

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS



CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

TEMA:

“Evaluación de una prueba rápida inmunológica a base de anticuerpos anti-HCG de conejo sobre la detección temprana de preñez en vacas Holstein”

“Documento Final del Proyecto de Investigación como requisito para obtener el grado de:

MÉDICA VETERINARIA ZOOTECNISTA”

AUTOR:

Diana Estefania Quinteros Flores

TUTOR:

Ing. Gonzalo Aragadvay

Cevallos – Ecuador

2023

APROBACIÓN DE TUTOR

**“EVALUACIÓN DE UNA PRUEBA RÁPIDA INMUNOLÓGICA A BASE
DE ANTICUERPOS ANTI-HCG DE CONEJO SOBRE LA DETECCIÓN
TEMPRANA DE PREÑEZ EN VACAS HOLSTEIN”**

REVISADO POR:

Ing. Gonzalo Aragadvay

TUTOR

DERECHOS DE AUTOR

Al presentar el informe final del proyecto de investigación titulado “**EVALUACIÓN DE UNA PRUEBA RÁPIDA INMUNOLÓGICA A BASE DE ANTICUERPOS ANTI-HCG DE CONEJO SOBRE LA DETECCIÓN TEMPRANA DE PREÑEZ EN VACAS HOLSTEIN**” como uno de los requisitos previos para la obtención de título de grado de Medica Veterinaria Zootecnista, en la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Técnica de Ambato, autorizo a la Biblioteca de la Facultad, para que ese documento esté disponible para su lectura, según las normas de la Universidad.

Estoy de acuerdo a que se realice copia de este Informe Final, dentro de las regulaciones de la Universidad, siempre y cuando esta reproducción no ponga una ganancia económica potencial.

Sin perjuicio de ejercer mi derecho de autor, autorizo a la Universidad Técnica de Ambato la publicación de este informe fina, o de parte de él.



Diana Estefania Quinteros Flores

1805215512

APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE GRADO

“EVALUACIÓN DE UNA PRUEBA RÁPIDA INMUNOLÓGICA A BASE DE ANTICUERPOS ANTI-HCG DE CONEJO SOBRE LA DETECCIÓN TEMPRANA DE PREÑEZ EN VACAS HOLSTEIN”

APROBADO POR:

FECHA:

Ing. Mg. Patricio Núñez

PRESIDENTE DEL TRIBUNAL DE CALIFICACIÓN

Dr. Marco Rosero

MIEMBRO DEL TRIBUNAL DE CALIFICACIÓN

Dr. Gerardo Kelly

MIEMBRO DEL TRIBUNAL DE CALIFICACIÓN

DEDICATORIA

A mi madre, Lourdes Flores por todo su esfuerzo, dedicación y siempre creer en mí.

A mi padre, Manuel Quinteros por siempre brindarme su apoyo incondicional, para
cumplir mis metas

A mi hermano, Cesar Quinteros por apoyarme siempre en los momentos buenos y
malos.

AGRADECIMIENTOS

A Dios, por darme la vida, porque sin él no podría haber cumplido mis sueños.

A mis padres, Lourdes Flores y Manuel Quinteros, ustedes han sido siempre el motor que impulsa mis sueños y esperanzas, quienes estuvieron siempre a mi lado en los días y noches difíciles. Siempre han sido mis mejores guías de vida. Hoy que concluyó este sueño se los dedico queridos padres.

A mi hermano, Cesar Quinteros, por demostrarme que siempre puedo confiar y contar con su apoyo incondicional en los momentos difíciles.

Al Ing. Gonzalo Aragadvay, Dr. Marco Rosero y Dr. Gerardo Kelly, ustedes formaron parte importante de esta historia con sus aportes profesionales. Muchas gracias por sus palabras de aliento. Gracias por guiarme.

ÍNDICE GENERAL DE CONTENIDOS

APROBACIÓN DE TUTOR	2
DERECHOS DE AUTOR	3
APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE GRADO	4
DEDICATORIA	5
AGRADECIMIENTOS	6
ÍNDICE GENERAL DE CONTENIDOS	7
MARCO TEÓRICO	11
1.1 Antecedentes investigativos	11
1.2 Objetivos	16
1.2.1 Objetivo general.....	16
1.2.2 Objetivo específico.....	16
CAPÍTULO II	17
METODOLOGÍA	17
2.1 Equipos y materiales	17
2.1.1 Ubicación del experimento	17
2.1.2 Equipos	18
2.1.3 Materiales de laboratorio	18
2.1.4 Materiales biológicos.....	18
2.1.5 Materiales de campo.....	18
2.2 Metodología	18
2.2.1 Factores de estudio	18
2.2.2 Manejo de experimento	19
2.3 Análisis estadístico	21
CAPÍTULO III	22
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	22
TABLA 1. REGISTRO DE PREÑEZ DURANTE EL PERIODO DE EVALUACIÓN	22

TABLA 2. Prueba de sensibilidad y especificidad obtenida a los 15 días post - monta.	25
TABLA 3 Análisis Chi 2 de los resultados obtenidos a los 15 días del test.	25
TABLA 4. Valores que determinan la eficiencia diagnóstica de la prueba	26
TABLA 5. Prueba de sensibilidad y especificidad obtenida a los 30 días post- monta	27
TABLA 6. Análisis Chi 2 de los resultados obtenidos a los 30 días de aplicación del test.....	28
TABLA 7. Prueba de sensibilidad y especificidad obtenida a los 45 días post – monta	29
TABLA 8. Análisis Chi 2 de los resultados obtenidos a los 45 días de aplicación del test.....	29
TABLA. 9 REGISTRO DE DETECCION DE CELO.....	31
TABLA 10. TASA DE DETECCION DE CELO	33
TABLA 11. INDICE DE NO RETORNO (INR).....	33
TABLA 12. SERVICIOS POR CONCEPCIÓN (SC)	34
CAPITULO IV.....	35
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	35
4.1 Conclusiones	35
4.2 Recomendaciones	35
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	36
ANEXOS	38

RESUMEN EJECUTIVO

El objetivo de este estudio fue evaluar una prueba rápida inmunológica a base de anticuerpos anti-HCG de conejo sobre la detección temprana de preñez en vacas Holstein, la presente investigación se realizó en la Hacienda el Carmen ubicado en la comunidad de Hualcanga San Luis, Cantón Quero, Provincia Tungurahua. La investigación se realizó en 70 vacas previamente seleccionadas en base a características como raza (Holstein), edad (rango 5 – 7 años), peso (rango 450 – 500 kg), las mismas que fueron cubiertas mediante monta natural.

Posteriormente a los 15, 30 y 45 días se aplicó una prueba inmunológica a base de anticuerpos anti-HCG de conejo, para la detección temprana de gestación en muestras de orina. Además, se utilizó como prueba estándar o confirmatoria el diagnóstico mediante ecografía a los 45 días post servicio.

Los datos obtenidos en la prueba inmunológica aplicada a los 15 días mostraron una sensibilidad (S) del 76% y una especificidad (E) del 70%. Mientras que la prueba aplicada a los 30 días indicó una $S = 86\%$, $E = 85\%$. Finalmente, la prueba aplicada a los 45 días tuvo una $S = 92\%$, $E = 90\%$. Los resultados obtenidos mediante la aplicación de la prueba inmunológica son significativos en comparación a la prueba ecográfica confirmatoria. Basados en los resultados obtenidos se recomienda el uso de la prueba ecográfica bajo las condiciones del presente estudio.

Palabras claves: Bovinos, Holstein, pruebas inmunológicas, anticuerpos, pruebas rápidas, anticuerpos anti-HCG.

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate a rapid immunological test based on rabbit anti-HCG antibodies on the early detection of pregnancy in Holstein cows, the present investigation was carried out at the Carmen Ranch located in the community of Hualcanga San Luis, Quero Town, Tungurahua Province. The research was carried out on 70 previously selected cows based on characteristics such as breed (Holstein), age (range 5 - 7 years), weight (range 450 - 500 kg), the same ones that were covered by natural mating.

After 15, 30 and 45 days, an immunological test based on rabbit anti-HCG antibodies was applied for early detection of pregnancy in urine samples. In addition, diagnosis by ultrasound was used as a standard or confirmatory test 45 days after the service.

The data obtained in the immunological test applied at 15 days showed sensitivity (S) of 76% and specificity (E) of 70%. While the test applied at 30 days indicated S = 86%, E = 85%. Finally, the test applied at 45 days had an S = 92%, E = 90%. The results obtained by applying the immunological test are significant compared to the confirmatory ultrasound test. Based on the results obtained, the use of the ultrasound test is recommended under the conditions of this study.

Key words: Bovine, Holstein, immunological tests, antibodies, rapid tests, anti-HCG

CAPÍTULO I

MARCO TEÓRICO

1.1 Antecedentes investigativos

El diagnóstico temprano de gestación utilizando el método cuantitativo de HCG, **Lozano G. (2016)**, realizó una investigación aplicando el método cuantitativo no instrumental. El mismo que se basó en determinar la presencia de la hormona gonadotropina coriónica humana presente en la orina de una mujer en periodo de gestación. Se determinó mediante la técnica de inmunoensayo enzimático el mismo que fue desarrollado por el Instituto Nacional de Endocrinología. Los resultados se basaron en la especificidad, sensibilidad y exactitud que tenga la prueba arrojando los siguientes resultados, S 85%, E 95%, A 90% (para un límite de clasificación positivo de 100 UI de HC g/L). La diferencia médica de utilizar el método cuantitativo con el cualitativo es del 90%. A diferencia de la sensibilidad del método cualitativo fue menor a los requeridos en la literatura especializada. Por lo que se recomienda utilizar el método ecográfico, como auxiliar en la detección de gestación temprana, por su elevada especificidad, excelente correlación con el método cuantitativo y su fácil aplicación.

En la Universidad de Cotopaxi **Chiluiza (2010)**, realizó una investigación a base de gonadotropina coriónica la misma que es producida durante la gestación, su producción inicia posterior a la fecundación y sigue ascendiendo, en caso de no estar gestante el ritmo descenderá para reanudar el ciclo. La investigación se realizó en 100 cerdas de diferentes razas, utilizando 4 métodos de confirmación de preñez: test de tiras pregcolor aplicada en humanos con orina, suero sanguíneo β -HCG en suero sanguíneo y no retorno de celo. Concluyendo que la detección cualitativa con la hormona HCG circulante en suero sanguíneo confirma gestación en cerdas desde los 14 días. El test rápido a base de un análisis cualitativo, para determinar la presencia de la hormona HCG en suero, favoreció a la identificación cuantitativa de la hormona sub unidad de beta HCG.

Antelo V e Ibáñez L, (2015). Realizaron una investigación , en la universidad Zamorano de Honduras dónde se probó la prueba IDEXX Rapid Visual Pregnancy Test® la cual es una prueba de detección temprana de preñez en ganado bovino, la misma que permitió reducir los días abiertos e intervalo parto concepción en la granja. Se realizó el estudio en 131 vacas de temperamento cárnico dónde se aplicó el kit a los 28 días pos-servicio para la detección de preñez posteriormente a los 60 días se comparó con la palpación rectal. Esta prueba utilizó un ensayo inmuno-enzimático (ELISA) que detecta preñez de manera temprana a los 28 días pos servicio,. El porcentaje de preñez con IDEXX fue 74% en comparación con la palpación rectal al día 60 que fue 59%, encontrando diferencias significativas($P \leq 0.05$). La sensibilidad de la prueba fue de 96.3% y su especificidad 58.3%. En base a los resultados obtenidos se concluyó que la prueba IDEXX es altamente recomendada para detectar vacas que no se encuentran gestantes.

La Gonadotropina Coriónica equina es una hormona producida por el desarrollo de la placenta posterior a la fertilización **Santillana M. (2007)** manifiesta que una prueba esta relacionado con la técnica de radioinmunoensayo en dónde se marcarán las enzimas que reaccionan con (Gonadotropinas de suero de yegua preñada) aparecen las gonadotropinas endoteliales del feto a los 35 días de gestación dónde se segregan las gonadotropinas. Por este motivo la prueba debe usarse a partir de los 38 días hasta los 120 días posteriores a la monta. La muestra debe ser tomada y colocarse en forma vertical y esperar la separación de suero, fibrina y coágulo durante 30 minutos a una hora. Si no logra la separación en el tiempo estimado se recomienda centrifugar la muestra durante 5 minutos y lograr que el suero quede en la parte superior quedando libre de fibrina, facilitando su manejo. La dilución de agua y suero es de (5:1) cuatro de agua y una de suero, a partir de 40 a 100 días de la monta dónde las concentraciones de Gonadotropina están presentes en sangres sobreexcitando los reactivos dando como resultado una respuesta negativa o errónea. Aplicar dos gotas de suero diluido en la prueba y esperar diez minutos, no se puede interpretar los resultados la prueba después

de una hora. Interpretación de resultados: Positivo aparecen dos líneas. Negativo se marca con una línea.

Andueza. (2014) Realizó un estudio para determinar si las ovejas preñadas podían distinguirse de las ovejas vacías inseminadas mediante el análisis de plasma y la técnica NIRS (Near Infrared Reflectance Spectrometry) y para comparar la precisión del diagnóstico. Determinado con glicoproteína asociada al embarazo (PAG) y la progesterona (P4). Se recogieron muestras de sangre de 188 ovejas de raza Aragonesa y Ansotana, 18 y 25 días después de la inseminación. En el plasma recuperado, analice las concentraciones de PAG y P4 ELISA mediante kits comerciales que miden los espectros en un espectrofotómetro NIRS. La tasa de fecundidad en la FIV fue del 47,9%. El día 18, NIRS mostró una sensibilidad superior a la PAG en la detección de ovejas gestantes (sensibilidad: 98,9 vs 32,2%; $P < 0,001$) y comparable a P4. La especificidad para NIRS y PAG fue del 100%, mientras que la especificidad para P4 fue menor (84,7; $P < 0,001$). El día 25, no se hallaron diferencias en ningún parámetro entre NIRS y PAG. Se concluye que la NIRS es un método seguro para diagnosticar el embarazo en ovejas a partir del día 18 de su fecundación sin el uso de productos químicos.

La hormona HCG estimula el crecimiento del folículo de estrógenos y la función CL, mejorando la fertilidad en verano. **Jemma (2017)**, realizaron estudios dónde se demostró que la disminución de la fertilidad en verano puede deberse a una deficiencia del cuerpo lúteo (CL). Para el día 12 de preñez, el CL de la cerda se vuelve dependiente de LH y la señal de estrógeno fetal para determinar el embarazo materno (MRP) comienza aproximadamente 11-12 días después de la inseminación. Se ha planteado la hipótesis de que la inyección de la gonadotropina coriónica (hCG) análoga a la LH induce el crecimiento folicular estrogénico y aumenta la fertilidad en las cerdas primíparas al imitar la señalización de MRP y estimular la secreción de progesterona.

En la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Autónoma de Yucatán. Mérida, **Ortega A (2012)** realizó el diagnóstico de gestación en cabras criollas mediante la determinación de niveles sanguíneos y ultrasonografía en tiempo real, manifiesta que el diagnóstico de preñez es una práctica zootécnica muy importante para mantener o aumentar la eficiencia reproductiva en un sistema ganadero. Hay dos métodos muy efectivos para el diagnóstico de preñez en cabras: ultrasonido en tiempo real y medición de progesterona en sangre. El propósito de este estudio fue evaluar la confiabilidad de la progesterona en sangre y ultrasonido para detectar preñez a los 21 días después nacimiento. El diagnóstico de embarazo mediante la medición de progesterona en sangre tuvo una eficiencia de 62,07 %, sensibilidad 86,66 %, especificidad 35,71 %, valor predictivo positivo (VPP) de 59,09 % y valor predictivo negativo (VPVP) de 71,3%. La vía transabdominal y transrectal presentaron una eficiencia, sensibilidad, especificidad, VPP y VPN de 51.72 y 58.62%, 31.25 y 68.75%, 76.92 y 46.15%, 62.5 y 61.11, 47.62 y 54.54% respectivamente.

Tapia K. (2012) realizó un estudio de diagnóstico de gestación en perras a los 22 días pos- monta con la técnica de relaxina. En este estudio se diagnosticó gestación mediante inmunoensayo enzimático en perras cuyo rendimiento se midió en el día 22 de gestación. Se utilizaron 5 perras de diferentes razas y edades, de las cuales habían parido al menos una vez y se encontraban clínicamente sanas. El período experimental abarcó los meses de octubre a mayo de 2012. Se tomaron muestras de sangre de cada hembra el día 22 de gestación, calculadas a partir de los últimos apareamientos. Se recolectaron las muestras utilizando tubos de ensayo heparinizados, los cuales se transportaron en contenedores refrigerados las muestras se procesaron dentro de las 4 horas posteriores a la recolección. Diagnóstico de embarazo mediante prueba inmunoenzimática determinó la presencia de relaxina en sangre de esta forma se determinó preñez. Este método de diagnóstico, así como su efectividad podría evaluarse en el día 22 de preñez. Con un porcentaje de eficiencia del 60% a los 22 días. y 93,3 de efectividad. El diagnóstico fue confirmado por rayos X y ultrasonido en el día 45 de gestación.

Hernández J (2020) realizó la comparación del resultado de la prueba ELISA IDEXX Rapid Pregnancy Test en vacas gestantes y con ecografía, en la hacienda Santa Clara de la provincia del Carchi, Ecuador. En el Ecuador, las pruebas diagnósticas de gestación temprana en bovinos se limitan a pruebas operario dependientes como la ecografía y palpación rectal. 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. Con el kit Elisa IDEXX el cual detectó 2,8 por ciento animales negativos 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).

Puerto N (2016), realizó un estudio en la finca Santa Elisa en el municipio de Danley, Departamento de El Paraíso, Honduras. La prueba se realizó en 297 vacas Holstein, Jersey, Brown Swiss y sus cruces. Hubo diferencia en el porcentaje de embarazo cuando el kit IDEXX determinó 3.8% y palpación 32.3%, se determinó reabsorción embrionaria 26.2%. La sensibilidad y especificidad de la prueba fueron del 100% y 83,08%, respectivamente. Se realizó un estudio retrospectivo en el que se evaluaron las variables: días abiertos (DA) e intervalo entre partos (IEP) entre rebaños de la misma finca pero en diferentes tiempos y condiciones de crianza. El uso del kit IDEXX como opción de detección temprana permitió mejores resultados con 110.87 DA y 38 IEP.

1.2 Objetivos

1.2.1 Objetivo general

- Evaluar una prueba rápida inmunológica a base de anticuerpos anti-HCG de conejo sobre la detección temprana de preñez en vacas Holstein.

1.2.2 Objetivo específico

- Determinar el grado de sensibilidad de la prueba rápida inmunológica a los 15, 30 y 45 días post servicio en vacas Holstein.
- Cuantificar el grado de especificidad de la prueba rápida inmunológica a los 15, 30 y 45 días post servicio en vacas Holstein.
- Identificar parámetros reproductivos como tasa de detección de celos, índice de no retorno y número de servicios por concepción de vacas Holstein.

CAPÍTULO II

METODOLOGÍA

2.1 Equipos y materiales

2.1.1 Ubicación del experimento

La presente investigación se realizó en la Hacienda el Carmen ubicado en la comunidad de Hualcanga San Luis, Cantón Quero, Provincia Tungurahua.

San Luis se encuentra asentado a una altura de 2977 msnm. Sus límites son:

Norte: Cantón Cevallos

Sur: Cantón Guano

Este: Cantón Pelileo

Oeste: Cantón Mocha

San Luis tiene una temperatura promedio de 12,8 °C, con variaciones muy bruscas en el día, la máxima puede ser de 21°C y la mínima de 5°C (Estación meteorológica UTA, 2014).

Latitud	_____	
Longitud	1°34'1.44''S	98°38'5.28''W
<i>Coordenadas geográficas</i>	_____	

(GAD QUERO, 2016)

2.1.2 Equipos

- Ecógrafo SIUI TS-800

2.1.3 Materiales de laboratorio

- Prueba rápida inmunológica

2.1.4 Materiales biológicos

- Orina (muestra)

2.1.5 Materiales de campo

- 70 vacas Holstein
- Recipientes recolectores de orina (100ml)
- Tubos de ensayo (5ml)
- Guantes de goma

2.2 Metodología

2.2.1 Factores de estudio

Eficacia una prueba inmunológica para la detección temprana de preñez

2.2.2 Manejo de experimento

- **Unidades experimentales**

La investigación se realizará en 70 vacas previamente seleccionada en base a características como raza (Holstein), edad (rango 5 – 7 años), peso (rango 450 – 500 kg), las mismas que fueron cubiertas mediante monta natural. Posteriormente a los 15, 30 y 45 días se aplicó una prueba inmunológica a base de anticuerpos anti-HCG de conejo, para la detección temprana de gestación, en muestras de orina. Además, se utilizó como prueba estándar o confirmatoria el diagnóstico mediante ecografía a los 45 días post servicio.

- **Muestra de orina**

Antes de iniciar con el proceso de obtención de la muestra de orina se lavaron los órganos genitales externos del animal y a continuación, se procedió a masajear suavemente la piel alrededor de los mismos. Tras 15 a 30 segundos se observó una micción involuntaria. Las muestras de orina fueron de 5 ml de cada animal y se recolectaron en frascos limpios, para luego ser colocados en tubos de ensayo, éstos se cerraron con tapones de goma y se etiquetaron con el número de identificación del animal y fecha de servicio. Las muestras de orina para dicho diagnóstico se tomaron una sola vez en horas de la tarde.

- **Protocolo de reacción**

Antes de usar, el kit se agitó hasta que el precipitado se disuelva. Luego, se vertieron 5 ml de la orina en el kit.

El contenido del kit se mezcló con movimientos rotatorios hasta que adquirió un color naranja uniforme (10-15 segundos)

- **Interpretación de resultados**

Resultado positivo: durante 15 minutos el contenido del tubo de ensayo se tiñe de color morado, en el periodo de una hora se observará un precipitado abundante de color violeta con aclaración del líquido sobrenadante.

Resultado negativo: el contenido del tubo de ensayo mantiene su color naranja inicial y la consistencia homogénea. Es posible que se tiñe de color rosa o morado. No se observará ningún precipitado.

- **Parámetros reproductivos**

Para la determinación del porcentaje de detección de celo se calculó dividiendo el número total de servicios o celos observados y/o reportados de un grupo de vacas en servicio durante un período específico (mínimo 21 días) por el número total de días (días que la vaca estuvo efectiva dentro del grupo) en ese periodo dividido por 21.

Para la determinación del índice de no retorno se cuantificó las vacas que no retornan al celo a los 60 días post servicio y se relacionaron con el total de las vacas servidas.

Finalmente, para identificar el número de servicios por concepción se consideró la suma de servicios por monta natural realizados en vacas

que resultaron preñadas durante el periodo de estudio y se relacionaron para el número de vacas confirmadas preñadas en el periodo final.

2.3 Análisis estadístico

Se calcularon indicadores de pruebas diagnósticas como: diagnóstico verdadero positivo (vp), diagnóstico falso positivo (fp), diagnóstico verdadero negativo (vn), y diagnóstico falso negativo (fn). A partir de estos datos, la sensibilidad ($100 \times vp/vp + fn$), especificidad ($100 \times vn/vn + fp$) de la prueba inmunológica a los 15,30 y 45 días post monta. Se determinó finalmente el valor predictivo positivo (VPP) ($100 \times vp/vp + fp$), valor predictivo negativo (VPN).

Para el indicador número de vacas preñadas y su comparación entre la prueba inmunológica y el método ecográfico se utilizó una prueba estadística denominada Chi-cuadrado con una confiabilidad del 95%

CAPÍTULO III

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

TABLA 1. REGISTRO DE PREÑEZ DURANTE EL PERIODO DE EVALUACIÓN

# Vaca	Monta	Muestra 1	R	Muestra 2	R	Muestra 3	R	Ecografía	R
122	12-sep	26-sep	N	10-oct	P	24-oct	P	28-oct	P
13	12-sep	26-sep	N	10-oct	N	24-oct	N	28-oct	N
387	15-sep	29-sep	P	13-oct	P	27-oct	P	28-oct	P
242	15-sep	29-sep	N	13-oct	N	27-oct	N	28-oct	P
310	16-sep	30-sep	P	14-oct	P	28-oct	P	28-oct	P
305	18-sep	2-oct	N	16-oct	N	30-oct	N	4-nov	N
343	18-sep	2-oct	P	16-oct	P	30-oct	P	4-nov	P
34	18-sep	2-oct	N	16-oct	N	30-oct	N	4-nov	N
407	18-sep	2-oct	N	16-oct	N	30-oct	N	4-nov	P
91	19-sep	3-oct	N	17-oct	N	31-oct	N	4-nov	N
147	22-sep	6-oct	P	20-oct	P	3-nov	P	4-nov	P
512	22-sep	6-oct	P	20-oct	P	3-nov	P	4-nov	P
111	22-sep	6-oct	N	20-oct	P	3-nov	P	4-nov	P
503	23-sep	7-oct	P	21-oct	P	4-nov	P	4-nov	P
72	23-sep	7-oct	N	21-oct	N	4-nov	N	4-nov	N
300	25-sep	9-oct	P	23-oct	P	7-nov	P	16-nov	P
26	25-sep	9-oct	P	23-oct	P	7-nov	P	16-nov	P

Tina	26-sep	10-oct	P	24-oct	P	8-nov	P	16-nov	P
169	26-sep	10-oct	P	24-oct	N	8-nov	N	16-nov	N
139	29-sep	13-oct	N	26-oct	N	10-nov	N	16-nov	N
151	29-sep	13-oct	N	26-oct	P	10-nov	P	16-nov	P
101	30-sep	14-oct	P	27-oct	P	11-nov	P	16-nov	P
32	30-sep	15-oct	N	28-oct	N	12-nov	N	16-nov	N
221	30-sep	15-oct	P	28-oct	P	12-nov	P	16-nov	P
307	3-oct	18-oct	P	31-oct	P	15-nov	P	16-nov	P
40	3-oct	18-oct	P	31-oct	P	15-nov	P	16-nov	P
495	4-oct	19-oct	N	1-nov	N	16-nov	N	16-nov	N
F 23	7-oct	21-oct	N	3-nov	N	18-nov	P	27-nov	P
173	7-oct	22-oct	P	4-nov	P	19-nov	P	27-nov	P
27	7-oct	22-oct	P	4-nov	P	19-nov	P	27-nov	P
303	12-oct	22-oct	P	4-nov	P	19-nov	N	27-nov	N
302	12-oct	27-oct	P	9-nov	P	24-nov	P	27-nov	P
10	13-oct	27-oct	N	9-nov	P	24-nov	P	27-nov	P
20	16-oct	28-oct	P	10-nov	P	25-nov	P	27-nov	P
345	16-oct	31-oct	N	13-nov	N	27-nov	N	27-nov	N
169	19-oct	31-oct	N	13-nov	N	27-nov	N	27-nov	N
14	19-oct	3-nov	P	16-nov	P	30-nov	P	2-dic	P
F24	19-oct	3-nov	P	16-nov	P	30-nov	P	2-dic	P
15	19-oct	3-nov	P	16-nov	P	30-nov	P	2-dic	P
304	21-oct	3-nov	P	16-nov	P	30-nov	P	2-dic	P
125	22-oct	5-nov	N	18-nov	N	1-dic	P	2-dic	P
119	22-oct	6-nov	P	19-nov	P	2-dic	P	2-dic	P
60	26-oct	6-nov	N	19-nov	N	2-dic	N	2-dic	N
140	26-oct	10-nov	P	23-nov	P	7-dic	P	14-dic	P
225	27-oct	10-nov	P	23-nov	P	7-dic	P	14-dic	P

F28	27-oct	11-nov	P	24-nov	P	8-dic	P	14-dic	P
138	29-oct	11-nov	P	24-nov	N	8-dic	N	14-dic	N
18	30-oct	13-nov	P	26-nov	P	10-dic	P	14-dic	P
170	30-oct	14-nov	P	27-nov	P	11-dic	P	14-dic	P
347	30-oct	14-nov	N	27-nov	P	11-dic	P	14-dic	P
128	1-nov	14-nov	N	27-nov	N	11-dic	N	14-dic	N
19	1-nov	16-nov	N	29-nov	N	13-dic	P	14-dic	P
115	1-nov	16-nov	P	29-nov	P	13-dic	P	14-dic	P
350	2-nov	17-nov	N	29-nov	N	13-dic	N	14-dic	N
301	2-nov	17-nov	P	30-nov	P	14-dic	P	14-dic	P
28	5-nov	20-nov	P	30-nov	P	14-dic	P	14-dic	P
172	5-nov	20-nov	P	3-dic	N	17-dic	N	23-dic	N
201	5-nov	20-nov	N	3-dic	N	17-dic	N	23-dic	P
53	7-nov	22-nov	P	3-dic	P	17-dic	P	23-dic	P
132	7-nov	22-nov	P	5-dic	P	19-dic	P	23-dic	P
154	8-nov	23-nov	P	5-dic	P	19-dic	P	23-dic	P
44	11-nov	26-nov	P	6-dic	P	20-dic	P	23-dic	N
25	11-nov	26-nov	N	9-dic	N	23-dic	N	23-dic	P
175	13-nov	28-nov	P	9-dic	P	23-dic	P	23-dic	P
61	13-nov	28-nov	P	11-dic	P	25-dic	P	26-dic	P
230	13-nov	28-nov	N	11-dic	N	25-dic	N	26-dic	N
233	14-nov	29-nov	P	11-dic	P	25-dic	P	26-dic	P
157	14-nov	29-nov	P	12-dic	P	26-dic	P	26-dic	P
448	14-nov	29-nov	P	12-dic	P	26-dic	P	26-dic	N
73	14-nov	29-nov	P	12-dic	P	26-dic	P	26-dic	P

TABLA 2. Prueba de sensibilidad y especificidad obtenida a los 15 días post - monta.

		Ecografía			Resultados pruebas diagnósticas	
		Gestante	Vacía	TOTAL	Sensibilidad	76 %
Prueba Inmunológica	Positiva	38	6	44	Especificidad	70 %
	Negativa	12	14	26	Valor predictivo positivo	86,36 %
	TOTAL	50	20	70	Valor predictivo negativo	53,80 %
					Razón de verosimilitud positiva	2,53
					Razón de verosimilitud negativa	0,34

TABLA 3 Análisis Chi 2 de los resultados obtenidos a los 15 días del test.

ECOGRAFÍA			
PRUEBA	gestante	vacía	Total
Negativo	12	14	26
Positivo	38	6	44
Total	50	20	70

Estadístico	Valor	gl	p
Chi Cuadrado Pearson	12,95	1	0,0003
Chi Cuadrado MV-G2	12,82	1	0,0003
Irwin-Fisher bilateral	-0,40		0,0005

Tabla 2. Se muestran los resultados de sensibilidad y especificidad al día 15 post monta, indicando que solo el 76% dieron positivos a la prueba. En este caso, hubo un 24% de falsos negativos (vacas preñadas que dieron negativo a la prueba). Por otra parte, la especificidad fue del 70%, indicando que este porcentaje de vacas no gestantes dieron negativo a la prueba, consecuentemente se reporta un 30% de falsos positivos o vacas no gestantes que han dado positivo a la prueba. **Ríos L (2013)** menciona que a los 15 días post monta no se puede diagnosticar preñez, pero si vacas vacías, por está razón la prueba inmunológica presenta bajos porcentajes de sensibilidad y especificidad.

Valor predictivo positivo, indica que de 44 vacas con resultado positivo solo el 86,36% (38 vacas) están gestantes. En este caso, existieron un 13.64% de vacas no gestantes diagnosticadas cómo preñadas. En lo que respecta, al valor predictivo negativo indica que de cada 26 pruebas negativas el 53,84% (14 vacas) no están gestantes en este caso hay un 46.16% de falsos.

Razón de verosimilitud, indica que el índice de eficiencia pronóstica positiva fue de 2,53 y el índice de eficiencia pronóstica negativa fue de 0,34. **Donis J (2012)** manifiesta que una prueba con un valor, igual a $IEP (+) \geq 2 < 5$ o $IEP (-) > 0.2 \leq 0.5$ es una prueba de escasa validez pronóstica basados en la escala que determinan la eficiencia diagnóstica de una prueba, tal y como lo muestra la tabla 4.

TABLA 4. Valores que determinan la eficiencia diagnóstica de la prueba

Tabla 4. Valores que determinan la eficiencia diagnóstica de la prueba	
Valores IEP	Capacidad
$IEP(+)\geq 10$ ó $EP(-)\leq 0.1$	Suficiente
$IEP(+)\geq 5 < 10$ ó $EP(-) > 0.1 \leq 0.2$	Moderada
$IEP(+)\geq 2 < 5$ ó $IEP (-) > 0.2 \leq 0.5$	Escasa
$IEP(+)\geq 1 < 2$ ó $IEP (-) > 0.5 < 1$	Insignificante

IEP: Índice de Eficiencia Pronóstica

Tabla 3. Finalmente, cuando los resultados obtenidos se sometieron a un análisis estadístico de Chi² y se compararon las vacas que dieron un resultado positivo a la prueba inmunológica que fueron 38 vacas y representaron el 54,28%. Mientras que con la ecografía resultaron gestantes 50 animales (71,42%), estos porcentajes de preñez mostraron diferencias altamente significativas (p<0.003). En este sentido, **Guadamud G. (2017)** en su estudio reporta un porcentaje de preñez a los 28 días con IDEXX del 75% y coa palpación rectal a los 60 días de un 60%. En este caso se puede observar en el presente trabajo, la prueba inmunológica rápida aplicada los 15 días no logra superar a otra prueba aplicada en un periodo mayor post servicio.

TABLA 5. Prueba de sensibilidad y especificidad obtenida a los 30 días post- monta

		Ecografía			Resultados pruebas diagnósticas	
		Gestante	Vacía	TOTAL	Sensibilidad	86 %
Prueba inmunologica	Positiva	43	3	46	Especificidad	85 %
	Negativa	7	17	24	Valor Predictivo positivo	93,47 %
	TOTAL	50	20	70	Valor Predictivo negativo	70,83 %
					Razón de verosimilitud positiva	5,73
					Razón de verosimilitud negativa	0,16

TABLA 6. Análisis Chi 2 de los resultados obtenidos a los 30 días de aplicación del test.

ECOGRAFÍA

REACTIVO	gestante	vacía	Total
Negativo	7	17	24
Positivo	43	3	46
Total	50	20	70

Estadístico	Valor	gl	p
Chi Cuadrado Pearson	31,96	1	<0,0001
Chi Cuadrado MV-G2	32,60	1	<0,0001
Irwin-Fisher bilateral	-0,64		<0,0001

Tabla 5. Los resultados de sensibilidad mostraron un 86 % de vacas que dieron positivo a la prueba .Indicando que hubo un 14 % de falsos negativos .Por otro lado, la especificidad fue de un 85 % de vacas no gestantes que dieron negativo a la prueba .En este caso hubo un 15% de falsos positivos. **Antelo V. (2015)** manifiesta que el porcentaje de sensibilidad y especificidad los 28 días con IDEXX Bovine Pregnancy Test® fue: Sensibilidad de la prueba de 98.14% y especificidad 90.74%.Comparado con los resultados obtenidos en la presente investigación con la aplicación de la prueba inmunológica a base de anticuerpos HCG a los 30 días y ecografía al día 45 son inferiores.

Valor predictivo positivo, indica que de 46 vacas con resultado positivo solo el 93,47 % están gestantes y el 6,53 % de vacas no gestantes fueron diagnosticadas cómo preñadas. Por otra parte al valor predictivo negativo indica que de 24 pruebas negativas el 70,83 % no están gestantes en este caso hay un 29,17 % de falsos negativo.

Razón de verosimilitud, indica que el índice de eficiencia pronóstica positiva fue de 5,73 y el índice de eficiencia pronóstica negativa fue de 0,16 determinando que es una prueba de moderada validez pronóstica basados en la escala de valores que determinan la eficiencia diagnostica de una prueba, tal y como lo muestra la tabla 3.

Tabla 6 Los resultados obtenidos se sometieron a un análisis estadístico de Chi 2 y se compararon las vacas que dieron un resultado positivo a la prueba inmunológica (43 vacas), frente a los 50 animales que con la ecografía resultaron gestantes, se detectó diferencias significativas (p<0.001).

TABLA 7. Prueba de sensibilidad y especificidad obtenida a los 45 días post – monta

		Ecografía			Resultados pruebas diagnósticas	
		Gestante	Vacía	TOTAL	Sensibilidad	92 %
Prueba inmunológica	Positiva	46	2	48	Especificidad	90 %
	Negativa	4	18	22	Valor predictivo positivo	95,83 %
	TOTAL	50	20	70	Valor predictivo negativo	81,81 %
					Razón de verosimilitud positiva	10,1
					Razón de verosimilitud negativa	0,088

TABLA 8. Análisis Chi 2 de los resultados obtenidos a los 45 días de aplicación del test.

<i>ECOGRAFIA</i>			
<u>REACTIVO</u>	<u>gestante</u>	<u>vacía</u>	<u>Total</u>
Negativo	4	18	22
Positivo	46	2	48
<u>Total</u>	<u>50</u>	<u>20</u>	<u>70</u>

<u>Estadístico</u>	<u>Valor</u>	<u>gl</u>	<u>p</u>
Chi Cuadrado Pearson	44,57	1	<0,0001
Chi Cuadrado MV-G2	46,27	1	<0,0001
Irwin-Fisher bilateral	-0,78		<0,0001

Tabla 7. Los resultados de sensibilidad de la prueba diagnóstica a base Anti- HCG al día 45 fueron de 92 % .Por otro lado, la especificidad fue de un 90 %. **Ríos F.(2013)** refiere que en el estudio a base de proteínas asociados a la gestación (PAG) realizado al día 40 post monta registra una sensibilidad del 100% y especificidad del 100% . **Alonso L . (2012)** obtuvo resultados similares al día 40, lo que indica que la prueba evaluada en este estudio no es sensible ni precisa con relación a las otras pruebas, apesar de ser evaluada en un mayor días de gestación.

Valor predictivo positivo, indica que de 48 vacas con resultado positivo solo el 95,83 % están gestantes. En este caso, existieron un 4,17 % de vacas no gestantes diagnosticadas cómo preñada. En lo que respecta, al valor predictivo negativo indica que de cada 22 pruebas negativas el 81,81% no están gestantes en este caso hay un 8,19 % de falsos.

Razón de verosimilitud, indica que el índice de eficiencia pronóstica positiva fue de 10,1 y el índice de eficiencia pronóstica negativa fue de 0,088 determinando que es una prueba de suficiente validez pronóstica basados en la escala de valores que determinan la eficiencia diagnostica de una prueba, tal y como lo muestra la tabla 3.

Tabla 8 Los resultados obtenidos se sometieron a un análisis estadístico de Chi 2 y se compararon las vacas que dieron un resultado positivo a la prueba inmunológica (46 vacas), frente a los 50 animales que con la ecografía resultaron gestantes, se detectó diferencias significativas ($p < 0.001$)

TABLA 10. TASA DE DETECCION DE CELO

Este parámetro se calcula dividiendo el número total de celos, durante un periodo específico mínimo de 21 días, multiplicado por el número total de días que la vaca estuvo en celo durante un periodo, dividido por 21.

% de celos detectados				
TASA DE DETECCION DE CELO	Primer periodo.	Segundo periodo	Tercer periodo	Promedio detección de celo en los 3 periodos
		34,45%	35,45%	57,27%

TDC = Número total de servicios / (número total de días * total de la población) * 100

TDP = 42,72%

El resultado obtenido del parámetro tasa de detección de celo es de 42,72%. **Carmona. G.(2006)** manifiesta que en el estudio realizado en 1445 vacas el porcentaje de detección de celo fue de 42.3 % lo que se asemeja a los resultados de esta investigación y se encuentra dentro de los parámetros aceptables.

TABLA 11. INDICE DE NO RETORNO (INR)

Este índice da el porcentaje de vacas que no mostraron celo durante los 21, 42, 63 días después de ser servidas mediante monta natural o inseminación artificial .La confiabilidad de la concepción aumenta con el tiempo después del servicio .Debe ser más del 70% dentro de los 21 días, mientras que entre 42 y 63 días el 70% se considera muy satisfactorio.

ÍNDICE DE NO RETORNO	Primer periodo	Segundo periodo	Tercer periodo
	21 días	42 días	63 días
	62.85 %	61.42 %	40 %

Los resultados obtenidos del índice de no retorno a los 21 días es de 62,85%, al día 42 de 61,42 % y al día 63 de 40 % . **Ortiz S. (2020)** manifiesta que el INR a los 21 días debe ser mayor a 70%. El presente estudio refleja valores por debajo de este porcentaje, lo que indica que existe un alto índice de vacas que repiten celo .

TABLA 12. SERVICIOS POR CONCEPCIÓN (SC)

Este parámetro se refiere al número total de servicios realizados para que una vaca quede gestante.

Número de servicios realizados				
SERVICIOS POR CONCEPCIÓN	Primer periodo.	Segundo periodo	Tercer periodo	Total de servicios
		26	25	42

$$SC = \# \text{ total de servicios} / \text{total de vacas preñadas}$$

$$SC = 93 / 50$$

$$SC = 1.8 \text{ servicios}$$

El resultado obtenido del parámetro servicios por concepción es de 1.8. **Matthew L. (2009)** manifiesta que un valor aceptable es entre un rango de 1.5 a 1.8 servicios por concepción y depende de la eficiencia en la detección de celo. El presente estudio entra en el parámetro de lo aceptable.

3.3 Hipótesis

H0: La prueba rápida inmunológica a pesar de tener un alto grado de sensibilidad y especificidad no es recomendable como método diagnóstico temprano de preñez.

CAPITULO IV

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

4.1 Conclusiones

- Se determinó que el grado de sensibilidad de la prueba inmunológica al día 15 fue de 76%, al día 30 de 86% y al día 45 de 92%. Se concluye que la especificidad de la prueba varía dependiendo del día de aplicación, mientras más temprano se aplique la prueba inmunológica se obtendrán más falsos positivos (vacas preñadas que dieron negativo a la prueba).
- Se cuantificó el grado de especificidad de la prueba inmunológica al día 15 fue de 70%, al día 30 de 85% y al día 45 de 90%. Se concluye que los resultados de especificidad de la prueba inmunológica varía dependiendo del día de aplicación, mientras más temprano se aplique más falsos negativos se registrarán (vacas vacías que dieron positivo a la prueba).
- Se identificó los parámetros reproductivos de detección de celo el mismo que registro un valor en el primer periodo (21 días) de 34,45% en el segundo periodo (42 días) 36,45% y al tercer periodo (63 días) de 57,24%. Obteniendo un promedio de los tres periodos que fue del 42,72%, el cual se encuentra en el parámetro de lo aceptable. Los resultados obtenidos del índice de no retorno a los 21 días es de 62,85%, al día 42 de 61,42 % y al día 63 de 40 % .Estos valores se encuentran por debajo de los resultados esperados que deben ser superiores al 70% al día 21. El número de servicios por concepción fue 1.8, el cual entra en el rango de lo aceptable ya que los servicios por concepción recomendados van en un rango de 1.5 a 1.8.

4.2 Recomendaciones

- Utilizar el test para diagnóstico temprano de preñez.
- Realizar la lectura de los resultados como lo indica el fabricante.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Alonso, L. (2012). UTILIDAD DE LA PALPACIÓN RECTAL Y LA ECOGRAFÍA TRANSRECTAL EN EL DIAGNÓSTICO DE GESTACIÓN DEL GANADO CEBÚ. Revista Científica FCV-LUZ, 22(19), 2. <http://www.redalyc.org/articuo.oa?id=95921743002>

Andueza D, Alabart JL, Lahoz B, Muñoz F, Folch J. Early pregnancy diagnosis in sheep using near-infrared spectroscopy on blood plasma. Theriogenology. 2014 Feb;81(3):509-13. Doi: 10.1016/j.theriogenology.2013.10.016. Epub 2013 Oct 26. PMID: 24290373.

Antelo, V. y Ibanez, L. (2015). Detección temprana de preñez utilizando el kit IDEXX Bovine Pregnancy® en vacas de carne. [Tesis de licenciatura, ZAMORANO CARRERA DE INGENIERÍA AGRONÓMICA]. <https://bdigital.zamorano.edu>

Carmona G, Arroyo, G. 2006. Cómo medir la eficiencia reproductiva de su hato lechero. [Internet]. Disponible en: <https://www.engormix.com/ganaderia/leche/articulos/como-medir-eficiencia-reproductiva-t26622.htm>

Chiluisa, L. (2010). Determinación cuantitativa de HCG, para establecer la gestación en cerdas antes de los 21 días pos servicio, en suero sanguíneo.. [Tesis de pregrado, Unidad Académica de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales. UTC.]. <http://repositorio.utc.edu.ec/handle/27000/79>

Donis, J. H., (2012). Evaluación de la validez y confiabilidad de una prueba diagnóstica. Avances en Biomedicina, 1(2),73-81.[fecha de Consulta 15 de Enero de 2023]. ISSN: 2477-9369. Recuperado de: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=331328015005>

GAD Quero (2016). Plan de Diagnóstico del cantón Mocha. (En línea).consultado el 16 de enero de el 2023. Disponible en: <http://app.sni.gob.ec/snilink/sni/PORTALSNI/datasigadplus/sigadplusdiagno /DiagnosticoGAD%20Quero15112014.pdf>

Guadamud , G. y Roca, W. (2017). Detección temprana de preñez en ganado de carne con prueba ELISA usando kit IDEXX Rapid Visual Pregnancy Test®. [Tesis de Licenciatura, Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano.Disponible en: <http://bdigital.zamorano.edu>.

Hernández, J. (2020). 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 (Tesis de pregrado). Universidad de las Américas, Quito.

Jemma Seyfang, P. Langendijk, T.Y. Chen, E. Bouwman, R.N. Kirkwood. Human chorionic gonadotrophin in early gestation induces growth of estrogenic ovarian follicles and improves primiparous sow fertility during summer. *Animal Reproduction Science*. Volume 172, September 2016, Pages 21–25. <http://dx.doi.org/10.1016/j.anireprosci.2016.06.009>

Lozano Guadarrama, Armando, Martínez Moreira, Francisco, Santana Porbeu, Sergio, Coto Rodeiro, Remigio, & García Dafonte, Gema. (1998). Diagnóstico precoz de embarazo en la atención primaria mediante determinación cualitativa de gonadotropina coriónica humana. *Revista Cubana de Medicina General Integral*, 14(5), 434-439. Recuperado en 17 de enero de 2023, de http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-21251998000500005&lng=es&tlng=es,

Matthew L. 2009. Celos: biología básica y mejoramiento de la detección. Sitio Argentino de producción animal.[Internet]. Disponible en: http://www.produccion-animal.com.ar/informacion_tecnica/inseminacion_artificial/161-celos_biologia.pdf

Ortega, A. (2012). Diagnóstico de gestación en cabras criollas (*Capra hircus*) mediante determinación de los niveles sanguíneos de progesterona y ultrasonografía de tiempo real. [Tesis de pregrado, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Autónoma de Yucatán]. <http://www.uady.mx/~biomedic/rb991045.pdf>

Ortiz S. (2020). Fundamentos y métodos actuales de detección de celo en bovinos. (Tesis de pregrado). Recuperado de: <http://hdl.handle.net/20.500.12494/17509>

Ríos, F. (2013). EVALUACIÓN DEL USO DE PROTEÍNAS ASOCIADAS A LA GESTACIÓN (PAG) COMO ALTERNATIVA PARA EL DIAGNÓSTICO DE GESTACIÓN TEMPRANA EN GANADO HOLSTEINFRIESIAN. [Tesis doctoral, UNIVERSIDAD AUSTRAL DE CHILE FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS INSTITUTO DE CIENCIA ANIMAL]. <http://cybertesis.uach.cl/tesis/uach/2013/fvr5861e/doc/fvr5861e.pdf>

Santillana, M. (2007). Prueba diagnóstica de preñez equina. *Engormix*, 6, 3-5. <https://www.engormix.com/equinos/articulos/prueba-diagnostica-prenez-equina-t26844.htm>

Tapia, K. (2012). Diagnóstico de gestación en perras a los 22 días post-monta con la técnica de relaxina. [Tesis pregrado, Universidad Autónoma Agraria “Antonio Naro”]. <http://repositorio.uaaam.mx>

ANEXOS



Prueba inmunológica que se utilizó en el estudio



Extracción de 5 ML de orina para agregar en la prueba



Interpretación de resultados

Positivo: Precipitado en color lila
Negativo: No se observa precipitado