

0951

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON

FACULTAD DE AGRONOMIA



DIAGNOSTICO DE GESTACION EN  
BOVINOS MEDIANTE LA REACCION  
DE LA ORINA CON EL CLORURO DE  
BARIO ( $BaCl_2$ )

TRABAJO PRACTICO (OPCION V)

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE  
INGENIERO AGRONOMO ZOOTECNISTA  
PRESENTA

LUIS GERARDO DE LA GARZA CAMPOS

MARIN, N. L.

MAYO DE 1982



F201  
3  
1

408.636

2

F  
L  
M

0431

CGS 13  
CGS 13



1080061808

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON

FACULTAD DE AGRONOMIA



DIAGNOSTICO DE GESTACION EN BOVINOS MEDIANTE  
LA REACCION DE LA ORINA CON EL CLORURO DE  
BARIO ( $BaCl_2$ )

TRABAJO PRACTICO (OPCION V)

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE  
INGENIERO AGRONOMO ZOOTECNISTA

P R E S E N T A

LUIS GERARDO DE LA GARZA CAMPOS

MARIN, N.L.

MAYO DE 1982.

F  
SF201  
93

OKO 636  
FA 3  
A 82



Biblioteca Central  
Magna Solidaridad  
F. Tesis



BU Raúl Rangel Fies  
UANL  
FONDO  
TESIS LICENCIATURA

A LA MEMORIA DE MI PADRE :

SR. RUPERTO DE LA GARZA DELGADO

A MI MADRE :

SRA. FRANCISCA CAMPOS DE DE LA GARZA

A quienes les debo todo el apoyo que me han brindado durante mi vida, y por haberme guiado siempre por el -- buen camino que me ha llevado a la - superación.

A MIS HERMANOS :

FERNANDO

MARIA CRISTINA

LAURA ESTHER

RUPERTO

FRANCISCO JAVIER

JOSE EDUARDO

De quienes recibí el buen ejemplo de dedicación al estudio.

## A G R A D E C I M I E N T O S

### A MI ASESOR:

ING. JOSE A. QUINTANILLA ESCANDON

Por su valiosa ayuda y acertados consejos  
en la realización de este trabajo.

### A MIS MAESTROS:

A quienes agradezco sus enseñanzas.

### A MIS COMPAÑEROS:

Con los cuales convivi durante mis estudios  
y de quienes tengo gratos recuerdos.

### A MIS AMIGOS:

A quienes agradezco su amistad desinteresada.

# I N D I C E

	PAGINA
I N T R O D U C C I O N.....	1
L I T E R A T U R A R E V I S A D A.....	4
D I A G N O S T I C O B I O L O G I C O.....	5
P R U E B A D E L A M U C I N A.....	7
D I A G N O S T I C O B A S A D O E N L O S N I V E L E S D E P R O G E S T E R O N A.....	8
D I A G N O S T I C O P O R R A D I O I N M U N I D A D.....	13
D I A G N O S T I C O P O R U L T R A S O N I D O.....	17
D I A G N O S T I C O C L I N I C O.....	18
P a l p a c i ó n d e M e m b r a n a F e t a l.....	18
P a l p a c i ó n d e V e s i c u l a A m n i ó t i c a.....	19
P a l p a c i ó n d e C o t i l e d o n e s y F e t o.....	20
D I A G N O S T I C O Q U I M I C O.....	20
M é t o d o d e C l o r u r o d e B a r i o (BaCl <sub>2</sub> ).....	25
M A T E R I A L E S Y M E T O D O S.....	27
R E S U L T A D O S.....	29
B I B L I O G R A F I A.....	33

## INDICE DE CUADROS

CUADRO		PAGINA
1	Precisión de la prueba de gestación de - Cuboni para la yegua, con muestras obte- nidas a partir del día 120 de la gesta- ción.....	21
2	Precisión de la prueba de gestación del ácido genol-sulfónico para la yegua con muestras obtenidas a partir del día 120 de la gestación.....	25
3	Resultados obtenidos al efectuar las - - pruebas mediante la reacción de la orina con el cloruro de bario y su comproba- - ción por palpación rectal en ganado de - leche.....	31
4	Resultados de la detección de gestación mediante la reacción del cloruro de ba- rio (BaCl <sub>2</sub> ) y su comprobación por palpa- ción rectal (P.R.) en ganado de leche..	32

## I N T R O D U C C I O N

Hoy en día, con los avances en la tecnología, y con nuevos y mejores métodos e instrumentos de medición, la investigación en todos los campos, y dentro de ellos, la investigación pecuaria, se ha desarrollado en forma muy acelerada, esto gracias a los resultados que han obtenido numerosos investigadores en múltiples partes del mundo, y que por medio de estos resultados se han desarrollado métodos nuevos y técnicas más eficientes, que aplicadas a la producción pecuaria, han logrado aumentarla y mejorarla, con la finalidad de que esta industria logre los objetivos que se persiguen y que son los de lograr una mayor rentabilidad, por medio de conceptos tales como racionalización, intensificación, aumento de productividad con disminución de costos, ahorro de mano de obra, etc.

Uno de los aspectos más importantes, o posiblemente el más importante en la producción pecuaria, es el aspecto reproductivo, puesto que en la reproducción de los animales se tienen obstáculos que limitan el aumento en la productividad; un ejemplo de estos obstáculos son principalmente: número de servicios por preñez, duración de la gestación, intervalo entre parto y nueva concepción, mortalidad pre-natal (abortos), mortalidad post-natal (antes del destete).

La fecundidad del ganado es de una importancia primordial, puesto que la mejora del ganado para obtener una mayor producción es inútil si no se tiene un alto grado de fecundidad, lo cual llevaría a un mayor número de hembras gestantes con un mínimo de servicios.

Para detectar problemas de fecundidad y poderlos resolver o tomar medidas adecuadas, esto a la mayor brevedad posible, - se han elaborado métodos y técnicas que permitan saber si la concepción ha tenido éxito, o si no se ha logrado esto, poder detectar el factor que impide la concepción y darle la solución más adecuada.

En un marco más práctico, un diagnóstico de gestación temprano, es de gran utilidad ya que evitaría el tener que dejar pasar el tiempo correspondiente a uno o dos celos por no tener la certeza de que el animal esté gestante, y esto representa - un mayor costo, por la razón de que el intervalo entre parto y nueva concepción se hace mayor, y en general, la productividad disminuye.

Es principalmente por las razones antes expuestas, por lo que muchos investigadores están buscando métodos y técnicas -- que permitan hacer un diagnóstico temprano de gestación con un índice alto de efectividad y con seguridad para el animal y el producto que se está desarrollando.

El objetivo del presente trabajo es el de conocer, en base a la literatura revisada, las distintas técnicas para la detección de preñez, así como el proceso seguido y resultados obtenidos con el método de detección de preñez por medio de la reacción de la orina con el cloruro de bario ( $BaCl_2$ ).

## LITERATURA REVISADA

Existen en la actualidad múltiples métodos para la detección de preñez, estos han sido desarrollados debido a la gran necesidad que se tiene de un diagnóstico eficaz y lo más temprano posible, para aumentar la eficiencia y productividad en la industria pecuaria.

Algunos de estos métodos son: el diagnóstico biológico, - en el cual se realizan pruebas con sustancias como plasma u - orina, de los animales que se desea diagnosticar, aplicándolos a otros animales de laboratorio como ratones, conejos, ranas, etc., y observando sus reacciones fisiológicas y morfológicas, de esta forma se efectúa un diagnóstico; también tenemos el - diagnóstico químico, en el cual, sustancias de los animales - (orina, plasma, etc.) son tomadas y mezcladas con otras subs--tancias químicas para obtener una reacción que se asocia con - la gestación; otro método es el de la prueba de la mucina, tam - bién llamada diagnóstico citológico de Kurosawa, el cual se ba - sa en la observación a microscopio de muestras de moco adheren - te, tomado de la región del orificio cervical externo, con lo - cual si aparecen cierto tipo de células, se da el diagnóstico - positivo de gestación, el diagnóstico basado en los niveles de - progesterona en plasma y leche es otro método existente para - hacer el diagnóstico; también el diagnóstico por radioinmuni--

dad, que es otra forma de medir las concentraciones de progesterona y estrógenos en plasma y leche y de acuerdo con estos niveles, dar un diagnóstico; otro método es una estimación serológica que se basa en cambios que sufre el suero y sus componentes; el diagnóstico por ultrasonido parece ser un método práctico, ya que se utiliza un aparato portátil para efectuar el diagnóstico de gestación; un método importante es el diagnóstico clínico, que se basa en la palpación por vía rectal de las estructuras internas de vaca, relacionadas con la reproducción y gestación, como son palpación de membrana fetal, palpación de vesícula amniótica y palpación de cotiledones y feto.

#### DIAGNOSTICO BIOLOGICO.

Algunas "reacciones biológicas" que pueden determinar, lo más precozmente posible, si una hembra está preñada o no, se basan en la presencia de las hormonas del embarazo, prolán A y B, en la sangre y en la orina. Todas son fácilmente realizables en el laboratorio, pero no en la práctica cotidiana corriente. Prueba de lo anterior es la reacción de Aschheim - Zondek (1927), que encontraron que la placenta de mujer embarazada producía sustancias gonadotrópicas con acción estimulante de la actividad glandular del ovario. Basados en esto, trataron ratonas impúberes con inyecciones de suero sanguíneo o

de orina de embarazada, que contiene aquellas hormonas, llegando estas ratonas rápidamente a la pubertad después de cuatro a cinco días de tratamiento. Además, con el sacrificio de las ratonas de prueba se observan otras alteraciones en el aparato genital, además de haber formación de folículos maduros y cuerpos lúteos; esto último es fundamental para asegurarse que el suero inyectado contenía prolán B, o sea la hormona de la preñez. Esta reacción tiene precisión de hasta 98%, pero sólo puede realizarse disponiendo de un laboratorio (Vatti 1968; H. Arthur - - 1964).

Existen otras pruebas en las que se utilizan conejas, por ejemplo la reacción de Friedmann, en la cual se inyectan por vía endovenosa auricular o intraperitoneal, aproximadamente -- 15 ml. de suero de yegua preñada, a una coneja sexualmente madura, pero mantenida separada del macho por lo menos durante tres semanas, en ésta provoca la maduración de los folículos y la ovulación, fenómenos que no se presentan si el suero es de yegua no preñada. Esta prueba es válida también para la burra (Vatti 1968).

Otra prueba biológica es la reacción de Galli-Mainini, para el diagnóstico de embarazo en la mujer, basada en la espermatogénesis del Bufo arenarum, sapo argentino, mediante la inyección de sustancia gonadotrópica en el saco linfático dor--

sal. Inyectando orina de mujer embarazada, que contiene dosis suficiente de gonadotropina, el sapo libera espermatozoides, - que se extraen fácilmente de la cloaca y se observan al microscopio por medio de frotis comunes.

Los resultados con esta prueba son acertados en un porcentaje muy grande.

Pruebas posteriores han demostrado que este método es - - aplicable también para la yegua y la burra. La reacción es positiva en las equinas preñadas desde el cuarentavo día hasta - el ciento veinte de la gestación, después de lo cual el resultado se hace menos seguro por las modificaciones en la relación prolán A prolán B durante el curso de la preñez (Vatti 1968).

#### PRUEBA DE LA MUCINA.

Han sido ya notados los cambios físicos característicos - del moco vaginal de la yegua durante la gestación. Kurosawa -- (1931) ha descrito los aspectos microscópicos de dicho moco, - medio diagnóstico adoptado en Inglaterra por Miller (1938).

A esta prueba se le llama también "diagnóstico citológico de Kurosawa" y consiste en lo siguiente: se obtiene una porción del moco adherente tomado de la región del orificio cervical externo, manualmente o con el uso de un espéculo y una escobilla. En esta forma se hacen extensiones sobre varios porta

objetos. Fijadas con alcohol y secas, las mismas se tiñen durante 20 minutos con la hematoxilina de Delafield, después de lo cual se lavan. La afinidad del moco por el colorante es mucho mayor en la yegua gestante, de modo que en los casos positivos el campo aparece de color azul intenso. Con el objetivo 2/3 se perciben distintamente los glóbulos de Mucina en las porciones más finas de la extensión. Encontrando un campo donde abundan las células, el examen deberá continuarse con el objetivo 1/6. Si la yegua se halla en estado de gestación se observarán las células típicas; son células epiteliales columnarias, con silueta que se ha comparado a una tachuela, con núcleo más ávido de color, en tanto el citoplasma es más pálido. Aparecen desde luego, muchos otros tipos de células, pero si concurren los glóbulos de Mucina, las células en tachuela y una pequeña proporción de otros elementos, la yegua ya está gestando.

Miller y Day (1938) han compilado los resultados de esta prueba, con precisión cada vez mayor, desde el 77.6% en el período de los días 20 al 40, al 94.8% a partir del día 70 (H. Arthur 1964).

#### DIAGNOSTICO BASADO EN LOS NIVELES DE PROGESTERONA

Existen muchas otras pruebas basadas en los niveles de progesterona, tanto en el plasma sanguíneo como en la leche, y

en las cuales se tienen altos porcentajes de aciertos, por -- ejemplo, al hacer el diagnóstico con muestras tomadas en el -- día 20 después del último servicio, se obtuvieron en diagnós- ticos negativos un 100% de aciertos y en el diagnóstico posi- tivo se tuvo un 85% de aciertos, en los cuales el diagnóstico falso-positivo fue debido a un criterio incorrecto en el con- teo del tiempo del estro, por intervalos prolongados en el ci- clo estrual, mortalidad embrionaria temprana o ciclos anorma- les por causas patológicas.

Este diagnóstico de preñez basado en el análisis de plas- ma y leche, es reconocido en muy alto grado (Braund 1978).

Otros investigadores han realizado otras pruebas obtenien- do resultados importantes como las pruebas de Koefoed, et al. que en 1977 realizaron dos pruebas en varias partes de Dinamar- ca, utilizando en ellas alrededor de 4,000 vacas y otra con un hato de aproximadamente 300 vacas Jersey.

Todas estas vacas sin signos de estro y juzgadas estando no preñadas en la base del análisis de leche 21-24 días des- -- pués de la inseminación, siendo confirmadas como no preñadas -- por examen clínico después de 7 a 8 semanas. De las vacas diag- nosticadas como preñadas por análisis de leche, 9.2 (Hato Jer- sey) y 19.7% (otro ganado) fueron encontradas como no preñadas

en el examen clínico; la discrepancia es atribuída a muerte embrionaria extremadamente corta o a intervalos largos entre estros.

Un amplio grupo de vacas en esta prueba dió resultados inciertos. Los niveles de progesterona en su leche fueron más altos que el nivel de las no preñadas, pero más bajo que el nivel de las preñadas. Esto es puntualizado si en la muestra de leche hubiera un muy bajo contenido de grasa o si la vaca tuviera un corto intervalo entre estros (Koefoed, et al. 1977).

Una prueba efectuada por Thibier (1977) en 729 vacas, basada en el nivel de progesterona en el plasma en el 21-24 días después de la inseminación artificial, reporta una exactitud en el diagnóstico positivo de un 73.4%, y para diagnóstico negativo un 95.0%.

Otro método de diagnóstico consiste en medir la concentración de progesterona en el suero sanguíneo y compararlo con las concentraciones obtenidas en ciclos estruales normales.

Para esta prueba se estimó el contenido de progesterona en muestras de sangre en el día del estro (día 0) y en los días 14 y 19 del ciclo. Una vaca era diagnosticada como preñada si la concentración de progesterona en el suero en el día 19 era similar a la del día 14, y no preñada si la concentra-

ción del día 19 era similar a la del día 0. Confirmando la preñez posteriormente por palpación rectal.

Los resultados que se obtuvieron fueron los siguientes: todas las vacas no preñadas fueron correctamente diagnosticadas; un 79.3% de vacas preñadas fueron correctamente diagnosticadas, y un 20.7% fueron erróneamente diagnosticadas como no preñadas, teniéndose una exactitud total de 89.1% (Agarwal, et al. 1980).

Zust, et al. (1980) realizaron otra prueba midiendo la concentración de progesterona en el suero.

Obtuvo muestras de sangre de 78 vacas Holstein-Friesian, 21 días después de la inseminación artificial. De las diagnosticadas preñadas, 62.2% fueron confirmadas preñadas 8 semanas después. De las diagnosticadas no preñadas, 97.0% fueron correctamente diagnosticadas.

Otros investigadores han medido el contenido de progesterona en la sangre, como Coryn, et al. (1979), que encontró que en el ciclo de la vaca, en la curva del contenido de progesterona, la pendiente es menor que la de la yegua, y el máximo grado en unidades fué de 4 a 5 ng/ml., y que la ovulación sigue dentro de 1-2 días de que el contenido de progesterona cae a menos de 1 ng/ml.

Respecto a los niveles de progesterona en la leche para el diagnóstico de preñez, Thibier (1977) nos dá los siguientes resultados: en un total de 466 vacas se obtuvo una exactitud de un 63% en diagnóstico positivo, y un 94% en diagnóstico negativo.

El contenido de progesterona en muestras de leche obtenidas de 435 vacas Jersey y 246 Danish Black Pied, de 21 a 24 días después de la inseminación fueron determinados. De 377 vacas Jersey y 163 Danish Black Pied diagnosticadas preñadas por medio de la prueba y siguiendo el criterio de una concentración mayor de 7.5 ng/ml. de progesterona, un 82.0% y un 82.8% respectivamente fueron confirmadas como preñadas, y 18.0% y 17.2% como no preñadas por medio de palpación rectal 7 a 8 semanas después de la inseminación. De 36 vacas Jersey y 47 Danish Black Pied diagnosticadas como no preñadas con una concentración menor de 3 ng/ml. siendo correcto el diagnóstico en un 97.2 y un 94.8% respectivamente. De 22 vacas Jersey y 26 Danish Black Pied en que se diagnosticó con incertidumbre con niveles de entre 3 y 7.5 ng/ml., un 13.6 y 11.5% respectivamente fueron confirmadas como preñadas y un 86.4 y 88.5% como no preñadas (Koefoed, et al. 1977).

Los rangos de concentración de progesterona en plasma y leche son en base para el diagnóstico de preñez, como por ejem

plo, en una prueba hecha por Verma, et al. (1979) que realizó con 43 vacas de raza Belgain Black Pied, en la que tuvo una baja concentración de progesterona en plasma y leche en el estro, siendo ésta de  $0.58 \pm 0.07$  y  $4.78 \pm 0.31$  respectivamente. En muestras de leche tomadas 21 días después de la inseminación, se obtuvieron 27, 10 y 6 vacas clasificadas como preñadas, no preñadas y dudosas, las concentraciones fueron  $14.14 \pm 1.37$ ,  $5.14 \pm 0.81$  y  $8.38 \pm 0.27$  ng/ml. respectivamente. Posteriormente por medio de palpación rectal, se demostró que la exactitud del diagnóstico fue para vacas preñadas de 77.8% y para no preñadas de 80.0%.

#### DIAGNOSTICO POR RADIOINMUNIDAD

Otra prueba para el diagnóstico de preñez es la de radioinmunidad de progesterona en plasma, en las cuales se obtienen un 74% de aciertos en diagnósticos positivos y un 96% en diagnósticos negativos con ganado de carne y muestras tomadas el día 21 después de la inseminación, para ganado de leche se obtienen un 82 y un 95% respectivamente.

En muestras de leche tomadas el mismo día se obtienen un 75% de aciertos en diagnóstico positivo y un 97% en diagnóstico negativo (Elevage et Insemination 1976).

En otras pruebas realizadas por diversos investigadores,

se reportan los niveles de estrógeno y progesterona, tanto en el ciclo estrual como en la preñez temprana de la vaca, obtenidos estos niveles por pruebas de radioinmunidad en plasma periférico.

Los datos que reportan son los siguientes: en seis ciclos normales en vacas, los niveles de estrona y estradio fluctuaron con un patrón similar, la concentración de estradiol fue ordinariamente más alta que la estrona.

El nivel de estrógeno llegó a la media máxima durante la fase luteal, 3 a 12 días después de la ovulación, y esta media fue 9.0 a 10.5 pg/ml. El punto más alto en la concentración fue durante el proestro, 1 a 3 días antes de la próxima ovulación, y llegó a 10.6 - 19.5 pg/ml.

En 3 vacas no hubo aumento en los estrógenos durante la fase luteal, pero un agudo aumento se sucedió los 2 días antes de la siguiente ovulación, este aumento llegó a 12.7 - 2.0 - - pg/ml.

La progesterona en el plasma mostró su nivel mínimo (0.2 a 0.3 ng/ml.) al estro, y el nivel máximo (1.8 a 4.2 ng/ml.) durante la fase luteal, 11 a 17 días después de la ovulación; el nivel decreció rápidamente 4 a 5 días antes de la próxima ovulación.

En algunas vacas en el estado temprano de preñez (hasta - 32 días) el nivel de estradio fué más alto que el nivel de estrona.

En dos vacas reportan que aumentó a 12.4 y 7.2 pg/ml. temporalmente 5 días después de la inseminación. Después, el total de estrógeno aumentó gradualmente a un nivel de 6.2 a 11.6 pg/ml. a los 27-28 días después de la inseminación.

Respecto al nivel de progesterona en el plasma, ésta aumentó rápidamente después de la ovulación, y a los 31-32 días de preñez alcanzó  $6.0 \pm 1.7$  ng/ml. (Domeki, et al. 1977).

Pruebas de radioinmunidad de progesterona, también han sido hechas con muestras de leche, arrojando resultados importantes como los obtenidos por Batra, et al. (1980), que midieron la variación diaria de los niveles de progesterona en leche de vacas cruzadas, durante el ciclo estrual y la preñez temprana.

Estos investigadores obtuvieron un promedio mínimo de concentración de progesterona en leche de  $1.10 \mu\text{g/l.}$  de una muestra de la ordeña de la mañana (06.00 h.) y  $1.63 \mu\text{g/l.}$  del ordeño de la tarde (19.00 h.) en el día del estro; este nivel se incrementó a  $15.72 \mu\text{g/l.}$  en la mañana y  $22.8 \mu\text{g/l.}$  en la tarde del día 13 después de la inseminación, después de lo cual decreció a  $0.99 \mu\text{g/l.}$  en la mañana y  $1.12 \mu\text{g/l.}$  en la tarde del

día en que se inició el siguiente ciclo estrual en vacas no preñadas. En animales preñados el nivel fue mantenido y fluctuaba de 15.05 a 19.60  $\mu\text{g}/\text{l}$ . en la mañana y 18.09 a 23.01  $\mu\text{g}/\text{l}$ . en la tarde, hasta el día 40 de la preñez (Batra, et al. 1980).

Se han hecho estas pruebas de radioinmunidad con leche, conservándola de distintas formas para su análisis posterior, y se ha encontrado que no existe diferencia en la proporción de progesterona en las muestras, preservadas éstas por adición de bicromato de sodio o sodio ácido, y siendo congeladas a - - -20°C. (Durdevic, et al. 1980).

Con la grasa de la leche también se efectúa la prueba de radioinmunidad y se obtienen concentraciones de 18.9  $\mu\text{g}/\text{l}$ . en muestras tomadas en el ordeño de la mañana y 24.1  $\mu\text{g}/\text{l}$ . en muestras de la tarde en el día del estro, teniendo un aumento en pico de 141.7  $\mu\text{g}/\text{l}$  en la mañana y 153.8  $\mu\text{g}/\text{l}$ . en la tarde -- del día 13 después de la inseminación. Esto continuó incrementándose y fluctuó entre 160.6 y 195.8  $\mu\text{g}/\text{l}$ . en la mañana y - - 161.1 y 225.6  $\mu\text{g}/\text{l}$ . en la tarde, en animales preñados, sin embargo, descendió a 12.0  $\mu\text{g}/\text{l}$ . en la mañana y 16.7  $\mu\text{g}/\text{l}$ . en la tarde en el día del estro sucesivo en aquellos animales que fallaron en concebir. La concentración de progesterona en la leche y en la grasa de la leche, fueron significativamente más altas en las muestras de la tarde que en las de la mañana (Ba-

tra, et al. 1980).

#### DIAGNOSTICO POR ESTIMACION SEROLOGICA

Otra prueba que puede ser utilizada para detectar preñez temprana, es una estimación serológica, basada en la inhibición de la roseta, para la cual se utiliza un factor de preñez temprana (F.P.T.) que puede ser detector en el suero, de la inhibición de la roseta.

En esta prueba se reportan, en suero colectado de 3 a 4 días después de la inseminación artificial, que dieron una media en los valores de la graduación de la inhibición de la roseta (R.I.T.) de  $16.0 \pm 0.8$  en vacas que más tarde se diagnosticaron como preñadas, y de  $7.3 \pm 1.3$  en vacas diagnosticadas no preñadas (Nacarrow, et al. 1980).

#### DIAGNOSTICO POR ULTRASONIDO

Por medio de un detector de preñez ultrasónico, también se puede dar un diagnóstico de gestación.

Para esta prueba se ha encontrado que tiene una efectividad en el diagnóstico de 42.9, 50.0, 65.5 y 100.0% respectivamente, para vacas analizadas en el 1º, 2º, 3º y 4º mes en adelante de gestación (Biedermann, et al. 1980).

## DIAGNOSTICO CLINICO

Para este tipo de diagnóstico, se requiere de una persona entrenada y con práctica, generalmente un médico veterinario - es el que lo realiza, y es uno de los servicios más importantes que puede prestar al ganadero, ya que el diagnóstico temprano de gestación es esencial para cualquier programa de reproducción.

Existen tres métodos esenciales para el diagnóstico clínico de gestación que son: palpación de membranas fetales, palpación de vesícula amniótica y palpación de cotiledones y fetos.

La técnica utilizada es la descrita por Zemjanis (1962) - en la cual el útero es retraído, tomando el ligamento intercornal ventral con el dedo índice y tirando el órgano hacia atrás dentro de la cavidad pélvica. De esta forma se pueden palpar - los cuernos uterinos y determinar perfectamente la gestación - por palpación de membranas fetales, vesícula amniótica o cotiledones y feto.

### Palpación de Membrana Fetal:

La membrana fetal deslizable es la corioalantoidea, la - cual se percibe como una estructura diferente que recubre la - cavidad de los cuernos uterinos. Esta membrana se palpa por - - compresión en su parte más ancha del cuerno grávido dejándolo

resbalar entre los dedos, y es palpable desde los 30 días del embarazo.

Estudios experimentales de Ball Carrol (1963) indican que las membranas fetales aún se pueden palpar perfectamente entre 7 y 27 días (promedio de 17 días) después de haberse detectado los embriones en proceso de reabsorción. Por lo que, si el diagnóstico de gestación se hace exclusivamente por palpación de la membrana corioalantoidea, se corre el riesgo de señalar como gestante a vacas que están en proceso de reabsorción fetal (Ruiz, et al. 1976).

#### Palpación de Vesícula Amniótica:

La vesícula amniótica es una estructura con forma de alubia, unida a la membrana corioalantoidea por un pedículo largo, y es palpable desde el día 28 al 31 de embarazo. Para detectarla se coloca el pulgar a un lado del cuerno y los otros dedos del lado opuesto, dejando deslizar la vesícula entre los dedos.

Según Studer (1969), en algunos casos la membrana corioalantoidea puede palparse perfectamente, mientras que la vesícula amniótica puede estar colapsada, o sea, tener menor tamaño del que pudiera esperarse de acuerdo con el número de días de gestación. Los embriones de este tipo serán reabsorbidos en

en poco tiempo; menciona también que en el 3.9% de los diagnósticos de preñez, la palpación de la vesícula amniótica permitió determinar que los embriones eran anormales y que estaban en proceso de reabsorción.

#### Palpación de Cotiledones y Feto:

Los cotiledones están formados por la fusión de las vellosidades fetales y las carnúculas. Se reconocen como formaciones bien limitadas que se palpan a través de la pared del útero. En la base del cuerno grávido, los cotiledones se hacen palpables en embarazos de 65 a 70 días. La forma y el tamaño en esta etapa es la de un chícharo.

El feto puede ser palpado hacia los 50 a 60 días, cuando la vesícula amniótica pierda su turgencia y el feto se hace más prominente (Ruiz, et al. 1976).

#### DIAGNOSTICO QUIMICO

Cuboni (1937) fué el primero que propuso una prueba de carácter químico para descubrir la hormona estrógena en la orina de la yegua gestante (Véase cuadro 1).

Esta prueba química está basada en que la foliculina calentada con ácido sulfúrico concentrado de una fluorescencia verde. Considerando que la orina de la yegua contiene grandes

dosis de foliculina entre el cuarto y el noveno mes de gestación, Cuboni ha aplicado dicho principio para el diagnóstico de la preñez en la yegua (Vatt 1978).

Esta prueba se efectúa calentando a Baño María en ebullición durante diez minutos, una mezcla de 15 ml. de orina y 3 ml. de ácido clorhídrico concentrado. La mezcla luego se enfría y se vierte en un embudo de separación, donde se añaden 18 ml. de benzol y se agita todo concienzudamente. La capa de benzol se separa y se añade a 10 ml. de ácido sulfúrico concentrado, para calentarse también a baño maría a 80 grados durante 5 minutos. La mezcla sucesivamente se enfría. En el caso de animales gestantes se produce una fluorescencia verdosa, lo que no ocurre en casos negativos. Las primeras reacciones positivas suelen aparecer alrededor del día 120 de la gestación (H. Arthur 1964).

CUADRO 1.- Precisión de la prueba de gestación de Cuboni para la yegua, con muestras obtenidas a partir del día 120 de la gestación.

Muestras	Partos	Número Positivo	Número Negativo	% Correcto
66	Logrados	66	0	100
28	Fallidos	1	27	96.4

Pardo (1952) aplicó el método en la vaca. Se opera con -- 400 a 500 ml. de orina, se agrega 10% de ácido clorhídrico con centrado (HCl) y se hierve hasta reducir el volumen a la mitad; luego se filtran y se coloca en embudo separador, donde se -- agrega 10 a 20 ml. de benceno; la capa bencénica separada se -- evapora en cápsula, en la que deja un residuo rosado, sobre el que se opera como en la prueba de Cuboni. Para la vaca la reac ción cromática típica se obtiene en el quinto mes de la pre- - ñez (Vatti 1968).

Otra prueba química es la llamada "prueba del ácido fenol sulfónico"; esta prueba fué ideada por Mayer (1944), y está -- fundada en otra clorimétrica de Kower para los estrógenos (cua dro 2).

La hidrólisis de los estrógenos conjugados se logra por -- la adición lenta de 1 ml. de ácido clorhídrico concentrado a -- 51 ml. de una muestra de orina de yegua; el conjunto se calien ta a baño maría en un tubo de ensayo Pyrex hasta llegar a la -- ebullición, que se mantiene 10 minutos; posteriormente la ori na se enfría a 15 grados en un baño con hielo, para precipitar los pigmentos urinarios y las sustancias formadas antes, las que podrían ocultar la aparición del color rojo final. Estas -- sustancias precipitadas se eliminan por filtración, con lo -- que queda un filtrado de color ambarino en el embudo de separa

ción.

Este filtrado se extrae dos veces con 20 ml. y una vez con 10 ml. de éter libre de peróxido, con el fin de quitar los estrógenos. Los extractos etéreos combinados se agitan entonces con un embudo de separación, con porciones de 100 ml. de una solución al 2% de carbonato sódico, hasta que estos lavados sean incoloros (generalmente se necesitan unos tres para lograr este resultado). Los lavados de carbonato van seguidos de uno final con 20 ml. de agua destilada.

Los extractos etéreos en esta fase son casi incoloros, aunque en algunos casos pueden contener cierta cantidad de pigmentos color púrpura. El éter de los lavados se extrae entonces con tres porciones de 15 ml. de sosa decinormal, en la cual los estrogénos son solubles, pero donde se disuelven las sustancias extrañas. El éter lavado con sosa se lava una vez con 15 ml. de agua destilada. Se juntan entonces el lavado acuoso y los 3 extractos de sosa y se añade solución de ácido sulfúrico al 25% hasta que se logre la acidez revelada por el papel rojo congo. La mezcla se extrae entonces con éter para quitar los estrógenos, como se ha descrito antes para el filtrado del hidrolizado urinario. Se dispone del 20% de los lavados con carbonato y agua si los extractos etéreos son de color pardo.

Los tres extractos etéreos de la solución de sosa acidificada se vierten en un matraz seco y limpio de Erlenmeyer de -- 215 ml., pero se evitará la adición de agua adherida al embudo de separación. Después de la evaporación del éter con un baño de agua, se añaden 3 ml. del reactivo especialmente preparado a base de ácido fenol sulfónico, para después calentar la mezcla en un baño maría llevado a la ebullición durante 5 minutos. El frasco se lleva inmediatamente a un baño refrigerado; a la mezcla enfriada se añaden 3 ml. de una solución de ácido sulfúrico al 5%, que se calentará durante 3 minutos, se enfriará de nuevo y se diluirá hasta 10 ml. por la adición de 4 ml. de agua o la de 5 ml. de ácido sulfúrico al 5%.

La coloración del producto es prueba positiva de gestación; el color varía del rosado al de vino, con intensidad según la fase del proceso en el momento en que la orina fué recogida. Si el procedimiento ha sido seguido adecuadamente no -- aparecerá coloraciones perturbadoras. La adición de unas cuantas gotas de agua oxigenada al 30% hace desaparecer la coloración, pero no afecta a los colores de los productos no estrógenos. Esta contraprueba, por consiguiente, podrá utilizarse como confirmación.

CUADRO 2.- Precisión de la prueba de gestación del ácido fenol-sulfónico para la yegua con muestras obtenidas a partir del día 120 de la gestación.

Muestras	Partos	Número Positivo	Número Negativo	% Correcto
66	Logrados	66	0	100
28	Fallidos	1	27	96.4

#### Método del Cloruro de Bario ( $BaCl_2$ )

Es sabido que los estrógenos y la progesterona son las -- principales hormonas relacionadas con la gestación presente en la orina (Landa 1969).

Mediante bioensayos y fluorometría se ha demostrado que -- las vacas gestantes excretan más estrógenos en la orina que -- las vacas no gestantes. También se encontró que la actividad -- estrogénica de la orina de vaca, es baja durante los primeros 100 días de gestación, pero que se incrementa progresivamente desde esta fecha hasta el fin de la gestación (Gorshi, et al. 1957; Smith, et al. 1956).

La orina es esencialmente una solución de los productos -- del metabolismo nitrogenado y sulfurado de sales inorgánicas y de pigmentos. Es de color amarillo debido al pigmento urocro-- mo, de olor característico según la especie, alimentación y me

tabolismo; en hervíboros generalmente alcalina, pH en vacunos lecheros entre 7.4 y 8.4. Composición: agua, urea, creatininas, purinas (ácido úrico, xantinas, hipoxantinas), alantoínas, áci de hipúrico, amoníaco, sulfatos etéreos, compuestos neutros de azufre, sales inorgánicas y los pigmentos urocromo y urobilina. Cambios en la composición del plasma sanguíneo producirá cambios en la composición de la orina por cambios en la actividad renal (Dukes, 1960).

Maslov y Smirnov (1965), desarrollaron una técnica que -- consiste en añadir una solución de cloruro de bario, a una - - muestra de orina. Cuando se forma un precipitado blanco, la va ca no está gestante, si por el contrario, la orina permanece - inalterable, o sea que no se forme el precipitado, la orina -- proviene de una vaca gestante. La razón que dan los autores pa ra que no se forme el precipitado, es debido al aumento de es- trógeno y progesterona en la orina de vacas gestantes.

Los autores recomiendan el uso de esta prueba en animales estabulados, pero no en pastoreo cuando existe evidencia de la presencia de pastos con actividad estrogénica, pues esto condu ce a diagnósticos erróneos.

## MATERIALES Y METODOS

La presente investigación se llevó a cabo en el Estable Lechero de la Facultad de Agronomía de la Universidad Autónoma de Nuevo León, en el Municipio de Marín, N.L. Los animales utilizados para la prueba eran de la raza Holstein-Friesian.

Estos animales se encontraban bajo un régimen de completa estabulación y su dieta consistía en forraje seco de sorgo y - concentrado.

Se respetó para esta prueba el manejo habitual del establo.

El material utilizado para efectuar las pruebas consistió en 24 animales: 19 de ellos en producción y 5 becerras de reemplazo. Para la recolección de las muestras se utilizaron frascos de boca ancha y la reacción se efectuó en tubos de ensayo de 10 ml.

La solución de cloruro de bario fué al 1%, empleándose un material químicamente puro y disuelto en agua destilada, la solución se conservó en frascos de color ámbar.

La técnica seguida para la obtención de las muestras fué la siguiente: los animales fueron ubicados en la reja de ordeña, se les identificó por número de arete y se procedió a extraer la muestra de orina por medio de una masaje en la región --

peri-vulvar. Estas muestras fueron recolectadas en los frascos de boca ancha. Posteriormente se procedió a efectuar la reacción con la solución de cloruro de bario, para esto se trasladó una pequeña muestra de orina a los tubos de ensaye, aproximadamente 5 ml. y se añadió lentamente de 5 a 6 gotas de la solución de cloruro de bario.

El diagnóstico diferencial se basó en que si la muestra de orina al añadirle la solución de cloruro de bario se le formaba un precipitado blanco, se tomaba como diagnóstico negativo de gestación, por el contrario, si la orina permanecía inalterable se tomaba como un diagnóstico positivo de gestación.

La evaluación de los datos fueron expresados en porcentajes, respecto al total de animales probados con este método. Tomando como medida de comprobación, el diagnóstico por palpación rectal, efectuado en cada uno de los animales después de dos meses o más del último servicio.

## R E S U L T A D O S

En el cuadro 3, se muestran los resultados obtenidos por el método de la reacción de la orina con el cloruro de bario - ( $\text{BaCl}_2$ ), y su comprobación por palpación rectal, en el ganado utilizado para la prueba.

Para una mayor comprensión, los datos fueron sumariados en el cuadro 4, y separados por tipos (hileras). Del total de 24 animales probados, 13 fueron encontrados positivos por palpación rectal, mientras que por el método del cloruro de bario se diagnosticaron 15 animales en forma positiva.

Se encontraron 5 casos de discrepancia o falsas reacciones en casos positivos, que representan un 33% del total, 10 casos fueron acertados y representan un 67% del total de casos positivos.

En los casos negativos, por palpación rectal fueron diagnosticados 11 animales, y por el método del cloruro de bario se diagnosticaron 9 casos negativos. De éstos, 3 casos fueron discrepancias o falsas reacciones, lo que representa un 33%. La eficiencia del método con 6 casos acertados alcanza un 67% del total.

En el total del ganado probado, se diagnosticaron 16 ca--

sos acertadamente, lo que representa una eficiencia total del -  
67% del método.

La eficiencia fué medida en base al número o proporción -  
del total de reacciones obtenidas con el cloruro de bario, que  
comparada con el método de palpación rectal, resultaron discre  
pantes. Sin embargo, este criterio no siempre refleja lo que -  
realmente es la eficiencia de un método comparado con el otro.

CUADRO 3.- Resultados obtenidos al efectuar las pruebas mediante la reacción de la orina con el cloruro de bario y su comprobación por palpación rectal en ganado de leche.

Vaca N <sup>o</sup>	BaCl <sub>2</sub>	P.R.
1	+	+
2	-	+
3	-	-
4	+	+
5	-	-
6	+	-
7	+	+
8	+	+
9	+	+
10	-	-
11	-	-
12	-	-
13	-	-
14	+	+
15	-	+
16	+	-
17	-	+
18	+	+
19	+	-
20	+	-
21	+	+
22	+	+
23	+	+
24	+	-

(+)= Indica vaca gestante

(-)= Indica vaca no gestante

CUADRO 4.- Resultados de la detección de gestación mediante la reacción del cloruro de bario (BaCl<sub>2</sub>) y su comprobación por palpación rectal (P.R.) en ganado de leche.

		C A S O S P O S I T I V O S			
Total Y %		P.R.	BaCl <sub>2</sub>	Discrepancias -- o falsas reacciones	Eficiencia
Nº Animales	24	13	15	5	10
%	100	54	63	33	67
=====					
		C A S O S N E G A T I V O S			
Total Y %		P.R.	BaCl <sub>2</sub>	Discrepancias -- o falsas reacciones	Eficiencia
Nº Animales	24	11	9	3	6
%	100	46	37	33	67
=====					
Eficiencia Total					16
%					67
=====					

NOTA: Las cifras han sido redondeadas.

## B I B L I O G R A F I A

- Agarwal, S.P.; Agarwal, V.K.; Dwarahnath, P.K.; Ahmad, A. 1980. (Early pregnancy diagnosis in zebu cows by estimating progesterone concentration in blood serum). *Indian Journal of Experimental Biology* (1980) 18 (6) 637-638. Resumen en inglés en *Anim. Breed. Abs.* 1981 Vol. 49 N° 6 (3254):380.
- Batra, S.K.G.S. Pahwa, A.K. Suri and R.S. Pandey. 1980. Diurnal variation of progesterone levels in milk and milk fat of crossbreed cows during the oestrous cycle and early pregnancy. *Animal Production*, 31:127-131.
- Biedermann, G.; Ewers, B. (Pregnancy Diagnosis in cows by means of ultrasonic test). *Tierzuchter* (1980) 32 (12) 504-505 - (German) Resumen en inglés en *Anim. Breed. Abs.* 1981. Vol. 49 N° 6 (3263):381.
- Braun, U. 1978. (Progesterone level in blood plasma and milk - during early pregnancy in cows). *Schweizer Archiv. Für - - Tierheilkunde* (1978) 120 (5) 253-261. Resumen en inglés en *Anim. Breed. Abs.* Jan-Jun 1979. Vol. 47 N° 1 (136):13-14.
- Coryn, M.; Spincemaille, J.; Vandeplassche, M. (Estrous cycle, pregnancy and parturition in the mare, cow and sow: progesterone and estrogens). *Annales d'Endocrinologie* (1979) 40

(5) 511-512. Resumen en inglés en Anim. Breed. Abs. April 1981. Vol. 49 N° 4 (1752):215.

Domeki, I.; Nakahara, T. 1977. (Peripheral plasma oestrogen and Progesterone levels during the oestrous cycle and early -- pregnancy in the cow). Japanese Journal of Animal Reproduction (1977). 23 (1) 29-34. Resumen en inglés en Anim. Breed. Abs. Jan-Jun. 1979. Vol. 47 (659):69.

Dukes, H.H. 1960. Fisiología de los animales domésticos. 7a. -- Ed. Aguilar. Madrid. pp. 472-473.

Durđević, D.; Maksimović, A.; Stojić, V.; Kercóv, A. (The effect of milk preservation on the results of radioimmunological assay of progesterone concentration for early diagnosis of pregnancy). Veterinarski Glasnik (1980) 34 (1) 47-53. Resumen en inglés en Anim. Breed. Abs. March 1981. Vol. 49 - - N° 3 (1252):158.

Elevage et Insemination. 1976. (Early diagnosis of non-pregnancy). Elevage et insemination (1976) N° 154, 19-22 (French). Resumen en inglés en Amin. Breed. Abs. Jan-Jun. 1979. Vol. 47 (144):14.

Gorshi, J.; R.E. Erb y D.C. Brinkman. 1957. Estrogenic activity in the urine os the non-pregnant, pregnant and avariecto--

mized bovine. Jour. Ani. Sci. 16:698.

H. Arthur, Geoffrey. Dr. 1964. Obstetricia Veterinaria de Wright.

Edit. Interamericana, S.A., Tercera Edición. pp. 50-55.

Koefoed-Johnsen, H.H. 1977. (Progesterone measurements in blood plasma and milk for pregnancy diagnosis in cows). Dansk -- Veterinaertidsskrift (1977) 60 (6) 259-263. (Danish). Resumen en inglés en Anim. Breed. Abs. Vol. 46 N° 1 (149): 26. 1978.

Koefoed-Johnsen, H.H.; Christiansen, I.J. 1977. (Pregnancy diagnosis by means of milk progesterone tests in two large -- dairy Herds). Absberetning, Institut for Sterilitests -- forskning, Kongelige veterinær-og landbohjskold (1977), -- 20, 67-74. (Danish). Resumen in inglés en Anim. Breed. -- Abs. 1978. Vol. 46 N° 6:317.

Landa, Melson. 1969. Diagnóstico de gestación en bovinos mediante la reacción de la orina con el cloruro de bario ( $BaCl_2$ ). Tesis sin publicar. I.T.E.S.M. Esc. de Agricultura y Ganadería. Monterrey, N.L. México.

Maslov, N.; Smirnov, A. 1965. (The simplest method for the -- early diagnosis of pregnancy). Mol. Mjasn. Skotovod. 10 -- (1): 24-25 (Rus.). Resumen in inglés en Anim. Breed. Abs. 33 (2302):404.

Nancarrow, C.D.; Wallace, A.L. 1980. (Detection of fertilization in Sheep and cattle: serological estimation and description of properties of an early pregnancy factor (E.P.F.)). In -- 9th international congress on animal reproduction and artificial insemination, 16th-20th june 1980. Resumen en inglés en Anim. Breed. Abs. March 1981. Vol. 49 N° 3 (1142): 145.

Ruiz, D. Roberto, Castañeda, S. José R. Evaluación de diferentes técnicas para efectuar el diagnóstico precoz de gestación en bovinos productores de leche. Técnica pecuaria en México. Inst. Nal. de Investigaciones Pecuarias. Enero-Junio -- 1976. N° 30: 52-56.

Smith, E.P., W.M. Dickson y R.E. Erb. 1956. Fluorometric estimation of estrogens in bovine urine. Jour. Dairy. Sci. 39: - 162.

Studer, E. 1969. Early pregnancy diagnosis and fetal death. -- WM/SAC, Sm. Ani. U., 67:613.

Thibier, M. 1977. (Hormonal studies). Elevage et insemination. (1977) N° 161, 34-42 (French). Resumen en inglés en Anim. Breed. Abs. Jan-Jun. 1979. Vol. 47 N° 2 (707):74.

Vatti, Giuseppe. 1968. Ginecología y obstetricia veterinaria. -  
Edit. UTHEA. Primera Edición en español. pp. 160-164.

Verma, S.K.; Coryn, M.; Vandeplassche, M.; Bouter, R. Estima-  
tion of progesterone in milk as an aid to pregnancy diag-  
nosis in cows. Acta Veterinaria. Yugoslavia (1979) 29 - -  
(3/4) 97-104. Resumen in inglés en Anim. Breed. Abs. May.  
1981. Vol. 49 N° 5 (2622):322.

Zemjanis, R. 1962. Diagnostic and therapeutic techniques in - -  
animal reproduction. Williams Wilkinson, Traducción al es-  
pañol por Edit. Limusa-Wiley, México, D.F. Ultima Traduc-  
ción. 1966.

Zust, J.; Klemenc, N.; Vospernik, P.; Pestevsek, U. (Oestrus -  
and early pregnancy diagnosis using progesterone concen- -  
tration in blood serum of cows). Veterinarski Glasnik - -  
(1980) 34 (1) 55-58. Resumen in inglés en Anim. Breed. --  
Abs. March 1981. Vol. 49 N° 3. (1304):164.

