posteriormente aumenta lentamente con el avance de la preñez (Jaśkowski et al., 2019).

2.4.2.2. La vesícula amniótica

La vesícula amniótica es palpable entre 30 y 50 días de gestación como un objeto ovalado móvil dentro de la luz uterina (Abdela et al., 2016).

Al inicio de la preñez la vesícula es turgente, pero se vuelve flácida al avanzar la gestación hasta los días 65 – 70, cuando es difícil de detectar (Robles, Rico, Salas, & Martínez Peña, 2009).

El ancho de la vesícula es de alrededor de 1.5 cm (1 dedo) a los 40 – 42 días de gestación y aumenta 9.0 cm (4 dedos) a los 60 – 62 días de gestación (Fricke et al., 2016).

2.4.2.3. Membranas fetales.

El deslizamiento de las membranas fetales consiste en la palpación del plegamiento que se forma de la membrana corioalantoidea, el mismo que se identifica al presionar el cuerno gestante, dejándolo deslizarse entre los dedos, en especial en la parte más ancha del cuerno, siendo esta la porción más delgada (Alonso-Alanusa et al., 2012).

El corion alantoides se desliza entre el pulgar, medio e índice, se siente una banda de tejido conectivo, es palpable entre los 35 y 90 días de gestación, todo el cuerno uterino se debe sujetar en la palma de la mano y dejarse deslizar

mientras los dedos lo comprimen suavemente para palpar todo el diámetro de cada cuerno uterino (Miglino et al., 2007).

2.4.2.4. Palpación de placentomas.

La presencia de placentomas es un signo positivo de gestación, son detectables a partir de los 120 días hasta el término de la preñez (JICA, 2010).

En el período gestacional cuando el útero ha descendido a la cavidad abdominal y el feto no es palpable, la palpación de varios placentomas es la indicación más segura de que la vaca está preñada (Balhara et al., 2013).

Existe una variación en el tamaño de los placentomas, los más cercanos al feto son los más grandes, son detectados como bultos blandos y engrosados en la pared uterina y se detectan fácilmente a medida que la gestación avanza (Yasser Lenis Sanin, Juan Guillermo Maldonado Estrada, & Nélide Rodríguez Osorio, 2014).

2.4.2.5. Palpación del feto

La palpación del feto es un signo positivo de gestación, depende de la habilidad del examinador y la ubicación del feto, el feto puede palparse desde el momento del ablandamiento amniótico, 65 a 70 días, hasta la culminación de la gestación (Ortiz et al., 2017).

Para la determinación de la edad fetal se emplean medidas como la longitud céfalo – caudal, inicia en el cráneo hasta la inserción de la cola como se observa en la figura 2, (Krog et al., 2018).



Figura 2. Medida longitud céfalo – caudal.

Adaptado de (Yasser Lenis Sanin et al., 2014).

Nota: feto bovino con 15 centímetros de longitud, con una edad entre 78 – 85 días de desarrollo.

El tamaño fetal es determinado por factores genéticos, raza, factores ambientales, nutrición y manejo de los bovinos durante la gestación, por lo que se usan tablas de medidas como referencia en el crecimiento fetal como se muestra en la tabla 1, (Yasser Lenis Sanin et al., 2014).

Tabla 1

Medida céfalo – caudal en fetos bovinos con la edad aproximada en días.

Edad del feto (días)	Longitud céfalo – caudal (cm)
55 - 58	8
62 – 65	10
78 – 85	15
95 – 100	20
110 – 120	25
125 – 132	30
135 – 145	35
150 – 160	40
165 – 172	45

175 – 185	50
200 – 208	60
220 – 230	70
240 – 250	80
255 – 260	90
260 – 280	100

Adaptada de (Yasser Lenis Sanin et al., 2014)

Los puntos de examinación fetal varían según la edad fetal y conforme el crecimiento diario del mismo, los cambios notables por medio de palpación rectal se observan en la tabla 2, (Broaddus & De Vries, 2005; Hunnam, Parkinson, Lopez-Villalobos, & McDougall, 2009).

Tabla 2

Cambios estructurales durante el desarrollo y crecimiento fetal.

Cambios de posición uterina, tamaño y estructuras palpables			
Días de gestación	Posición uterina	Diámetro uterino	Estructuras palpables
35 – 40	Piso pélvico	Ligeramente agrandado	Asimetría uterina / deslizamiento de la membrana fetal
45 – 50	Piso pélvico	5 – 6,5 cm	Asimetría uterina / deslizamiento de la membrana fetal
60	Pelvis	6,5 – 7 cm	Deslizamiento de membrana fetal / abdomen
90	Abdomen	8 – 10 cm	Placentomas pequeños / feto (10-15 cm de largo)
120	Abdomen	12 cm	Placentomas / feto (25-30 cm de largo) / <i>fremitus</i>
150	Abdomen	18 cm	Placentomas / feto (35-40 cm de largo) / <i>fremitus</i>

Adaptado de (Broaddus & De Vries, 2005).

El crecimiento fetal máximo se produce en el último mes de gestación y las estimaciones para predecir el estado de preñez dependen de la experiencia del médico y la ubicación de estructuras fetales (diámetro de la arteria uterina, cotiledones, feto) (Gerhard Schuler, Rainer Furbass, 2018).

Por encima de los 8 meses de gestación, las estructuras fetales, miembros, cabeza, son palpables dentro de la cavidad pélvica o simplemente craneales hasta el borde pélvico, la palpación de una extremidad fetal es evidencia suficiente de preñez (Hunnam et al., 2009).

2.4.2.6. Palpación de la arteria uterina – *fremitus*

El suministro principal de sangre del útero grávido es a través de las arterias uterinas, que aumentan considerablemente a medida que avanza la gestación (John R. Beverly, 2011).

Las arterias bilaterales se ubican en el ligamento ancho, por debajo y delante de los ejes ilíacos, reflejándose en una dirección craneal ventral, por lo cual se sienten con la mano dirigida lateralmente hacia el eje ilíaco (JICA, 2008).

El agrandamiento de la arteria uterina ipsilateral al cuerno preñado se detecta entre 80 a 90 días de gestación (Balhara et al., 2013).

El flujo sanguíneo dentro de la arteria uterina al día 120 de gestación aumenta a un punto donde el flujo sanguíneo es palpable como una sensación de zumbido, también llamada *fremitus*, la detección de *fremitus* es un signo positivo de gestación (Purohit, 2010).

2.4.3. Ecografía transrectal

El ultrasonido usa ondas sonoras de alta frecuencia las mismas que se reflejan, desvían o absorben en el cuerpo, estas ondas producen la imagen en un monitor,

entre más ondas se reflejen, más ecogénicas (= más blanco) se tomará la imagen del tejido y con una reflexión reducida, la imagen será más hipoecógena y anecógena si no hay reflexión (= negro), (J. Bates & A. Boom, 2016).

La velocidad del sonido a través del tejido como la densidad del tejido afectan la calidad de la imagen de ultrasonido, el tejido de alta densidad genera múltiples reflejos de eco (estructuras óseas), produciendo imágenes hiperecogénicas, el fluido no refleja ondas sonoras, por lo tanto, es anecógeno (= negro), los tejidos blandos (órganos) se encuentran entre hiperecogénicos y anecogénicos (JICA, 2008).

En especies mayores se usa un transductor lineal el mismo que emite ondas de sonido paralelas, logrando una alta resolución de las estructuras superficiales, además la frecuencia también afecta la calidad de la imagen, las frecuencias van desde 2.5 a 7.5 MHz que se utilizan para el ultrasonido de diagnóstico (Gunn & John B. Hall, 2018).

La utilidad de la ecografía transrectal representa un desarrollo significativo en el estudio de la reproducción bovina, es una herramienta destinada a la producción, la investigación, además permite a los veterinarios de campo y los productores la detección de la gestación desde los 28 días post servicio (Fricke et al., 2016).

La ecografía transrectal tiene la ventaja de proporcionar información adicional sobre las estructuras ováricas, la identificación de gemelos y la determinación de la viabilidad fetal, la edad y el sexo (Broaddus & De Vries, 2005; Sampaio Baruselli et al., 2017).

La ecografía permite un examen minucioso de la salud reproductiva del animal, ya que es una técnica mínimamente invasiva, precisa y eficiente para el diagnóstico precoz de la gestación y no genera abortos inducidos por palpación rectal (Romano et al., 2006).

Los primeros cambios visibles aparecen el día 21 después de la reproducción, donde se visualiza los latidos cardíacos fetales, los mismos que no son un parámetro evaluado rutinariamente para el diagnóstico de la preñez, sin embargo, el crecimiento y desarrollo fetal si es un parámetro evaluado, como se observa en la figura 3, (Broaddus & De Vries, 2005).

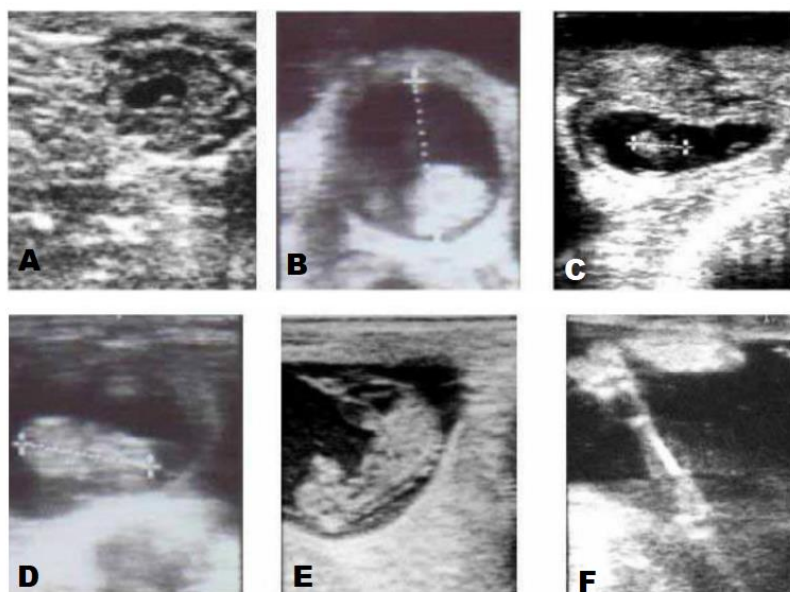


Figura 3. Diagnóstico gestacional mediante ecografía transrectal. Adaptado de (JICA, 2008).

Nota: A) 25 días de gestación; B) 30 días de gestación; C) 35 días de gestación; D) 43 días de gestación; E) 50 días de gestación; F) 100 días de gestación.

La ecografía transrectal es un método directo y preciso que requiere habilidad y experiencia del operario, el mismo que observa distintos signos y características de acuerdo con el periodo gestacional de la vaca a través del transductor, tabla 3 (Broaddus & De Vries, 2005).

Tabla 3

Características de acuerdo con la fecha del chequeo ginecológico con ecografía transrectal.

Características	Fecha de detección (días)
-----------------	---------------------------

	Media	Rango
Embrión propiamente dicho	20,3	19 a 24
Frecuencia cardíaca	20,9	19 a 24
Alantoides	23,2	22 a 25
Médula espinal	29,1	26 a 33
Yemas de las extremidades anteriores	29,1	28 a 31
Amnios	29,5	28 a 33
Órbita del ojo	30,2	29 a 33
Yemas de las extremidades posteriores	31,2	30 a 33
Cotiledones	35,2	33 a 38
Cascos partidos	44,6	42 a 49
Movimientos fetales	44,8	42 a 50
Costillas	52,8	51 a 55

Adaptado de (Fricke & Lamb, 2002).

Los equipos de ultrasonido de uso veterinario equipadas con un transductor rectal tienen un costo elevado, por lo que la inversión inicial de esta tecnología limita la implementación práctica (Fricke et al., 2016).

2.4.4. Detección de PAG

Las glicoproteínas asociadas a la gestación son detectadas mediante el uso de un Kit Elisa de Idexx (IDEXX, 2019).

El kit de diagnóstico de gestación se usa con suero bovino o plasma más EDTA (ácido etilendiaminotetraacético) como marcador para la preñez, además se ha configurado un formato de placa de microtitulación al recubrir un anticuerpo anti-PAG sobre la placa (Idexx, 2013).

Después de la dilución e incubación de la muestra de prueba en el pocillo recubierto, el PAG capturado se detecta con un anticuerpo específico de PAG (solución de detección) y conjugado de peroxidasa de rábano picante (conjugado

HRPO), el conjugado no unido se lava y se agrega sustrato TMB a los pocillos, el desarrollo del color es proporcional a la cantidad de PAG en la muestra (IDEXX, 2019).

El kit utiliza anticuerpos monoclonales dirigidos contra PAG, que se colocan en una microplaca que capturará las PAG presente en la muestra, los anticuerpos anti-PAG secundarios, acoplados a un sistema de amplificación de señal, se usan como reactivo de detección (Byrem, Velek, & Pearse, 2011).

El sustrato enzimático se usa como un indicador de color para revelar el PAG contenido en la muestra, después de detener la reacción, la densidad óptica de cada pocillo se lee a una longitud de onda de 450 nm y los resultados se calculan y se expresan como muestra negativa (Green et al., 2009).

Para las muestras de suero, si el resultado es ≥ 0.3 , las muestras se clasifican como positivas (preñadas) y por debajo de 0.30 se clasifican como negativas (no preñadas), por otro lado, para muestras de leche, si el resultado es ≥ 0.15 , las muestras se clasifican como positivas (preñadas) y por debajo de 0.10 clasificadas como negativas (no preñadas), (Northrop et al., 2019).

Capítulo III: Materiales y métodos

3.1. Ubicación

El presente estudio se ejecutó en la Hacienda Santa Clara, situada al sur del cantón San Pedro de Huaca, en el sector Paja Blanca perteneciente a la provincia del Carchi Ecuador, con acceso por la panamericana E35.

La ubicación geográfica exacta se encuentra representada en la figura 4 con las coordenadas 0,619981, -77,750327.

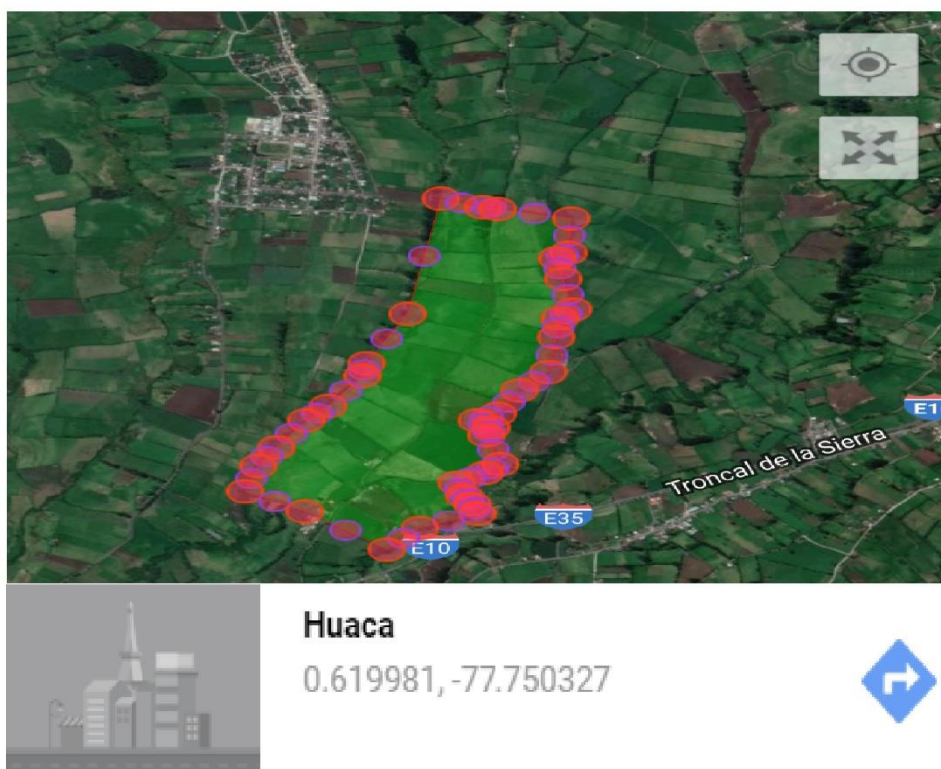


Figura 4. Ubicación geográfica de la hacienda Santa Clara.
Modificado de (Google Maps, 2019).

Referente a las condiciones climáticas donde se realizó la investigación, se muestran en la tabla 4 datos como temperatura, humedad, altitud y precipitación de INAMHI (2015).

Tabla 4

Rango de los datos meteorológicos en el año 2015.

Parámetro / Mes		Septiembre	Octubre	Noviembre	Diciembre
Temperatura (° C)	Min	6,2	6,7	6,8	7,3
	Max	16,9	17,6	17,7	17,4
Precipitación (mm)		64	109	124	98
Humedad (%)		83	83	83	84
Altitud (msnm)	Min.	2837			
	Max.	2923			

Modificado de: (INAMHI, 2015)

3.2. Población y muestra

En la hacienda Santa Clara cuentan con un total de 222 bovinos de razas lecheras, entre ellas Brown Swiss, Holstein y Montbéliarde, a su vez, los bovinos presentes se distribuyen en diferentes categorías de acuerdo con su etapa fisiológica y estado reproductivo, tal es así, existen 94 vacas en producción, 22 vacas secas, 20 vientres, 40 fierros, 20 terneras y 2 terneros.

Para el desarrollo del estudio se tomaron en cuenta a los animales que se encontraban en producción (animales seleccionados mediante los criterios de inclusión y exclusión descrita en la tabla 5).

Para la obtención de la muestra, se seleccionaron animales vacíos de los animales en producción, dando un total de 42 animales para la iniciación del estudio, donde dichos animales sean vacas entre primer y tercer parto.

3.2.1. Criterios de inclusión y exclusión

Los criterios de inclusión y exclusión se exponen en la tabla 5, los mismos que se usaron para el desarrollo de la presente investigación.

Tabla 5

Criterios de inclusión y exclusión.

Inclusión	Exclusión
Vacas no gestantes	- Vacas con gestaciones mayores a 60 días
Vacas entre primer y tercer parto.	- Vacas no gestantes
Vacas sanas.	- Vacas de primer servicio
Vacas en lactancia.	- Vacas mayores a tercer parto.
	- Vacas enfermas con problemas reproductivos, nutricionales, otros.
	- Vacas secas
	- Bovinos machos

3.3. Materiales**3.3.1. Campo y laboratorio**

- Hojas de registro de toma de muestra (#30)
- Esferográficos (#2)
- Caja de guantes de exploración no estériles (#3)
- Caja de guantes para palpación rectal (#2)
- Agujas vacutainer (#120)
- Capuchón vacutainer (#5)
- Tubos de ensayo tapa roja (#120)
- Torundas con y sin alcohol (#120; #120)
- Equipo de ecografía (#1)
- Kit Elisa IDEXX Rapid Pregnancy Test (#1)
- Agua destilada (#1)
- Pipeta de transferencia de precisión (#1)
- Puntas para pipeta de precisión (#120)

3.3.2. Oficina

- Ordenador.
- Registro de inseminación de animales.
- Cámara fotográfica.

3.4. Metodología

3.4.1. Sincronización e inseminación artificial

Inicialmente se realizó un chequeo ecográfico a las vacas vacías, usando el protocolo citado en el anexo 1, simultáneamente la toma de muestra sanguínea para el diagnóstico por medio del kit Elisa, usando el protocolo mostrado en el anexo 2, posteriormente se realizó la sincronización de celo de las vacas seleccionadas para lo cual se usó el protocolo del Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (Raso, 2012), revisar anexo 3.

Posteriormente se efectuó la inseminación artificial a los animales el día 19 de agosto del 2019 como se observa en la tabla 6, usando el protocolo de la empresa Select Sires, (DeJarnette, en Reproducción Ray Nebel, & en Reproducción, 2018), revisar anexo 4.

3.4.2. Determinación de gestación

Los datos se obtuvieron en base a los registros de inseminación de cada animal de la hacienda seleccionada, lo cual permitió la iniciación del proceso de toma de muestras las cuales se llevaron a cabo al día 0 antes del servicio y a los días 28, 45 y 60 días post servicio, en las fechas establecidas en la tabla 6.

Tabla 6

Fechas de muestreo.

	1ER MUESTREO	INSEMINACIÓN ARTIFICIAL	2DO MUESTREO	3ER MUESTREO	4TO MUESTREO
KIT IDEXX					
ECOGRAFÍA	9/AG/2019	19/AG/2019	16/SEPT/2019	3/OCT/2019	18/OCT/2019

El análisis del suero sanguíneo para el diagnóstico de preñez se realizó mediante la prueba Elisa la misma que sigue el protocolo © 2016 IDEXX Laboratories (IDEXX, 2019), revisar anexo 2, y para la realización de ecografía se toma en cuenta el protocolo © 2018 by the University of Idaho (Dahlen, 2013), revisar anexo 1.

3.4.3. Comparación del resultado de los métodos diagnósticos

La comparación del resultado de las pruebas diagnósticas de gestación, ecografía y el kit Elisa, se realizó mediante el uso de herramientas estadísticas, especialmente estadística no paramétrica como la prueba del Coeficiente Kappa de Cohen, la prueba de rangos con signo de Wilcoxon y la prueba del Chi cuadrado.

3.4.4. Variables

Para el cumplimiento de este estudio, se tomaron en cuenta las variables detalladas en la tabla 7.

Tabla 7

Operacionalización de variables de estudio.

Variables	Tipo de variable	Definición	Indicador	Unidad de medida	Ítem	Instrumento
Gestación	Cualitativa / Dicotómica / Nominal Independiente	Identificación del feto en un bovino hembra gestante	Presencia o ausencia de feto	Presencia o ausencia de feto	Bovin o hembr a gesta nte	Medición directa
Ecografía	Cualitativa/ Dependiente	Presencia del feto mediante ultrasonido	Positivo/Ne gativo	Positivo/Neg ativo	Positi vo/Ne gativo	Medición directa – visual
Kit ELISA	Cualitativa/ Dependiente	Concentracione s PAG	Positivo/Ne gativo	Color (Azul – Positivo; Sin color – Negativo)	1 ml	Medición directa - visual

3.5. Análisis estadístico

Referente al estudio se debe recalcar que los datos obtenidos son de tipo cualitativo, de manera que se realizó un contraste entre los resultados de ecografía y el kit Elisa, para aplicar una prueba no paramétrica, en este caso se ejecutó la prueba del Coeficiente Kappa de Cohen la cual se fundamenta en comparar el comportamiento de dos variables nominales, medibles en la misma escala, en otras palabras, en qué medida se llegan a distribuir del mismo modo, además permitió establecer si las variables analizadas se encuentran estrechamente relacionadas por tener el mismo comportamiento o no.

En este estudio se usó estadística no paramétrica debido que permite el uso de variables nominales las cuales no tienen valor cuantitativo como en este caso los resultados de los dos métodos diagnósticos en estudio proporcionan resultados de positivo o negativo.

Para comprobar los dos métodos diagnósticos de los 42 animales se aplicó la prueba del Coeficiente Kappa de Cohen, finalmente para datos estrechamente asociados se realizó la prueba del Chi cuadrado.

Capítulo IV: Resultados y discusión

4.1. Resultados

Para la obtención de los resultados se realizó cuatro muestreos, aplicando dos pruebas diagnósticas de gestación, kit Elisa IDEXX y ecografía en el 100% (42) animales inicialmente, con una pérdida de 14,28% (6) animales por retorno de celo, quedando un total de 100% (36) animales para los tres muestreos siguientes, en la tabla 8 se observa que los resultados del primer, tercer y cuarto muestreo tanto del kit Elisa como de ecografía son constantes por lo que no fue posible hacer una comparación estadística.

En cuanto al segundo muestreo existió una diferencia en los resultados de vacas vacías teniendo así 8,33% (3) con ecografía y 11,11% (4) con el kit Elisa, sin embargo, este porcentaje de vacas vacías detectadas por el kit Elisa se mantiene igual en los siguientes muestreos con las dos pruebas diagnósticas utilizadas, como se aprecia en la tabla 8.

Tabla 8

Resultados kit Elisa IDEXX y ecografía del total de animales en cuatro muestreos

		Prueba diagnóstica						N TOTAL
		KIT ELISA IDEXX		ECOGRAFIA		N PERDIDOS		
		Recuento	%	Recuento	%			
Muestra	Primer muestreo	Gestante/Positivo	0	0	0	0	0	42
		Vacía/Negativo	42	100	42	100		
	Segundo muestreo	Gestante/Positivo	32	88,9	33	91,7	6	36
		Vacía/Negativo	4	11,1	3	8,3		
	Tercer muestreo	Gestante/Positivo	32	88,9	32	88,9	6	36
		Vacía/Negativo	4	11,1	4	11,1		
	Cuarto muestreo	Gestante/Positivo	32	88,9	32	88,9	6	36
		Vacía/Negativo	4	11,1	4	11,1		

4.1.1. Prueba del Coeficiente Kappa de Cohen.

La prueba de Kappa se utilizó en el segundo muestreo en el cual existió una desviación en el resultado de la identificación de vacas vacías con el kit Elisa IDEXX el cual detectó un 2,8% de animales negativos (1) a diferencia de la ecografía que lo detectó como positivo, siendo este último incorrecto, como se visualiza en la tabla 9.

Tabla 9

*Tabla cruzada KIT ELISA * ECOGRAFÍA Coeficiente Kappa de Cohen*

		ECOGRAFÍA			
			GESTANTE/POSITIVO	VACIA/NEGATIVO	Total
KIT	GESTANTE/POSITIVO	Recuento	32	0	32
ELISA		% del total	88,9%	0,0%	88,9%
IDEXX	VACIA/NEGATIVO	Recuento	1	3	4
		% del total	2,8%	8,3%	11,1%
Total		Recuento	33	3	36
		% del total	91,7%	8,3%	100,0%

En tabla 10 se destaca el resultado de la prueba de Kappa para las dos pruebas diagnósticas, las mismas que se encuentran estrechamente relacionadas debido a que estadísticamente no es calculable porque no hay variación entre los resultados de las pruebas diagnósticas, aceptando la hipótesis nula porque el grado de significancia es menor 0,05.

Tabla 10

Medidas simétricas Coeficiente Kappa de Cohen

		Error estándar			Significación
		Valor	asintótico ^a	T aproximada ^b	aproximada
Medida de acuerdo	Kappa	,842	,154	5,117	,000
N de casos válidos		36			

a. Utilización del error estándar asintótico que presupone la hipótesis nula.

4.1.2. Prueba del Chi cuadrado.

De igual manera la prueba de chi cuadrado fue aplicada en el segundo muestreo donde se expone que no hay diferencia estadística entre las dos pruebas diagnósticas a pesar de la mínima variación entre los resultados que se presentan en la tabla 11.

Tabla 11

Prueba de chi-cuadrado del segundo muestreo

	Valor	df	Significación asintótica (bilateral)	Significación exacta (bilateral)	Significación exacta (unilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	26,182 ^a	1	,000		
Corrección de continuidad ^b	17,284	1	,000		
Razón de verosimilitud	16,154	1	,000		
Prueba exacta de Fisher				,001	,001
Asociación lineal por lineal	25,455	1	,000		
N de casos válidos	36				

4.2. Discusión

En este estudio se logró un resultado donde no existe una diferencia estadística en los datos resultantes de las pruebas diagnósticas, kit Elisa IDEXX y ecografía, en los cuatro muestreos al día 0, 28, 45 y 60 post servicio de los 42 animales sometidos al estudio, teniendo un 100% entre vacas vacías y gestantes detectadas por el kit Elisa IDEXX, resultados que concuerdan con los del estudio de Silva (2007) que realizó la determinación de la precisión de un Elisa de glucoproteína asociada a la gestación para determinar la preñez en vacas de leche, usando ultrasonido transrectal como estándar para la evaluación de la prueba, se recolectaron muestras de sangre de vacas Holstein en lactancia (1079 animales) 27 días después de su primer, segundo y tercer servicio, el diagnóstico de gestación por ultrasonido transrectal se efectuó inmediatamente posterior a la recolección de la muestra sanguínea, los resultados de las pruebas

diagnósticas de gestación fueron de 95,75% con ultrasonido transrectal y 95,1% con Elisa de PAG, estos porcentajes se explican debido a la cantidad de animales sometidos a estudio, sin embargo, esto no desacredita la validez del kit evaluado en ambos estudios, por otro lado Northrop, Rich, Rhoades, & Perry (2019), realizó una comparación de la precisión de los análisis de sangre con la ecografía transrectal para detectar gestaciones y para predecir la pérdida de preñez en ganado de carne (932 animales), se realizó entre los días 25 y 40 después de la inseminación artificial, mediante este estudio se logró conocer que ambas pruebas diagnósticas de gestación fueron precisas para detectar las gestaciones, además las dos pruebas diferenciaron a hembras que mantuvieron y perdieron la gestación, esto a pesar que se realizaron únicamente dos muestreos post servicio a diferencia de los cuatro muestreos que se realizó en el presente estudio.

En un estudio ejecutado por Garcia & Suarez (2017) realizado en 323 vacas de carne comparando el kit Elisa con la palpación rectal a pesar que este último no se considera como una prueba de oro para la detección temprana de preñez, las pruebas se aplicaron a los 28 y 60 días post servicio, los resultados concordaron y fueron favorables con los del presente estudio, confirmando la eficiencia del kit Elisa, por otra parte Breed, Guard, White, Smith, & Warnick (2009) realizaron un estudio comparando el diagnóstico de preñez en ganado lechero a los 42 días post servicio mediante el uso de un kit Elisa y palpación rectal, en el que la palpación difirió en un 9% al kit Elisa explicando de esta manera la palpación rectal no está calificada como un método diagnóstico certero para identificar animales con gestaciones tempranas.

Un estudio realizado por Alabart (2010) para el diagnóstico temprano de preñez en 48 ovinos mediante el kit Elisa, en distintos días (18, 19, 25, 26, 32 y 33) teniendo como resultado que el kit Elisa es eficiente para el diagnóstico gestacional, ya que en este estudio el porcentaje de falsos positivos fue de 0%, resultados que concuerdan con la presente investigación, aunque la especie bovina fue la estudiada en este caso.

Ricci (2015) comparó los niveles de glucoproteínas asociadas a la gestación en suero sanguíneo y leche en 141 vacas Holstein durante la gestación temprana (28 días post servicio), en comparación a la ecografía, la precisión para el kit Elisa en sangre fue el 92% y del 89% para el kit Elisa en leche, esto concuerda con los resultados kit Elisa en sangre del presente estudio, garantizando la precisión diagnóstica para la gestación temprana, tomando en cuenta que el porcentaje de concordancia es mayor en el kit Elisa de sangre que en el de leche.

4.3. Limitantes

La principal limitante fue encontrar una población homogénea en cuanto a una misma etapa fisiológica, condición corporal, animales sin problemas reproductivos y un número superior a 30 bovinos que sean sujeto de estudio.

En cuanto a la obtención de los resultados de la ecografía es primordial que sea realizado por una persona capacitada y con experiencia para que sea considerada una prueba de oro.

En cuanto al tiempo para el desarrollo del estudio, fue limitado por lo que se inició de manera anticipada sin embargo esto influyó para el procesamiento y análisis de los resultados.

Otra limitante es el acceso al kit Elisa IDEXX, ya que actualmente en el país se distribuye únicamente bajo importación.

Referente a la toma de muestras con ecografía depende de la disponibilidad de tiempo del veterinario que la realiza, por lo que interfiere con las fechas establecidas del estudio.

Capítulo V: Conclusiones y recomendaciones

5.1. Conclusiones

El kit Elisa IDEXX es una herramienta segura que permite tanto al veterinario como al ganadero un diagnóstico temprano gestacional de una cantidad mayor de animales y de distintos predios en comparación de la ecografía, resultando ser un método diagnóstico gestacional más preciso.

El kit Elisa IDEXX es una alternativa para los productores para realizar un seguimiento gestacional en finca sin excluir los conocimientos técnicos que aporta un médico veterinario.

Los dos métodos diagnósticos de gestación (Kit Elisa IDEXX y ecografía transrectal) fueron precisas detectando animales no preñados y animales gestantes, sin embargo, el kit Elisa resultó ser superior detectando un 2,8% de animales no preñados.

A los 28 días el kit Elisa detecta con una precisión del 100 % animales gestantes y el ultrasonido tuvo un error de 2,8% porque detectó un falso positivo. Posterior a esto en los días 45 y 60 la exactitud se igualó con ambos métodos. Estadísticamente no tiene significancia en el día 28, sin embargo, para la economía del productor representa una lactancia en caso de que se llegue a descartar el animal.

5.2. Recomendaciones

Es recomendable que el diagnóstico gestacional empleando ultrasonido en vacas se realice por un veterinario capacitado y con experiencia ya que es una prueba operativo dependiente, la misma que se debe efectuarse luego de los 28

días de gestación, tomando en cuenta la pérdida de gestación entre concepción e implantación.

Para futuros estudios con el kit Elisa IDEXX es recomendable considerar un número mayor de muestra que permita analizar de mejor manera el resultado de la prueba diagnóstica.

Se recomienda realizar un seguimiento durante los diferentes periodos gestacionales en los mismos animales para evaluar la correcta funcionalidad del kit Elisa IDEXX desde otras perspectivas.

Para próximos estudios es recomendable la comparación del kit Elisa IDEXX con palpación rectal a los 28 y 45 días post servicio a pesar de esta última no se considerada una prueba de oro.

Es recomendable realizar un estudio comparando los resultados del kit Elisa IDEXX que usa suero sanguíneo con otro kit Elisa que usa leche, teniendo como referencia al ultrasonido.

REFERENCIAS

- Abdela, N., Bekele, N., Addis, M., & Ahmed, W. M. (2016). Pregnancy Diagnosis in Cattle for Fertility Management: A Review. *Global Veterinaria*, 16(4), 355–364. <https://doi.org/10.5829/idosi.gv.2016.16.04.103136>
- Alabart, J. L., Lahoz, ;, Folch, ;, Marti, ;, Sánchez, ;, Delahaut, ;, ... Sousa, D. E. (2010). *DIAGNÓSTICO PRECOZ DE GESTACIÓN EN GANADO OVINO MEDIANTE UN KIT DE ENZIMOINMUNOANÁLISIS (EIA) DE LA GLICOPROTEINA ASOCIADA A LA GESTACIÓN (PAG) PLASMÁTICA EARLY PREGNANCY DIAGNOSIS IN SHEEP BY PLASMATIC PREGNANCY-ASSOCIATED GLYCOPROTEIN (PAG) ENZYMOIMMUNOASSAY (EIA) KIT.*
- Alberto, M. L. V., Meirelles, F. V., Perecin, F., Ambrósio, C. E., Favaron, P. O., Franciulli, A. L. R., ... Miglino, M. A. (2013). Development of bovine embryos derived from reproductive techniques. *Reproduction, Fertility and Development*, 25(6), 907–917. <https://doi.org/10.1071/RD12092>
- Alice C. Cavanagh. (1996). Identification of early pregnancy factor as chaperonin 10: implications for understanding its role. *Scopus*. Retrieved from <https://pdfs.semanticscholar.org/6916/4d3e7a3e3ed97ae9129d2dde8b4e2a19c816.pdf>
- Almond, G. W. (2006). Diagnosis of Pregnancy. In *Current Therapy in Large Animal Theriogenology: Second Edition* (pp. 765–773). <https://doi.org/10.1016/B978-072169323-1.50104-5>

- Alonso-Alanusa, L., Galina-Hidalgo, C., Romero-Zúñiga, J. J., Estrada-König, S., & Galindo-Badilla, J. (2012). *Usefulness of Rectal Palpation and Transrectal Ultrasonography in the Diagnosis of Gestation of the Zebu Cattle in the Humid Tropical in Costa Rica*. Retrieved from <http://www.redalyc.org/pdf/959/95921743002.pdf>
- ANDREW SANDEEN. (2012). Trouble-shooting Infertility Problems in Cattle. Retrieved November 6, 2019, from <https://extension.psu.edu/trouble-shooting-infertility-problems-in-cattle>
- Balhara, A. K., Gupta, M., Singh, S., Mohanty, A. K., & Singh, I. (2013). Early pregnancy diagnosis in bovines: Current status and future directions. *The Scientific World Journal*, 2013. <https://doi.org/10.1155/2013/958540>
- Berry, D. P., Horan, B., O'Donovan, M., Buckley, F., Kennedy, E., McEvoy, M., & Dillon, P. (2007). Genetics of grass dry matter intake, energy balance, and digestibility in grazing Irish dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 90(10), 4835–4845. <https://doi.org/10.3168/jds.2007-0116>
- Breed, M. W., Guard, C. L., White, M. E., Smith, M. C., & Warnick, L. D. (2009). Comparison of pregnancy diagnosis in dairy cattle by use of a commercial ELISA and palpation per rectum. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 235(3), 292–298. <https://doi.org/10.2460/javma.235.3.292>
- Broaddus, B., & De Vries, A. (2005). *A Comparison of Methods for Early Pregnancy Diagnosis*.

- Brooks, K., Burns, G., & Spencer, T. E. (2014). Conceptus elongation in ruminants: roles of progesterone, prostaglandin, interferon tau and cortisol. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 5(1), 53.
<https://doi.org/10.1186/2049-1891-5-53>
- Brooks, K., & Spencer, T. E. (2015). Biological Roles of Interferon Tau (IFNT) and Type I IFN Receptors in Elongation of the Ovine Conceptus¹. *Biology of Reproduction*, 92(2). <https://doi.org/10.1095/biolreprod.114.124156>
- Byrem, T. M., Velek, K., & Pearse, H. L. (2011). *The Detection of Pregnancy Associated Glycoproteins (PAG) in Routine Milk Recording Samples as an Indicator of Pregnancy in Dairy Cattle*.
- Carrillo, D. F., Sanín, Y. L., & Osorio, N. R. (2016). Conceptos básicos del desarrollo embrionario en la vaca. Retrieved October 22, 2019, from https://www.researchgate.net/publication/263389285_Conceptos_basicos_de_desarrollo_embrionario_en_la_vaca
- Dahlen, C. (2013). Methods of Pregnancy Detection in Beef Cattle. *North Dakota State University Extension Service*, (June). Retrieved from <https://www.ag.ndsu.edu/pubs/ansci/beef/as1632.pdf>
- DeJarnette, M., en Reproducción Ray Nebel, E., & en Reproducción, E. (2018). *Inseminación Artificial En Bovinos*. Retrieved from http://www.selectsires.com/dairy/SpainResources/ai_technique_spanish.pdf?version=20180803
- Diskin, M. G., Parr, M. H., & Morris, D. G. (2012). Embryo death in cattle: An

update. *Reproduction, Fertility and Development*, Vol. 24, pp. 244–251.

<https://doi.org/10.1071/RD11914>

FAO. (2012). Training manual for embryo transfer in cattle. Retrieved November 6, 2019, from <http://www.fao.org/3/T0117E/T0117E07.htm>

Fricke, P. M., & Lamb, G. C. (2002). *PRACTICAL APPLICATIONS OF ULTRASOUND FOR REPRODUCTIVE MANAGEMENT OF BEEF AND DAIRY CATTLE*.

Fricke, P. M., Ricci, A., Giordano, J. O., & Carvalho, P. D. (2016, March 1). Methods for and Implementation of Pregnancy Diagnosis in Dairy Cows. *Veterinary Clinics of North America - Food Animal Practice*, Vol. 32, pp. 165–180. <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2015.09.006>

Gajewski, Z., Melo De Sousa, N., & Pawlinski, B. (2009). Concentration of bovine pregnancy associated glycoprotein in plasma and milk: Its application for pregnancy diagnosis in cows *Physiology of reproduction* View project artificial insemination in synchronized buffalo cows View project. In *Article in Journal of physiology and pharmacology: an official journal of the Polish Physiological Society*. Retrieved from www.jpp.krakow.pl

Garcia, I., & Suarez, W. (2017). *Detección temprana de preñez en ganado de carne con prueba ELISA usando kit IDEXX Rapid Visual Pregnancy Test®*.

Gerhard Schuler, Rainer Fürbass, K. K. (2018). Placental contribution to the endocrinology of gestation and parturition. *CBRA*. Retrieved from

<http://s3.amazonaws.com/host-article-assets/animreprod/5b8eb9a50e88257a64dd6776/fulltext.pdf>

Ghaffari Laleh, V., Ghaffari Laleh, R., Pirany, N., & Moghadaszadeh Ahrabi, M. (2008). Measurement of EPF for detection of cow pregnancy using rosette inhibition test. *Theriogenology*, *70*(1), 105–107.

<https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2008.02.003>

Google Maps. (2019). Google Maps. Retrieved May 16, 2019, from <https://www.google.com/maps/search/san+pedro+huaca/@0.6225703,-77.7503691,1566m/data=!3m1!1e3>

Green, J. C., Volkmann, D. H., Poock, S. E., Mcgrath, M. F., Ehrhardt, M., Moseley, A. E., & Lucy, M. C. (2009). Technical note: A rapid enzyme-linked immunosorbent assay blood test for pregnancy in dairy and beef cattle. *Journal of Dairy Science*, *92*(8), 3819–3824.

<https://doi.org/10.3168/jds.2009-2120>

Gunn, D., & John B. Hall, P. D. (2018). *Pregnancy Testing in Beef Cattle Introduction*. 11.

Hunnam, J. C., Parkinson, T. J., Lopez-Villalobos, N., & McDougall, S. (2009). Association between gestational age and bovine fetal characteristics measured by transcutaneous ultrasound over the right flank of the dairy cow. *Australian Veterinary Journal*, *87*(9), 379–383.

<https://doi.org/10.1111/j.1751-0813.2009.00468.x>

Idexx. (2013). *IDEXX Visual Pregnancy Test_Instructions*. 11494. Retrieved

from <https://www.idexx.com/en/livestock/livestock-tests/ruminant-tests/idexx-rapid-visual-pregnancy-test/>

IDEXX. (2019). *Rapid Visual Pregnancy Test - IDEXX US*. 81623.

INAMHI. (2015). Instituto Nacional de Meteorología e Hidrología. Retrieved April 29, 2019, from <http://www.serviciometeorologico.gob.ec/>

J. Bates, & A. Boom. (2016, September 11). Ultrasound Technique - Startradiology. Retrieved February 18, 2020, from <https://www.startradiology.com/the-basics/ultrasound-technique/index.html>

Jaśkowski, J. M., Kaczmarowski, M., Kulus, J., Jaśkowski, B. M., Herudzińska, M., & Gehrke, M. (2019). Rectal palpation for pregnancy in cows: A relic or an alternative to modern diagnostic methods. *Medycyna Weterynaryjna*, Vol. 75, pp. 259–264. <https://doi.org/10.21521/mw.6156>

JICA. (2008). *Pregnancy Diagnosis Pregnancy Diagnosis* .

JICA. (2010). *Manual para los Técnicos locales ÁREA DE REPRODUCCION ANIMAL*.

John R. Beverly. (2011). *DETERMINING PREGNANCY IN CATTLE*.

Kindahl, H., Kornmatitsuk, B., Königsson, K., & Gustafsson, H. (2012). Endocrine changes in late bovine pregnancy with special emphasis on fetal well-being. *Domestic Animal Endocrinology*, 23(1–2), 321–328. [https://doi.org/10.1016/S0739-7240\(02\)00167-4](https://doi.org/10.1016/S0739-7240(02)00167-4)

Krog, C. H., Agerholm, J. S., & Nielsen, S. S. (2018). Fetal age assessment for

Holstein cattle. *PloS One*, 13(11), e0207682.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0207682>

Kusama, K., Bai, R., Nakamura, K., Okada, S., Yasuda, J., & Imakawa, K.

(2017). Endometrial factors similarly induced by IFNT2 and IFNTc1 through transcription factor FOXS1. *PLOS ONE*, 12(2), e0171858.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0171858>

Lamming, G. E. (2013). *Marshall's Physiology of Reproduction : Volume 3*

Pregnancy and Lactation. Retrieved from

https://books.google.com.ec/books?id=ZkrvCAAQBAJ&dq=bovine+pregnancy+physiology&source=gbs_navlinks_s

Leroy, J. L. M. R., Opsomer, G., Van Soom, A., Goovaerts, I. G. F., & Bols, P.

E. J. (2008, October). Reduced fertility in high-yielding dairy cows: Are the oocyte and embryo in danger? Part I. The importance of negative energy balance and altered corpus luteum function to the reduction of oocyte and embryo quality in high-yielding dairy cows. *Reproduction in Domestic*

Animals, Vol. 43, pp. 612–622. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.2007.00960.x>

Lotfan, M., Choudhary, S., Yadav, M. L., Kumar, S., Singh, S., Bathla, S., ...

Mohanty, A. K. (2018). Primary structures of different isoforms of buffalo pregnancy-associated glycoproteins (BuPAGs) during early pregnancy and elucidation of the 3-dimensional structure of the most abundant isoform BuPAG 7. *PLOS ONE*, 13(11), e0206143.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0206143>

- Lucy, M. C. (Matthew C., & Society for Reproduction and Fertility. (2010). *Reproduction in domestic ruminants VII : proceedings of the eighth International Symposium on Reproduction in Domestic Ruminants, Anchorage, Alaska, September 1010*. Retrieved from https://books.google.com.ec/books?id=k1wrtwEACAAJ&hl=es&source=gbs_navlinks_s
- McClure, T. (2008). Reproduction in Domestic Ruminants II. *Australian Veterinary Journal*, 70(5), 198–198. <https://doi.org/10.1111/j.1751-0813.1993.tb06142.x>
- Michael O'Connor. (2006). Causas de la mortalidad embrionaria en el ganado. Retrieved November 6, 2019, from <https://animalscience.psu.edu/news/2006/causes-of-embryonic-mortality-in-cattle>
- Miglino, M. A., Pereira, F. T. V., Visintin, J. A., Garcia, J. M., Meirelles, F. V., Rumpf, R., ... Carter, A. M. (2007). Placentation in cloned cattle: Structure and microvascular architecture. *Theriogenology*, 68(4), 604–617. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2007.04.060>
- Morton, H., Cavanagh, A., Athanasas-Platsis, S., Quinn, K., & Rolfe, B. (1992). Early pregnancy factor has immunosuppressive and growth factor properties. *Reproduction, Fertility and Development*, 4(4), 411. <https://doi.org/10.1071/RD9920411>
- Moussafir, Z., Allai, L., El Khalil, K., Essamadi, A., & El Amiri, B. (2018). Could a

bovine pregnancy rapid test be an alternative to a commercial pregnancy-associated glycoprotein ELISA test in dairy cattle? *Animal Reproduction Science*, 192, 78–83. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2018.02.016>

Northrop, E. J., Rich, J. J. J., Rhoades, J. R., & Perry, G. A. (2019).

Comparison of two bovine serum pregnancy tests in detection of artificial insemination pregnancies and pregnancy loss in beef cattle. *PLOS ONE*, 14(1), e0211179. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0211179>

Ortiz, M. E., Assumpção, D., Guibu De Almeida, T., Castro, L. S., Siqueira, A.

F., Da Silva, V., ... Basso, A. C. (2017). Fertilization rate and developmental kinetics of bovine embryos produced using semen from high and low in vitro fertility bulls. In *Abstracts. Anim. Reprod.*, v (Vol. 14).

P. Herrera, E. C. R. D. O. F. y N. V. (2007). RELACIÓN ENTRE EL TAMAÑO

DE ESTRUCTURAS FETALES Y EL TIEMPO DE GESTACIÓN EN

BÚFALAS DE RÍO. Retrieved November 6, 2019, from

http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0253-

570X2007000100004

Parrish, J. J., Susko-Parrish, J. L., Leibfried-Rutledge, M. L., Critser, E. S.,

Eyestone, W. H., & First, N. L. (1986). Bovine in vitro fertilization with

frozen-thawed semen. *Theriogenology*, 25(4), 591–600.

[https://doi.org/10.1016/0093-691x\(86\)90143-3](https://doi.org/10.1016/0093-691x(86)90143-3)

Patel, M., Parmar, S. C., & Patel, A. (2016). Early Pregnancy Diagnosis in Dairy

Animals. *International Journal of Agriculture Sciences*, 8(11), 1134–1136.

<https://doi.org/10.1155/2013/958540>

Purohit, G. (2010). *Methods Of Pregnancy Diagnosis In Domestic Animals: The Current Status*.

Raso, M. M. (2012). *Inseminación Artificial a Tiempo Fijo (I.A.T.F)*. Retrieved from https://inta.gob.ar/sites/default/files/script-tmp-inta_ganaderia46_inseminacion_ovina.pdf

Reese, S. T., Geary, T. W., Franco, G. A., Moraes, J. G. N., Spencer, T. E., & Pohler, K. G. (2019). Pregnancy associated glycoproteins (PAGs) and pregnancy loss in high vs sub fertility heifers. *Theriogenology*, 135, 7–12. <https://doi.org/10.1016/J.THERIOGENOLOGY.2019.05.026>

Reese, S. T., Pereira, M. H. C., Edwards, J. L., Vasconcelos, J. L. M., & Pohler, K. G. (2018). Pregnancy diagnosis in cattle using pregnancy associated glycoprotein concentration in circulation at day 24 of gestation. *Theriogenology*, 106, 178–185. <https://doi.org/10.1016/J.THERIOGENOLOGY.2017.10.020>

Ricci, A., Carvalho, P. D., Amundson, M. C., Fourdraine, R. H., Vincenti, L., & Fricke, P. M. (2015). Factors associated with pregnancy-associated glycoprotein (PAG) levels in plasma and milk of Holstein cows during early pregnancy and their effect on the accuracy of pregnancy diagnosis. *Journal of Dairy Science*, 98(4), 2502–2514. <https://doi.org/10.3168/jds.2014-8974>

Robles, N., Rico, A. A., Salas, M. B. T., & Martínez Peña, R. (2009). *Directorio UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO FACULTAD DE*

MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA.

Rodriguez, M. (2012). *Las glicoproteínas asociadas a la gestación detectadas mediante la técnica de elisa es un método confiable y seguro en el diagnóstico temprano dela preñez en vacas holstein.* Retrieved from

<http://repositorio.uaaan.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/3360/>

MARCO ANTONIO RODRIGUEZ HERRERA.pdf?sequence=1

Romano, J. E., & Fahning, M. L. (2013). Effects of early pregnancy diagnosis by per rectal palpation of the amniotic sac on pregnancy loss in dairy cattle.

Journal of the American Veterinary Medical Association, 243(10), 1462–

1467. <https://doi.org/10.2460/javma.243.10.1462>

Romano, J. E., Thompson, J. A., Forrest, D. W., Westhusin, M. E.,

Tomaszweski, M. A., & Kraemer, D. C. (2006). Early pregnancy diagnosis

by transrectal ultrasonography in dairy cattle. *Theriogenology*, 66(4), 1034–

1041. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2006.02.044>

Sakumoto, R. (2016). Pregnancy-associated changes in uterine-luteal

relationships in cows: A mini-review. *Reproductive Biology*, 16(2), 182–188.

<https://doi.org/10.1016/j.repbio.2016.01.005>

Sampaio Baruselli, P., Ferreira, R. M., Henrique, M., Colli, A., Elliff, F. M.,

Francisco, M., ... Gonzales De Freitas, B. (2017). Timed artificial

insemination: current challenges and recent advances in reproductive efficiency in beef and dairy herds in Brazil. *SBTE.*

<https://doi.org/10.21451/1984-3143-AR999>

- Santos, J. E. P., Thatcher, W. W., Chebel, R. C., Cerri, R. L. A., & Galvão, K. N. (2004). The effect of embryonic death rates in cattle on the efficacy of estrus synchronization programs. *Animal Reproduction Science*, 82–83, 513–535. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2004.04.015>
- Shirasuna, K., Matsumoto, H., Matsuyama, S., Kimura, K., Bollwein, H., & Miyamoto, A. (2015). Possible role of interferon tau on the bovine corpus luteum and neutrophils during the early pregnancy. *REPRODUCTION*, 150(3), 217–225. <https://doi.org/10.1530/REP-15-0085>
- Silva, E., Sterry, R. A., Kolb, D., Mathialagan, N., McGrath, M. F., Ballam, J. M., & Fricke, P. M. (2007). Accuracy of a pregnancy-associated glycoprotein ELISA to determine pregnancy status of lactating dairy cows twenty-seven days after timed artificial insemination. *Journal of Dairy Science*, 90(10), 4612–4622. <https://doi.org/10.3168/jds.2007-0276>
- Sponchiado, M., Gomes, N. S., Fontes, P. K., Martins, T., Del Collado, M., Pastore, A. D. A., ... Binelli, M. (2017). Pre-hatching embryo-dependent and -independent programming of endometrial function in cattle. *PLoS ONE*, 12(4). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0175954>
- Thatcher, W. W. (2017). A 100-Year Review: Historical development of female reproductive physiology in dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 100(12), 10272–10291. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13399>
- Thomas F. Fletcher, A. F. W. (2013). Developmental Anatomy. *CVM 6903*. Retrieved from <http://vanat.cvm.umn.edu/vanatpdf/EmbryoLectNotes.pdf>

- Thomas R Hansen, L. D. P. S. and T. E. S. (2017). Paracrine and endocrine actions of interferon tau (IFNT). *Reproduction, Volume 154: Issue 5*, F45–F5. Retrieved from [https://rep.bioscientifica.com/configurable/contentpage/journals\\$002frep\\$002f154\\$002f5\\$002fREP-17-0315.xml](https://rep.bioscientifica.com/configurable/contentpage/journals$002frep$002f154$002f5$002fREP-17-0315.xml)
- UNAL. (2014). *Toma muestra orina bovinos*. Retrieved from http://medicinaveterinariaydezootecnia.bogota.unal.edu.co/fileadmin/FVMZ/Servicios/bioetica/Pro_autorizados/004_Toma_muestra_orina_bovinos.pdf
- USDA, & DAIReXNET. (2019). Methods for Diagnosis and Monitoring of Pregnancy in Dairy Cattle and their Implementation . Retrieved November 6, 2019, from <https://dairy-cattle.extension.org/methods-for-diagnosis-and-monitoring-of-pregnancy-in-dairy-cattle-and-their-implementation/>
- Valadão, L., Moreira da Silva, H., & Moreira da Silva, F. (2019). Bovine Embryonic Development to Implantation. In *Embryology - Theory and Practice*. <https://doi.org/10.5772/intechopen.80655>
- Van Leeuwen, J., Berg, D. K., & Pfeffer, P. L. (2015). Morphological and gene expression changes in cattle embryos from hatched blastocyst to early gastrulation stages after transfer of in vitro produced embryos. *PLoS ONE*, *10*(6). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0129787>
- Vanroose, G., De Kruif, A., & Van Soom, A. (2000). Embryonic mortality and embryo-pathogen interactions. *Animal Reproduction Science*, *60–61*, 131–143. [https://doi.org/10.1016/S0378-4320\(00\)00098-1](https://doi.org/10.1016/S0378-4320(00)00098-1)

- Wallace, R. (2019). Bovine pregnancy associated glycoproteins can alter selected transcripts in bovine endometrial explants. *Theriogenology*, 131, 123–132. <https://doi.org/10.1016/J.THERIOGENOLOGY.2019.03.026>
- Waters, K. (2017). Fetal Development of the Beef Calf - VitaFerm. Retrieved November 5, 2019, from <https://vitaferm.com/whats-going-on-in-there-fetal-development-of-the-beef-calf/>
- Yasser Lenis Sanin, Juan Guillermo Maldonado Estrada, & Nélida Rodríguez Osorio. (2014). Desarrollo fetal, Gestación y parto en la vaca. Retrieved November 6, 2019, from https://www.researchgate.net/publication/263389418_Desarrollo_fetal_Gestacion_y_parto_en_la_vaca

ANEXOS

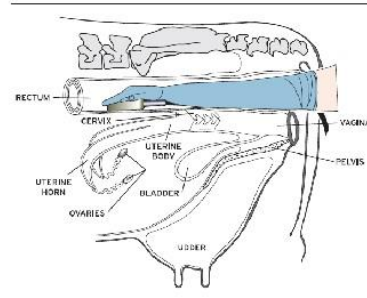
Anexo 1

Protocolo ginecología © 2018 by the University of Idaho

Ultrasound methodology

Ultrasound imaging for pregnancy diagnosis should not be attempted by untrained individuals. Individuals who choose to conduct ultrasound as a pregnancy checking method should follow these steps:

1. Charge equipment battery and have an extra charged battery on hand before beginning.
2. Equipment should be set up and screen adjusted to optimize the image and improve reading accuracy. Direct sunlight can make screen interpretation difficult so it is often necessary to place a temporary structure, such as a tarp, over the screen to aid in reading results if facilities are outdoors and uncovered.
3. A veterinary-grade plastic sleeve should be worn. Ultrasound is normally done with the left arm as described in the palpation section.
4. A veterinary-grade latex glove can be fitted over the sleeved arm. It is helpful to fasten the plastic sleeve to your clothing to ensure the sleeve is positioned and secured properly. A pair of forceps, clips or rubber bands work well.
5. Apply obstetrical lubricant to the probe for each palpation. The lubricant helps obtain an accurate picture on the screen and aids in insertion into the cow.
6. Gently insert your hand and transducer in the rectum. Once inside the rectum, apply firm, but gentle pressure on the rectal floor. A slow, gentle sweeping motion from side to side will help you obtain pictures of the uterine environment, reproductive structures and pregnancies.
7. In most cases, it is not necessary to change sleeves and gloves for each cow. However, if blood or other discharge is discovered in a cow, change the sleeve immediately before ultrasounding additional cows. Some diseases, such as anaplasmosis and lymphoma, among others, can be transmitted via fluids on the sleeves and probe. When ultrasounding herds with these diseases, sleeves should be changed for each cow and the probe should be cleaned with a mild disinfectant and rinsed with water between each cow. To promote good herd health and management practices, consider changing sleeves periodically to reduce the incidence of spreading disease. Change sleeves that become torn immediately.
8. Most producers choose to mark the cow on the hips with chalk or bleach to aid in sorting cows following pregnancy checking. For example, a straight mark on both sides of the hip can be used for pregnant cows while an "O" can be used to designate open cows.
9. Record information on animal identification and pregnancy status and summarize on record sheets of your choosing.



Tomado de (Gunn & John B. Hall, 2018)

Anexo 2

Protocolo © 2016 IDEXX Laboratories

IDEXX Visual Pregnancy Test

Test With Confidence™

Prepare Reagents

1 Before you begin

Allow reagents to come to room temperature (18–26°C).
Swirl gently to mix.

Dilute wash concentrate

Dilute wash concentrate 1/10 in distilled or DI water
(10 mL concentrate in 90 mL water for each test strip).

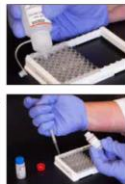
Dispense Samples and Reagents into ELISA plate

2 Dispense

Dispense 1 drop sample diluent into each well.
Using precision pipettor:

- With a fresh tip, dispense undiluted negative control into 2 wells.
- Change tip and dispense positive control into 2 wells.
- Change tip and dispense sample into remaining wells. Use a fresh tip for each sample.

Gently tap plate to mix. Cover and incubate 30 min (±2 min) at room temperature.



Wash

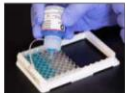
Remove cover and invert plate over sink. Shake to discard liquid.
Fill wells with wash solution, then invert to discard.
Repeat a total of 3–5 times. Do not allow plate to dry.



Dispense Detector Solution

3 Dispense

Dispense 2 drops detector solution into each well.
Cover plate and incubate 30 min (±2 min) at room temperature.



Wash

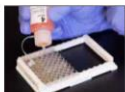
Remove cover and invert plate over sink. Shake to discard liquid.
Fill wells with wash solution, then invert to discard.
Repeat a total of 3–5 times. Do not allow plate to dry.



Dispense Conjugate Solution

4 Dispense

Dispense 2 drops HRP0 conjugate solution into each well.
Cover plate and incubate 30 min (±2 min) at room temperature.



Wash

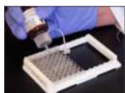
Remove cover and invert plate over sink. Shake to discard liquid.
Fill wells with wash solution, then invert to discard.
Repeat a total of 3–5 times. Do not allow plate to dry.



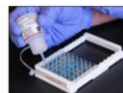
Dispense Substrate and Stop Solution

5 Dispense

Dispense 2 drops TMB substrate solution into each well.
Incubate for 15 min (±1 min) at room temperature.



Dispense 2 drops stop solution into each well.



Read Plate and Interpret Results

6 Assess validity

For valid results both positive control wells must appear blue



Interpret results

Pregnant (positive)
Wells appear blue.



Not Pregnant (negative)
Wells do not appear blue.



Doubtful/suspect
Sample wells that are difficult to interpret visually should be considered doubtful/suspect; pregnancy recheck is recommended.

Tomado de (UNAL, 2014)

Anexo 3

Protocolo I. A. T. F.

INSEMINACIÓN ARTIFICIAL A TIEMPO FIJO (I.A.T.F)

- Mejor implementación del destete precoz al lograrse lotes de terneros más homogéneos.
- Mejor utilización de los recursos forrajeros.

¿En que consiste la técnica?

La técnica consiste en intervenir en el ciclo estral de la hembra bovina, mediante la utilización de hormonas, logrando que los animales ovulen en un determinado período.

El control del ciclo estral se consigue utilizando dispositivos intravaginales que contienen progesterona, la hormona que controla el ciclo. El dispositivo se coloca dentro de la vagina durante 7 a 9 días, período durante el cual libera progesterona. Esta hormona bloquea el ciclo y, al retirarse los dispositivos al mismo tiempo, provoca que las vacas reanuden el ciclo y ovulen conjuntamente. Los protocolos se complementan con la aplicación de prostaglandina y de estrógenos que ayudan a sincronizar la ovulación y mejoran la calidad de los folículos (óvulos).

Los dispositivos, (DIB) pueden contener 0,5 o 1 gramo de progesterona, siendo estos últimos, reutilizables.

Este protocolo básico puede acompañarse del uso de otra hormona, la PMSC

que en vacas de baja condición corporal mejora los resultados al permitir una mayor salida del anestro.

Protocolo de IATF

Si bien existen varias opciones de control del ciclo estral, se hará referencia, en particular, al más utilizado en la región por su practicidad.

- **Día 0:** Revisación pre servicio, colocación de dispositivos con progesterona e inyección de 2 c.c. de benzoato de estradiol.
- **Día 7:** Retiro de los dispositivos y colocación de 2 c.c. de prostaglandina F2a.
- **Día 8:** Aplicar 1 c.c. de benzoato de estradiol.
- **Día 9:** Inseminación artificial a entre las 52 y 56 horas de retirados los dispositivos.
- **Día 27:** repaso con toros o re-sincronizar.

DIA 0	DIA 7	DIA 8	DIA 9
Colocación dispositivo de progesterona y 2 cc de benzoato de estradiol	Retiro de dispositivo de progesterona Aplicar y 2 cc de Prostaglandina	Aplicar 1 cc de benzoato de estradiol	Inseminación 52-56 horas de retirados los dispositivos

Tomado de (Raso, 2012)

Anexo 4

Protocolo Inseminación Artificial



Inseminación Artificial En Bovinos

La técnica recto-vaginal es la más comúnmente utilizada para inseminar vacas. Las habilidades básicas necesarias para dominar esta técnica pueden ser desarrolladas en tres días de práctica bajo la instrucción y supervisión de un profesional. Las habilidades adicionales y la confianza en sí mismo, sólo se logran con el tiempo.

- El primer paso en el proceso de inseminación es inmovilizar a la vaca que se va a inseminar. Hay varias cosas a tener en mente cuando se escoge un lugar para inseminar una vaca. Estas incluyen:
 - la seguridad del animal y del inseminador
 - la facilidad de su uso
 - protección contra clima adverso

Si es importante que usted sea zardo o derecho, es siempre recomendable que se use la mano izquierda en el recto para manipular el tracto reproductor, y la mano derecha para manipular la pistola de inseminación. Esto es debido a que el rumen de la vaca está ubicado al lado izquierdo de la cavidad abdominal, y empuja ligeramente al aparato reproductor hacia la derecha. Por lo tanto le resultará más fácil ubicar y manipular el tracto reproductor con la mano izquierda. Una palmadita en la nalga o unas palabras suaves pueden evitar que la vaca patee cuando se le acerque. Levante la cola con la mano derecha y suavemente aplique masaje al ano con la mano izquierda, usando siempre un guante lubricado. Ponga la cola detrás de la mano izquierda para que no interfiera con el proceso de la inseminación.

Justo la punta de los dedos e inserte la mano hasta la muñeca. Suavemente limpie la vulva con una toalla de papel, para quitar el exceso de estiércol. Tenga cuidado de no ejercer mucha presión al limpiar, pues más bien se podría empujar estiércol hacia adentro de la vulva y la vagina. Con la mano izquierda, forme un pulso y haga presión vertical sobre la vulva. Esto abrirá los labios de la vulva y permitirá insertar la pistola de inseminación varias pulgadas, antes de tocar las paredes de la vagina. Inserte la pistola en un ángulo sacrocaudal de 30 grados, para así evitar penetrar a la uretra y la vejiga. Una vez que la punta de la pistola haya entrado unas 6 a 8 pulgadas en la vagina, levante la parte trasera de la pistola hasta una posición casi horizontal, avance la pistola hasta hacerla tocar la parte posterior de la cervix. Usted notará una sensación boba en la pistola cuando ésta esté en contacto con la cervix.

La cervix consiste principalmente de tejido conectivo denso, y es nuestra referencia para inseminar una vaca. La cervix ha sido descrita como del tamaño y consistencia del cuello de un ovo. El tamaño puede variar en dependencia de la fecha del último parto y de

Algunos de los aspectos mas importantes para tener en cuenta cuando se este inseminando, queriendo lograr una máxima eficiencia reproductiva, son:

- Trabaje suavemente. No aplique mucha fuerza a la pistola
- La inseminación artificial es un proceso de dos pasos. Avance la pistola hasta la cervix y pase la cervix encima de la pistola
- Deposite el semen justo al pasar la cervix, en el útero
- Tómese su tiempo
- Relájese



Punto que el remen empuja el aparato reproductor a la derecha, es mucho más fácil manipular el tracto reproductor con tu mano izquierda.

▼ INSEMINACION ARTIFICIAL EN BOVINOS

vos. El avance que uno ha logrado usualmente se pierde, y nos volvemos a encontrar en los pliegues de la vagina. El secreto para dominar este segundo paso del proceso de inseminación, es saber como asir y manipular la cervix, y concentrarse en hacer el trabajo con la mano dentro de la vaca y no con la mano que está sujetando la pistola.

Cuando la pistola entra en contacto con la cervix, normalmente está en el fornx, directamente encima de la entrada. Agarre la punta del cono con el dedo pulgar por arriba y los dedos índice y medio por debajo. Esto cierra el fornx, a las doce y a las seis. Al igual que en el primer paso, todavía se debe saber donde está la punta de la pistola. Esto se determina usando los dedos anular y meñique y la palma de la mano izquierda.

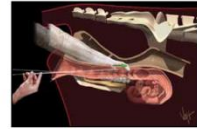
Use la palma y estos dos dedos para guiar la punta de la pistola hacia la entrada de cervix, que estará localizada entre el dedo pulgar y los dos dedos menores.

Haciendo suavemente con la punta de la pistola se encontrará la entrada a la cervix. Se sentirá que la pistola avanza hasta tocar el segundo anillo cervical. Mantenga una ligera pero constante presión hacia adelante con la pistola, y deslice su dedo pulgar y los dedos índice y medio justo frente a la punta de la pistola, y vuelva a asir la cervix. Debido al hecho que la cervix esta compuesto de tejido conectivo denso y de músculos, es muy difícil saber donde está la punta de la pistola cuando ésta está adentro, pero se puede estimar su ubicación con solo doblar la cervix. Usando la flexibilidad de la muñeca, haga movimientos rotatorios hasta sentir que el segundo anillo de la cervix avanzó sobre la pistola. Repita este proceso hasta sentir que todos los anillos hayan pasado encima de la punta de la pistola. En algunos casos es necesario doblar la cervix en un ángulo hasta de 90° para pasar algunos anillos cervicales. Recuerde que estas pasando la cervix encima de la pistola y no la pistola a través de la cervix.

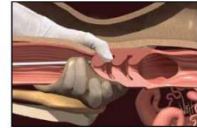
A veces, una pequeña maseda o un poco de retraer y avanzar de la pistola, son necesarios para ayudar a pasar el anillo cervical, pero para la mayoría de los casos, una pequeña presión hacia adelante es todo lo que se necesita, y el movimiento de la pistola debe ser mínima.

Cuando se hayan pasado todos los anillos de la cervix, la pistola debe deslizarse libremente hacia adelante. Puesto que la pared uterina es muy delgada, se podrá volver a sentir claramente la punta de la pistola. Ahora estas lista para verificar la ubicación de la punta de la pistola y depositar el semen. Rete tu mano izquierda hasta colocarlo encima de la cervix. Con el dedo índice, ubique la porción delantera de la cervix. Húfalo lentamente la pistola hasta sentir la punta bajo el dedo, casi en la zona caudal del estrión cervical. Levante tu dedo y lentamente deposite el semen. Empuje el embolo de la pistola para que el semen se deposite en el cuerpo uterino.

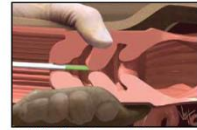
Con buenas técnicas de inseminación artificial y buena colocación de la punta de la pistola, el semen será depositado en el cuerpo uterino. Las contracciones uterinas ahora ayudaran a transportar los espermatozoides hacia los cuernos uterinos y hacia los oviductos, con buena distribución a ambos lados. Si la punta de la pistola se encuentra a una pulgada adelante de la cervix al momento de depositar el semen, este será depositado en un solo cuerno. Esto crea una condición llamada distribución desigual del semen. Si el



Tome la cervix y empuja hacia adelante para estrar las paredes de la vagina.



Agarre la punta del cono con tu dedo pulgar por arriba y los dos dedos índice y medio por debajo para cerrar la f'ornix y dirija la punta de la pistola hacia la cervix.

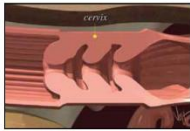


Usando la flexibilidad de la muñeca, dobla la cervix hasta sentir que el segundo anillo de la cervix pase encima de la pistola.



Empuje el embolo empuje lentamente para que el semen caiga en el cuerpo uterino.

▼ INSEMINACION ARTIFICIAL EN BOVINOS



La entrada a la cervix se extiende hacia la vagina.

la edad del animal. La cervix generalmente tiene tres o cuatro anillos o pliegues. La cara externa de la cervix tiene la forma de un cono y está apuntada hacia la vulva. Esto forma un círculo ciego de 360° alrededor de la entrada a la cervix. Este círculo ciego es llamado fornx. En la mayoría de las vacas, la cervix se halla en la base de cavidad pélvica, en vacas más viejas con aparatos reproductores más grandes, la cervix podría estar sobre el hueso pélvico, o en la cavidad abdominal.

Para ser un buen inseminador es muy importante que siempre se sepa donde está la punta de la pistola. Las paredes de la vagina están hechas de delgadas capas de musculatura lisa y tejido conectivo suelta. La punta de la pistola puede tocarse fácilmente con la mano izquierda a través de estas paredes. En la medida que avanza la pistola en la vagina, la mano aguantada debe avanzar sobre la punta de la pistola.

La presencia de heces en el recto puede interferir con la habilidad de palpar la cervix o la punta de la pistola, pero no siempre es necesario sacar todo el estiércol del recto. En caso de eso, colóque su mano en la parte de abajo del recto, permitiendo así que el estiércol pase por encima de ella.

Cuando se está manipulando la cervix se podrán sentir contracciones rectales tratando de sacar la mano del recto. Para dilatar estos anillos rectales, pase los dedos índice y medio entre uno de los anillos y haga masajes hacia adelante y hacia atrás. El anillo eventualmente se relajará y pasará sobre la mano hasta el antebrazo, y se podrá seguir con la manipulación.

Debido al hecho de que el aparato reproductor se mueve libremente, aquellas vacas con contracciones rectales y abdominales fuertes en respuesta a la palpación, físicamente pueden empujar el tracto reproductor hacia atrás, hasta la cavidad pélvica. Esto causará que se formen varios pliegues en la vagina. En estos casos la pistola de inseminación puede topar con uno de estos pliegues, y no seguir avanzando hacia la cervix. Para quitar estos pliegues, se debe tocar la cervix y empujarla hacia adelante. Esta hecha estira las paredes de la vagina, dejándola libre de pliegues, permitiendo que la pistola pueda seguir avanzando. Si no pudieras encontrar la cervix, circule la punta de la pistola con los dedos pulgar, índice y medio, con movimientos verticales de la muñeca, suavemente voye liberando los pliegues vaginales. Deslice suavemente la pistola hacia adelante, y repita el proceso hasta que se alcance la cervix.

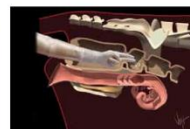
En este momento es importante que se entienda que inseminar una vaca es un proceso de dos pasos. El primer paso consiste en hacer llegar la punta de la pistola a la cervix. Para lograr esto, se debe mover la cervix y la vagina hacia adelante, alejándola de la cervix, para lograr alisar las paredes de la vagina. Si no siente la sensación boba de la cervix en la punta de la pistola, todavía estas en el primer paso del proceso.

Una vez que la pistola esté en contacto con la parte externa de la cervix, estas listo para empezar el segundo paso.

En este segundo paso se debe mover la cervix encima de la pistola de inseminación. Si señor, la cervix es movida sobre la pistola, y no la pistola a través de la cervix. Los movimientos bruscos de la pistola durante este segundo paso, muy pocas veces han sido productivos, es mas, frecuentemente han sido contraprodu-

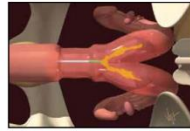


Mantenga la mano abierta sobre el piso del recto, permitiendo que el estiércol pase encima de ella.



Para dilatar las contracciones rectales, pase dos dedos por el centro de un anillo y haga masajes hacia adelante y hacia atrás.

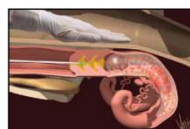
▼ INSEMINACION ARTIFICIAL EN BOVINOS



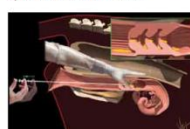
Con adecuadas técnicas de inseminación y colocación de pistola, el semen será depositado en el cuerpo uterino y las contracciones transportaran los espermatozoides hacia los cuernos y oviductos.



Si la pistola se ubicara a más de una pulgada dentro del cuerpo uterino, el semen será depositado en un solo cuerno.



Si se encuentra que la mucosa cervical es densa y pegajosa sobre la pistola en una vaca que ha sido inseminada anteriormente, ella podría estar gestante. En este caso, deposite el semen en la mitad de la cervix.



Respete de empujar con el embolo y no halar la pistola. Si se halara la pistola, una gran cantidad de semen podría ser depositado en la cervix y en la vagina.

animal ovulara en el cuerno contrario, las posibilidades de ligar una concepción se verán reducidas.

Respete de levantar el dedo índice después de verificar la posición de la punta de la pistola. Si no lo hicieras, también estarías enviando todo el semen a un solo cuerno, creando nuevamente una distribución desigual del semen. Cuando estes verificando la posición de la punta de la pistola, asegure de no ejercer demasiada presión. La musculatura del útero puede dañarse fácilmente predisponiendo la vaca a infecciones uterinas y baja fertilidad.

Respete de empujar el semen con el embolo de la pistola y no halar la pistola hacia atrás. Si movieras la pistola hacia atrás, gran parte del semen puede quedar depositada en la cervix y en la vagina, en vez de quedar en el útero.

Aunque la recomendación indica depositar el semen en el cuerpo uterino, si se tuviera duda sobre la ubicación de la punta de la pistola, avance la pistola y deposite el semen en cualquier cuerno. Es más probable lograr una gestación así, que depositando el semen en la cervix. Pero, si la mucosa cervical de una vaca que ha sido inseminada anteriormente, se siente espesa y pegajosa sobre la pistola, es posible que ella este gestante, en este caso, deposite el semen en el segundo anillo de la cervix.

Después de haber depositado el semen correctamente, lentamente retire la pistola del tracto reproductor. Retire la mano enguantada del recto y sacúdalo para quitar el estiércol. También verifique que la punta de la pistola no tenga sangre, pas, o faga de semen dentro de la funda. Haga agujeros para el sellado y para futuras referencias sobre lo que considere importante. Quite la funda de la pistola y bégala en tu mano enguantada. Por ultima vez verifique cual fue el toro utilizado. Quite el guante, empujando desde arriba, volviendo el guante completamente en la media que bajas. Saque el aire del guante y hágalo un nudo en la parte abierta, dejando adentro el estiércol y la funda. Bote el guante usando a un basurero. Limpie la pistola, séquela y guárdela.

Algunos de los aspectos mas importantes para tener en cuenta cuando se este inseminando, queriendo lograr una máxima eficiencia reproductiva, son:

- Trabaje suavemente. No aplique mucha fuerza a la pistola
- La inseminación artificial es un proceso de dos pasos. Avance la pistola hasta la cervix y pase la cervix encima de la pistola
- Deposite el semen justo al pasar la cervix, en el útero
- Tómese su tiempo
- Relájese

Los procedimientos correctos de inseminación artificial resultaran en una mayor eficiencia reproductiva. Se puede entonces ejercer mucha presión a la selección de los aspectos económicos, tales como la producción de leche o de carne, permitiendo a ti y a tu familia lograr un retorno mas alto a cada dólar invertido en semen.



Teléfono: (614) 873-4683

www.selectinc.com

©2014 Select Reproductive Solutions es una marca registrada de Select Inc. Inc.

SS134-1113
Printed in USA

Tomado de (DeJarnette et al., 2018)

