

ESTUDIO COMPARATIVO DE LA EFICACIA DEL DIAGNÓSTICO PRECOZ DE GESTACIÓN EN VACUNO MEDIANTE ECOGRAFÍA LUTEAL Y PROGESTERONA PLASMÁTICA

Comparative Evaluation of Early Pregnancy Diagnosis in Cattle by Progesterone Concentration and Luteal Ultrasonography

*Fidelina España España¹; Carlos C. Pérez Marín²; Inmaculada Rodríguez Artiles²;
Jesús Dorado Martín² y Manuel Hidalgo Prieto²*

¹Centro de Investigación y Formación Agraria "Alameda del Obispo". Junta de Andalucía. 14000-Córdoba. España.

²Dpto. de Medicina y Cirugía Animal. Facultad de Veterinaria. Universidad de Córdoba. 14014-Córdoba. España.

Tel: 034957218716, Fax: 034957211093. E-mail: pv2pemac@uco.es

RESUMEN

Se realizó un estudio comparativo entre 2 métodos para diagnóstico precoz de gestación en vacuno: progesterona plasmática (DP) y medida del área luteal (DAL). Cuarenta y dos vacas Holstein-Freisian fueron inseminadas (IA) después de mostrar signos de celo, y durante los 28 días posteriores se realizaron ecografías ováricas y toma de muestras de sangre, a intervalos de 4 días. El día 22 se tomó una muestra adicional de sangre. Se determinaron los niveles de progesterona plasmática (mediante RIA) y el área de tejido luteal (por ecografía), para posteriormente calcular el valor predictivo positivo y negativo, seguridad, especificidad y sensibilidad de las técnicas diagnósticas. Asimismo, se determinó el coeficiente de concordancia entre DP y DAL. Los resultados demostraron correlación significativa entre progesterona y área luteal ($r=0,74$; $P<0,001$). Se observó buena concordancia entre estado reproductivo real de los animales y DP durante los días 20, 22, 24 y 28 post-IA, al igual que los días 20, 24 y 28 cuando se empleó DAL. El valor predictivo de gestación positiva, seguridad y especificidad fueron superiores en el DAL frente al DP a partir del día 20, lo que demuestra la utilidad de la ecografía luteal en el diagnóstico temprano de gestación en vacuno.

Palabras clave: Diagnóstico de gestación, progesterona, ecografía, cuerpo lúteo.

ABSTRACT

The aim of this study was to compare two different early pregnancy diagnosis in cows: plasmatic progesterone concentration (DP) by RIA, and luteal tissue area (DAL) by ultrasound. From

the day of insemination (day 0) until day 28, ovarian ultrasound exploration and blood collection was performed in forty two Holstein Freisian cows on every fourth day. Day 22 an additional blood sample was collected. Positive and negative predictive value, accuracy, specificity and sensitivity were calculated for both diagnosis method, and uterine ultrasonography was used as the reproductive status reference. The data indicate significant correlation between progesterone and luteal tissue area ($r=0.74$; $P<0.001$). The degree of agreement between DP and DAL was calculated. Good concordance between reproductive status and DP was observed on day 20, 22, 24 and 28, similar to DAL. Positive predictive value, accuracy and specificity were higher in DAL than in DP since day 20, therefore luteal ultrasonography is an useful tool for early pregnancy diagnosis.

Key word: Pregnancy diagnosis, progesterone, ultrasonography, corpus luteum.

INTRODUCCIÓN

Desde el punto de vista económico resulta muy interesante conocer el estado reproductivo de los animales de una explotación en el menor tiempo posible tras la inseminación artificial, con el objetivo de planificar el trabajo, o en caso de que el diagnóstico de gestación sea negativo, solucionar el problema cuanto antes, ya sea adelantando la siguiente IA o instaurando una terapia adecuada. Para ello, se cuenta con herramientas diagnósticas como son la ecografía o la determinación de progesterona, entre otras.

En la literatura pueden encontrarse numerosos trabajos en los que se valora la eficacia de la determinación de progesterona para el diagnóstico de gestación entre los días 19 y 24 [11, 15, 21, 24, 30, 36, 42] realizadas tanto en muestras de

suelo o plasma sanguíneas, como en leche. Hoy día la determinación de progesterona apenas se utiliza debido, por un lado, a que su comercialización es muy deficiente y, por otro, a su elevado precio. Entre las ventajas que ofrece esta técnica se encuentra la predicción de estro, confirmación de no-gestación de manera precoz y control de la fertilidad del rebaño diagnosticando algunas patologías reproductivas con la consecuente instauración rápida del tratamiento más indicado, aunque algunos autores [10] afirman que su empleo no mejora los resultados diagnósticos conseguidos por palpación rectal.

Por otro lado, la ecografía ha permitido ampliar los conocimientos en reproducción animal y ofrece, entre otras, la posibilidad de diagnosticar la gestación en torno al día 26-28 por observación de la vesícula embrionaria, o hacia el día 32 por la detección del embrión y del latido cardíaco (diagnóstico certero). Asimismo, permite confirmar la presencia de estructuras ováricas, como es el caso del CL durante el periodo posterior a la IA, lo cual asegura que se ha producido la dehiscencia folicular. También ha permitido realizar estudios que evidencian la correlación entre concentración de progesterona y tamaño total [22, 35, 38] o área [20, 22] del CL, pero sin embargo, no existen referencias acerca de la utilidad del área de tejido luteal como diagnóstico precoz de gestación.

Este estudio fue planteado con el fin de evaluar si la determinación del área de tejido luteal, calculada mediante ecografía ovárica transrectal, podía resultar un método alternativo de diagnóstico de gestación en vacuno frente a la ecografía uterina y a la determinación hormonal de progesterona, de manera que adelantara la fecha de realización respecto al primero y evitara diagnósticos hormonales laboratoriales, a menudo incómodos, respecto al segundo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se estudiaron un total de 42 vacas Holstein-Freisian, con edades comprendidas entre 3 y 10 años, buena condición corporal, libres de enfermedades infecto-contagiosas, y con al menos un parto, para descartar así posibles alteraciones reproductivas congénitas. La experiencia se realizó en el sur de España (Andalucía Occidental), donde el clima es de tipo continental, con escasas precipitaciones y veranos muy calurosos. La detección del estro se realizó mediante observación diaria de los animales, durante 20 min, 3 veces al día, y se inseminaba aproximadamente 12 h. después de ser vistos en celo.

Desde el día 0 (día en que presentaban signos de celo), cada vaca fue sometida a exploraciones ecográficas transrectales de su aparato reproductor cada 4 días, hasta el día 28. Se empleó un ecógrafo Aloka SSD-210 DX, con sonda de 5,0 Mhz de barrido lineal, utilizada siempre por el mismo técnico. Durante dichas exploraciones se monitorizó el CL, calculándose el área luteal (cantidad de tejido luteal presente) mediante la fórmula $\frac{1}{2}$ altura x $\frac{1}{2}$ anchura x π [21]. En aquellos CLs que

presentaron cavidad central, se calculó el área de la misma y se le restó al área total del CL, con objeto de evaluar solamente el tejido luteal, y no el tamaño total del CL [23]. Se obtuvieron imágenes estáticas mediante una video-impresora de papel térmico Sony UP-850, que fueron analizadas posteriormente. Basándonos en experiencias previas [33], se estableció que cuando el área luteal era inferior a 4,5 cm² la vaca era considerada como no gestante, mientras que cuando era igual o superior a dicho nivel se anotaban como preñadas.

Por último, el día 32 se realizó una nueva ecografía, con el objeto de explorar el útero y visualizar la vesícula embrionaria y latido cardíaco embrionario, a fin de tomar este dato como diagnóstico certero de gestación.

Se realizaron tomas de muestras de sangre cada 4 días, desde el día 0 hasta el día 28, además del día 22. Las extracciones fueron realizadas en los vasos coxígeos, empleando agujas estériles y tubos de vacío (10 mL) con heparina de litio. Inmediatamente después eran centrifugados durante 20 min. a 2500 r.p.m. El plasma obtenido era refrigerado (entre 3 y 6 h.), y posteriormente congelado y almacenado a -20°C hasta el momento de su análisis.

La progesterona se determinó empleando un método de análisis de fase líquida con extracción. La dilución utilizada en el análisis era de 1/1500 en tampón fosfato 0,04 M, pH=7,0. La progesterona era extraída de 2 alícuotas de 200 µg. de plasma, con 3 ml de hexano. Al residuo seco de progesterona se le añadía tampón, suero antiprogesterona y la progesterona radiomarcada con tritio, incubándose a 4°C durante 24 horas. La fracción ligada se separó empleando una solución de carbón-dextrano y posteriormente se sometió a centrifugación. La sensibilidad del análisis fue de 16 pg/ml. y el porcentaje de recuperación de 84,3 ± 3,2% (n=10). Los coeficientes de variación intra-análisis e inter-análisis fueron de 10,4% (n=8) y 13,6% (n=6), respectivamente [28].

Tras determinar los niveles plasmáticos de progesterona, se estableció como criterio de gestación negativa valores inferiores a 2,5 ng/mL, y se consideraron como preñadas aquellas hembras en las que se superaba o igualaba dicha concentración. Este criterio fue establecido sobre investigaciones previas [33].

Una vez obtenidos y analizados los resultados diagnósticos se determinó la eficacia del DP y DAL:

$$PDG + = \frac{DG + \text{correctos}}{(DG + \text{correctos}) + (DG + \text{incorrectos})} \times 100$$

$$PDG - = \frac{DG - \text{correctos}}{(DG - \text{correctos}) + (DG - \text{incorrectos})} \times 100$$

donde PDG = Predicción o exactitud del DG

$$\text{Seguridad} = \frac{\text{Diagnósticos correctos}}{\text{Todos los diagnósticos}} \times 100$$

$$\text{Sensibilidad} = \frac{DG + \text{correctos}}{(DG + \text{correctos}) + (DG - \text{incorrectos})} \times 100$$

$$\text{Especificidad} = \frac{DG - \text{correctos}}{\text{vacas no gestantes (total de DG - reales)}} \times 100$$

El test Kappa de Cohen [8] se empleó para calcular la concordancia existente entre el estado reproductivo de las vacas (confirmado por ecografía uterina el día 32) y ambos métodos diagnósticos estudiados en este trabajo (DP y DAL). La interpretación de los valores de concordancia fue: <0,2=mala; 0,21-0,4 = ligera; 0,41-0,60 = moderada; 0,61-0,8 = buena; 0,81-1,00 = excelente. También se realizó dicho test con objeto de conocer la concordancia entre progesterona y área luteal, calculándose además el índice de correlación. Para todos estos análisis se utilizó el programa SPSS 7,5 for Windows.

RESULTADOS

Tras la IA y pasados 32 días se realizó el diagnóstico de gestación por ecografía transrectal del útero, encontrándose 14 hembras gestantes (33,3%) y 28 vacías (66,6%). Entre estas últimas, 9 retornaron a celo en un periodo normal (18-25 días), 5 presentaron celos cortos y repetidos y 14 no mostraron actividad sexual durante los 32 días que duró la experiencia. La correlación entre concentración de progesterona y área de tejido luteal (FIG. 1) alcanzó un valor de 0,74 (P<0,001). Dicho coeficiente fue 0,639 (P<0,001) en vacas gestantes y 0,711(P<0,001) en las no gestantes.

El índice de concordancia global (kappa) obtenido entre DP (<2,5 ng/ml y ≥2,5 ng/ml) y DAL (<4,5 cm² y ≥4,5 cm²) fue 0,699.

El grado de concordancia esperable por azar (índice kappa) entre el estado reproductivo (confirmado ecográficamente a los 32 días) y el DP fue 0,320, calculado globalmente durante los 28 días post-IA. Sin embargo, este resultado global enmascara la buena o aceptable concordancia obtenida para los días 20, 22, 24 y 28 (TABLA I).

Se calculó la eficacia diagnóstica desde el día 16 al día 28, ya que no se encontraron diferencias significativas entre

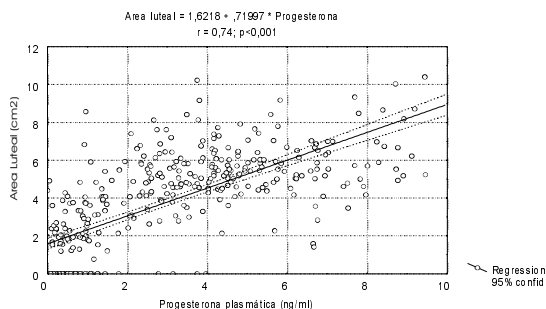


FIGURA 1. ÍNDICE DE CORRELACIÓN ENTRE ÁREA LUTEAL (CM²) Y CONCENTRACIÓN DE PROGESTERONA (NG/ML).

**TABLA I
ÍNDICE DE CONCORDANCIA ENTRE DP Y EL ESTADO REPRODUCTIVO REAL DE LOS ANIMALES ESTUDIADOS**

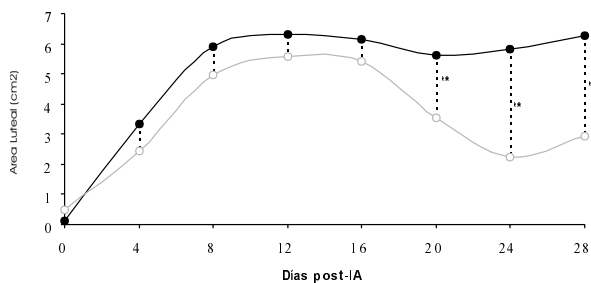
Día	ESTADO	DP		Índice Kappa	Error tip.	Sig.
		<2,5 ng/ml	≥2,5 ng/ml			
0	+	14	0			
	-	28	0	-	-	-
4	+	13	1			
	-	27	1	0,045	0,098	0,608
8	+	0	14			
	-	11	17	0,301	0,094	0,006
12	+	0	14			
	-	6	22	0,154	0,066	0,061
16	+	0	14			
	-	5	23	0,127	0,060	0,092
20	+	0	14			
	-	15	13	0,435	0,107	0,001
22	+	0	14			
	-	19	9	0,585	0,112	0,000
24	+	0	14			
	-	21	7	0,667	0,108	0,000
28	+	0	14			
	-	21	7	0,667	0,108	0,000

vacas gestantes y vacías hasta el día 20 (FIGS. 2 y 3), y el día 16 comenzaba a vislumbrarse esta diferencia.

La TABLA II presenta los índices de eficacia diagnóstica durante los primeros días post-IA conseguidos por determinación de la concentración de progesterona plasmática, considerando como hembras gestantes aquellas que mostraban un nivel de progesterona superior o igual a 2,5 ng/ml y no gestantes las que tenían niveles inferiores.

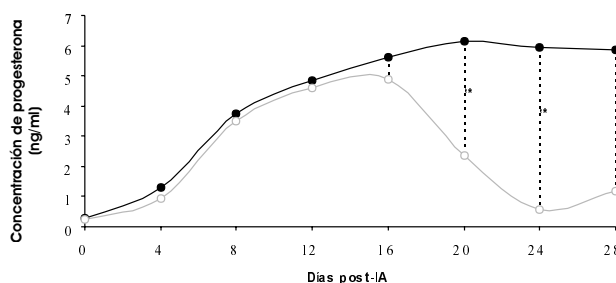
Del mismo modo, se analizaron los valores obtenidos en el DAL, calculando su concordancia con el diagnóstico de gestación por ecografía uterina el día 32. El índice de concordancia global fue de 0,361, y calculamos el índice kappa específico para los distintos días de estudio, obteniendo grados de concordancia buenos los días 20, 24 y 28 (TABLA III).

En la TABLA IV se comparan los resultados obtenidos empleando el área luteal (cm²) como método de diagnóstico de gestación, considerando que las vacas gestantes deben tener un área luteal superior o igual a 4,5 cm², mientras que las no gestantes deben estar por debajo de dicho umbral.



** : diferencias significativas (P<0,01).

FIGURA 2. ÁREA DE TEJIDO LUTEAL (cm²) EN VACAS GESTANTES (línea negra, círculo sólido) Y VACÍAS (línea gris, círculo hueco).



** : diferencias significativas (P<0,01).

FIGURA 3. CONCENTRACIÓN DE PROGESTERONA (ng/mL) EN VACAS GESTANTES (LÍNEA NEGRA, CÍRCULO SÓLIDO) Y VACÍAS (LÍNEA GRIS, CÍRCULO HUECO).

TABLA II
ÍNDICES RELATIVOS A LA EFICACIA DIAGNÓSTICA CONSEGUIDA MEDIANTE DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE PROGESTERONA PLASMÁTICA (DP)

Progesterona	Día 16	Día 20	Día 22	Día 24	Día 28
DG +correctos	14	14	14	14	14
DG + falsos	23	13	9	7	7
DG -correctos	5	15	19	21	21
DG -falsos	0	0	0	0	0
Pred. DG+	37,84	51,85	60,87	66,67	66,67
Pred. DG-	100	100	100	100	100
Seguridad	45,24	69,05	78,57	83,33	83,33
Sensibilidad	10	100	100	100	100
Especificidad	17,86	53,57	67,86	75,00	75,00

DISCUSIÓN

El coeficiente de correlación obtenido al estudiar el área luteal y los niveles plasmáticos de progesterona es significativo, al igual que habían descrito Kastelic y col. [23] que obtuvieron un valor de 0,69 y Howell y col. [20] que describieron la existencia de variación en dicho coeficiente según la estación. También se ha demostrado correlación positiva entre el área total del CL y la progesterona en leche [38] o plasma sanguíneo [35] con valores de 0,68 y 0,85, respectivamente. Otros autores, sin embargo, han observado índices de correlación insuficientes [3, 40]. Existen variaciones a lo largo del ciclo estral, debido al rápido descenso de la concentración de progesterona durante los últimos días del mismo, acompañado por la desaparición del CL, de modo que 2-3 días antes del siguiente celo la estructura luteal está aun presente pero ya no es funcional. La cantidad de tejido luteal, formado por células luteales grandes y pequeñas productoras de progesterona, está relacionada con la concentración de dicha hormona en plasma, pero no siempre los CL son funcionales, ya que posibles alteraciones de las células mencionadas o modificaciones de sus

componentes pueden alterar su secreción. La correlación entre área luteal y progesterona plasmática no es constante a lo largo de todo el ciclo estral [39], de manera que durante la fase de regresión este índice perderá significación. El día 8 se detectó un CL funcional en todas las vacas que ovularon, tal y como describen otros autores [4, 17, 20, 35], alcanzándose niveles de progesterona próximos a 4 ng/mL, y no existiendo aun diferencias entre preñadas y no preñadas. Los datos obtenidos durante la experiencia indican que los niveles de progesterona son más elevados en las vacas gestantes que en las repetidoras, aunque dichas diferencias tardan en hacerse significativas. A este respecto, el día 16 ya comienza a notarse una ligera desviación entre esas medidas hormonales, que se hará significativa a partir del día 20. Estos resultados difieren de los obtenidos por otros autores, que detectan diferencias antes de los 20 días post-IA. En este sentido, algunas experiencias realizadas en vacas de leche describen el incremento de esta hormona a partir del día 3-5 [2, 7] y otras indican que el nivel de progesterona sanguínea era significativamente más alto en vacas preñadas desde el día 6 de gestación en adelante [14]; resultados similares fueron obtenidos en búfalas, donde se confirmaban niveles mayores durante la 1ª semana de

TABLA III
ÍNDICES DE CONCORDANCIA ENTRE DIAGNÓSTICO DE GESTACIÓN MEDIANTE MEDIDA DEL ÁREA LUTEAL (DAL)
Y ESTADO REPRODUCTIVO REAL DE LAS VACAS ESTUDIADAS

Día	ESTADO	DAL		Índice Kappa	Error tip.	Sig.
		<4,5 cm ²	≥4,5 cm ²			
0	+	14	0	-	-	-
	-	28	0			
4	+	12	2	0,133	0,122	0,204
	-	27	1			
8	+	3	11	0,206	0,124	0,116
	-	13	15			
12	+	0	14	0,270	0,089	0,010
	-	10	18			
16	+	1	12	0,189	0,094	0,073
	-	9	19			
20	+	0	14	0,545	0,112	0,000
	-	18	10			
24	+	0	14	0,754	0,100	0,000
	-	23	5			
28	+	0	14	0,710	0,105	0,000
	-	22	6			

TABLA IV
ÍNDICES RELATIVOS A LA EFICACIA DIAGNÓSTICA CONSEGUIDOS MEDIANTE CÁLCULO DEL ÁREA LUTEAL

Area luteal	Día 16	Día 20	Día 24	Día 28
DG+ correctos	13	14	14	14
DG+ falsos	19	10	5	6
DG- correctos	9	18	23	22
DG- falsos	1	0	0	0
Pred. DG+	40,63	58,33	73,68	70,00
Pred. DG-	90,00	100	100	100
Seguridad	52,38	76,19	92,86	85,71
Sensibilidad	92,86	100	100	100
Especificidad	32,14	64,29	82,14	78,57

gestación [12, 13], aunque otros investigadores sostienen que las diferencias aparecen más tarde, hacia el día 9 ó 10 [19, 26, 29]; Bulman y Lamming [6] comenzaron a detectarlas a partir del día 13, afirmando que si una vaca no queda gestante, el proceso de luteolisis se adelanta; y más recientemente, se ha observado que este aumento no se produce hasta que tiene lugar el reconocimiento maternal de la gestación [34]. Otros in-

vestigadores describen diferencias en la concentración de progesterona entre vacas gestantes y cíclicas vacías desde el día 16, siendo superiores en las primeras [32]. Se sugiere, por tanto, una asociación entre el incremento temprano de la progesterona plasmática y el estatus reproductivo, la cual ha sido más fácilmente detectada en vacas adultas de leche que en vacas o novillas de carne [1], debido quizás a las diferencias

en el metabolismo esteroideo entre vacas en lactación o vacas fuera de lactación [9, 41]. El establecimiento y mantenimiento de la gestación van a depender de la síntesis y secreción continuada de progesterona desde el CL. Recientes estudios relacionan a esta hormona con la secreción de interferón Tau [25], sustancia involucrada en el reconocimiento precoz de la gestación y liberada en vacuno a partir del día 15-17 hasta el día 22-28 aproximadamente [16, 25, 37]. Esto supone una explicación más de cómo la inadecuada función del CL llevará a la hembra a fracasar en su intento de quedar gestante.

En algunos trabajos se determina el índice de concordancia con objeto de conocer el grado de error entre el tamaño o aspecto del CL y su función. El presente trabajo arroja resultados que demuestran una buena concordancia ($Kappa=0,69$) entre la presencia física de tejido luteal (medido por ecografía) y la presencia funcional del CL (medido por concentraciones de progesterona). Experiencias realizadas en cebú arrojaron un índice kappa igual a 0,68 [18], mientras que en vacuno de leche alcanzaron hasta 0,72 tras clasificar los CLs como "en crecimiento", "de mitad de ciclo" o "no detectados" [4].

Sería muy interesante conseguir la máxima eficacia diagnóstica con una sola muestra sanguínea, obtenida a tiempo fijo. DP no presenta una concordancia constante con el estado reproductivo, alcanzando índices adecuados los días 22, 24 y 28. Analizando dichas fechas y valorando los índices de eficacia diagnóstica es posible afirmar que el día 24 es el más fiable y precoz. Si lleváramos a cabo el diagnóstico hormonal de gestación los días 19 ó 20, habría que realizarlo sobre un mayor número de vacas que si esperamos 2 ó 3 días más; de este modo, se descartarían aquellas que repiten celos, disminuyendo el costo total del test diagnóstico. Los resultados obtenidos indican que el día 24, la seguridad y especificidad del método es superior al obtenido los días 20 y 22, y superiores a los obtenidos por otros autores en muestras de leche [5]. Respecto a la sensibilidad, se obtuvo un 100% desde el día 8. A la hora de confirmar diagnósticos de gestación positivos, el día 24 se obtuvo una exactitud superior (66,67%) al resto de días estudiados, y se puede afirmar que dichas variaciones son debidas a los cambios de funcionalidad luteal, inherentes al periodo del ciclo estral estudiado. Los mejores índices referentes a eficacia del DP se obtienen el día 24, aunque si la vaca está vacía, puede resultar demasiado tarde, lo que obliga a esperar otros 21 días o aplicar un tratamiento de inducción del estro, aumentando en ambos casos el número de días abiertos y los costes.

Es importante tener en cuenta que una baja concentración de progesterona permite la aparición de un signo luteolítico muy potente, pero esto no significa que en todos los casos en los que se muestren valores ligeramente bajos de dicha hormona, dentro de un rango luteal normal, se produzca la pérdida embrionaria, ni que en todos los casos con progesterona alta se produzca gestación. Por tanto, la concentración de progesterona materna no se debe considerar como un determinante absoluto de gestación temprana, sino más bien

como un factor que influye sobre la probabilidad de éxito o fracaso reproductivo [27, 32].

No se encontraron referencias bibliográficas acerca de la utilidad del área luteal, medida por ecografía, como indicador de gestación. Los resultados han indicado una concordancia global ligera (0,361), similar a la obtenida mediante análisis de progesterona plasmática (0,320). Sin embargo, y al igual que ocurriera con la progesterona, la concordancia específica fue adecuada en algunos días del ciclo (20, 24 y 28).

Se aprecia desde el día 20 un valor predictivo negativo del 100%, lo que ratifica la indudable utilidad del DAL para detectar con certeza vacas no gestantes. Respecto a la exactitud para diagnosticar gestaciones positivas, los porcentajes disminuyen mucho, siendo la fecha más adecuada el día 24 (73,68%). En este caso, los errores aparecen a consecuencia de muerte embrionaria temprana (en cuyo caso se alargan los ciclos, aparecen CL persistentes y los niveles de progesterona permanecen elevados durante más días), quistes luteínicos o ciclos alargados. En los días 20 y 24 se obtuvo una sensibilidad del 100%, lo que se interpreta como detección correcta de todas las vacas que están gestantes, y el día 24 la especificidad fue superior incluso al diagnóstico hormonal (82,14% vs 75%). Esto indica la capacidad del DAL para detectar correctamente diagnósticos negativos, mientras que el DP da lugar a un aumento de los resultados falsos positivos. En esta experiencia, los errores cometidos al emplear el DAL durante el día 20 fueron debidos en un caso a espermatización en fase luteal, en otro a formación de un quiste luteínico, en dos a CL persistentes, y en 6 casos observamos CL normales superiores a $4,5 \text{ cm}^2$ en vacas que estaban vacías. El día 24 se observó una mayor eficacia diagnóstica, y quizás el DAL pueda convertirse en un método alternativo de diagnóstico de gestación, frente al DP o frente a la ecografía uterina.

En los dos métodos estudiados, el valor predictivo negativo es bajo, lo que significa que un alto número de animales son diagnosticados como gestantes sin estarlo. Esto indica que la línea de corte establecida para diferenciar gestantes y no gestantes debería variar según el día en que realicemos los diagnósticos, aunque la alta sensibilidad obtenida ofrece cierta garantía diagnóstica.

CONCLUSIONES

A la vista de los resultados obtenidos se concluye que ninguno de estos métodos diagnósticos son fiables por debajo del día 20 post-IA, utilizando los valores de referencia citados. Por otro lado, se afirma que el cálculo del área luteal para determinar el estado reproductivo de una vaca en los días 24 y 28 del ciclo estral es mejor que la valoración de progesterona plasmática, lo que supone una ventaja diagnóstica. Esto amplía las posibilidades y utilidades de la ecografía luteal, pudiendo considerarse como una alternativa al test de progesterona para diagnóstico de gestación.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] AHMAD, N.; BEAM, S.W.; BUTLER, W.R.; DEEVER, D.R.; DUBY, R.T.; ELDER, D.R.; FORTUNE, J.E.; GRIEL, L.C.; JONES, L.S.; MILVAE, R.A.; PATE, J.L.; REVAH, I.; SCHREIBER, D.T.; TOWNSON, D.H.; TSANG, P.C.W.; INSKEEP, E.K. Relationships of fertility to patterns of ovarian follicular development and associated hormonal profiles in dairy cows and heifers. **J. Anim. Sci** 74:1943-1952. 1996.
- [2] ALMEIDA, A.P. Early embryonic mortality in "repeat-breeder" cows. **Ars Veterinaria** 11(2):18-34. 1995.
- [3] BADINGA, L.; THATCHER, W.W.; WILCOX, C.J.; MORRIS, G.; ENTWISTLE, K.; WOLFENSON, D. Effect of season on follicular dynamics and plasma concentrations of estradiol-17beta, progesterone and luteinizing hormone in lactating holstein cows. **Theriogen**. 42:1263-1274. 1994.
- [4] BATTOCCHIO, M.; GABAI, G.; MOLLO, A.; VERONESI, M.C.; SOLDANO, F.; BONO, G.; CAIROLI, F. Agreement between ultrasonographic classification of the CL and the plasma progesterone concentration in dairy cows. **Theriogen**. 51:1059-1069. 1999.
- [5] BHUIYAN, M.M.U.; SHAMSUDDIN, M.; ALAM, M.G.S.; GALLOWAY, D. Milk progesterone assay as a tool for fertility control in small holding dairy farms. **14th International Congress on Animal Reproduction**, Stockholm, Suecia. 2-6 Julio 2:14. 2000.
- [6] BULLMAN, D.C.; LAMMING, G.E. Milk progesterone levels in relation to conception, repeat breeding and factors influencing acyclity in dairy cows. **J. Reprod. Fert.** 54:447-458. 1978.
- [7] BUTLER, W.R.; CALAMAN, J.J.; BEAM, S.W. Plasma and milk urea nitrogen in relation to pregnancy rate in lactating dairy cattle. **J. Anim. Sci.** 74:858.1996.
- [8] COHEN, J.A. Coefficient of agreement for nominal scales. **Ed. Psychol. Measure** 20. 37-46 pp. 1960.
- [9] DE LA SOTA, R.L.; LUCY, M.C.; STAPLES, C.R.; THATCHER, W.W. Effects of recombinant bovine somatotropin (sometribove) on ovarian function in lactating and nonlactating dairy cows. **J. Dairy Sci.** 76:1002.1993.
- [10] DOBSON, H; NANDA, A.S. Reliability of cyst diagnosis and effect of energy status on LH released by estradiol or GnRH in cows with ovarian cysts. **Theriogen**. 37:465-472. 1992.
- [11] EDQVIST, L.E.; STABENFELDT, G.H. Reproductive hormones. En: **Clin. Biochem. Of Domestic anim.** (Kaneko, JJ). 4th Ed. Academy Press Inc., London. 513-540 pp. 1989.
- [12] EL-BELELY, M.S. Progesterone, oestrogens and selected biochemical constituents in plasma and uterine flushing of normal and repeat-breeder buffalo cows. **J. Agri. Sci.** 120:241-250. 1993.
- [13] EL-BELELY, M.S.; EISA, H.M.; EZZO OMAIMA, H.; GHONEIM, I.M. Assesment of fertility by monitoring changes in plasma concentrations of progesterone, oestradiol-17, androgens and oestrone sulphate in suboestrous buffalo cows treated with prostaglandin F2 α . **Anim. Reprod. Sci.** 40:7-15. 1995.
- [14] ERB, R.E.; GARVERICH, H.A.; RANDEL, R.D.; BROWN, B.L.; CALLAHAN, C.J. Profiles of reproductive hormones associated with fertile and nonfertile inseminations of dairy cows. **Theriogen**. 5:227-242.1976.
- [15] GLENCROSS, R.G.; MUNRO, I.B.; SENIOR, B.E.; POPE, G.S. Concentrations of oestradiol-17, oestrone and progesterone in jugular venous plasma of cows during the oestrous cycle and in early pregnancy. **Acta Endocrinol.** 73:374-384. 1973.
- [16] GODKIN, J.D.; LIFSEY, B.J.; GILLESPIE, B.E. Characterization of bovine conceptus proteins produced during the peri-ans postattachment periods of early pregnancy. **Biol. Reprod.** 38:703-712. 1988.
- [17] GONZÁLEZ-STAGNARO, C.; MADRID-BURY, N.; MORALES, J.; MARÍN, D. Efecto luteoprotector del tratamiento GnRH en vacas mestizas repetidoras con cuerpo lúteo sub-funcional. **Rev. Científ. FCV-LUZ** 1:14-20. 1993.
- [18] GUTIÉRREZ, A.C.; ZARCO, L.; GALINA, C.S.; RUBIO, Y.; BASURTO, H. Predictive value of palpation per rectum for detection of the CL in Zebu cattle as evaluated by progesterone concentrations and ultrasonography. **Theriogen**. 46:471-479. 1996.
- [19] HENRICKS, D.M.; LAMOND, D.R.; HILL, J.R.; DIKEY, J.F. Plasma progesterone concentrations before mating and in early pregnancy in the beef heifers. **J. Anim. Sci.** 33:450-454. 1971.
- [20] HOWELL, J.L.; FUQUAY, J.W.; SMITH, A.E. Corpus luteum growth and function in lactating Holstein cows during spring and summer. **J. Dai. Sci.** 77:735-739. 1994.
- [21] HRUSKA, K. Milk progesterone determination en dairy cows. **Reprod. Dom. Anim.** 31:483-485. 1996.
- [22] KASTELIC, J.P.; BERGFELT, D.R.; GINTHER, O.J. Relationship between ultrasonic assessment of the corpus luteum and plasma progesterone concentration in heifers. **Theriogen**. 33:1269-1278. 1990a.
- [23] KASTELIC, J.R.; PIERSON, R.A.; GINTHER, O.J. Ultrasonic morphology of corpora lutea and central cavities

- during the estrous cycle and early pregnancy in heifers. **Theriogen.** 34:487-498. 1990b.
- [24] KAUL, V.; PRAKASH, B.S. Accuracy of pregnancy/non-pregnancy diagnosis in zebu and crossbred cattle and Murrah buffaloes by milk progesterone determination post insemination. **Trop. Anim. Health and Product.** 26:187-192. 1994.
- [25] KERBLER, T.L.; BUHR M.M.; JORDAN L.T.; LESLIE K.E.; WALTON J.S. Relationship between maternal plasma progesterone concentration and interferon-tau synthesis by the conceptus in cattle. **Theriogen.** 47:703-714. 1997.
- [26] LAMMING, G.E.; DARWASH, A.O.; BACK, H.L. Corpus luteum function in dairy cows and embryo mortality. **J. Reprod. Fertil.** 37(Suppl):245-252. 1989.
- [27] LAMMING, G.E.; MANN, G.E. Control of endometrial oxytocin receptors and prostaglandin F2 production in the cow by progesterone and oestradiol. **J. Reprod. Fertil.** 103: 69-73. 1995.
- [28] LÓPEZ, A.; GÓMEZ, A.; INSKEEP, E.K. Effects of a single injection of LH-RH on the response of anestrous ewes to the introduction of rams. **J. Anim. Sci.** 59:277-283. 1984.
- [29] LUKASZEWSKA, J.; HANSEL, W. Corpus luteum maintenance during early pregnancy in the cow. **J. Reprod. Fertil.** 59:485-493. 1980.
- [30] NOAKES, D. Pregnancy diagnosis in cattle. **In practice** 7 (March):46-51. 1985.
- [31] NORUSIS, M.J. **SPSS 7,5 Guide to data analysis.** Ed. BK & DISK. 1997.
- [32] PARKINSON, T.J.; LAMMING, G.E. Interrelationships between progesterone, 13,14-dihydro-15-keto PGF-2 (PGFM) and LH in cyclic and early pregnant cows. **J. Reprod. Fert.** 90:221-233. 1990.
- [33] PÉREZ, CC. Seguimiento hormonal e imágenes ecográficas de la patología ovárica en vacas repetidoras de aptitud láctea. Universidad de Córdoba, España (Tesis Doctoral) 82-119 pp. 2001.
- [34] PRITCHARD, J.Y.; SCHRICK, F.N.; INSKEEP, E.K. Relationship of pregnancy rate to peripheral concentrations of progesterone and estradiol in beef cows. **Theriogen.** 42:247. 1994.
- [35] RIBADU, A.Y.; WARD, W.R.; DOBSON, H. Comparative evaluation of ovarian structures in cattle by palpation per rectum, ultrasonography and plasma progesterone concentration. **Vet. Rec.** 5:452-457. 1994b.
- [36] SASSER, R.G.; Ruder, C.A. Detection of early pregnancy in domestic ruminants. **J. Reprod. Fertil. Suppl.** 34:261-271. 1987.
- [37] SHELDON, M. Bovine fertility-practical implications of the maternal recognition of pregnancy. **In practice** 19(Nov-Dec):546-556. 1997.
- [38] SPRECHER, D.J.; NEBEL, R.L.; WHITMAN, S.S. The predictive value, sensitivity and specificity of palpation per rectum and transrectal ultrasonography for the determination of bovine luteal status. **Theriogen.** 31:1165-1172. 1989.
- [39] TOM, J.W.; PIERSON, R.A.; ADAMS, G.P. Quantitative echotexture analysis of bovine ovarian follicles. **Theriogen.** 50:339-346. 1998.
- [40] VIANA, J.H.M.; TORRES, C.A.A.; FERNANDES, C.A.; FERREIRA, A.M. Avaliação ultra-sonográfica do corpo luteo em novilhas mestiças utilizadas como receptoras de embrião. **Archiv. De Reprod. Anim.** 5:42-47. 1998.
- [41] WEHRMAN, M.E.; ROBERSON, M.S.; CUPP, A.S.; KOJIMA, F.N.; STUMPF, T.T.; WERTH, L.A.; WOLFE, M.W.; KITTOCK, R.J.; KINDER, J.E. Increasing exogenous progesterone during synchronization of estrus decreases endogenous 17beta-estradiol and increases conception in cows. **Biol. Reprod.** 49:214-220. 1993.
- [42] WISHART, D.F. Early pregnancy diagnosis in cattle. **Vet. Rec.** 96(2):34-38. 1975.