



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

DIAGNÓSTICO ULTRAPRECOZ DE GESTACIÓN EN BOVINOS LECHEROS CON LA TÉCNICA DOPPLER

JHONNATAN FABRICIO VALDIVIESO VALLEJO.

**Trabajo de Titulación modalidad: Proyectos de Investigación y Desarrollo,
presentado ante el Instituto de Posgrado y Educación Continua de la ESPOCH,
como requisito parcial para la obtención del grado de:**

**MAGÍSTER EN REPRODUCCIÓN ANIMAL MENCIÓN
REPRODUCCIÓN BOVINA.**

Riobamba – Ecuador

Diciembre-2021

©2021, Jhonnatan Fabricio Valdivieso Vallejo

Se autoriza la reproducción total o parcial, con fines académicos, por cualquier medio o procedimiento, incluyendo la cita bibliográfica del documento, siempre y cuando se reconozca el Derecho de Autor

CERTIFICACIÓN:

EL TRIBUNAL DE TRABAJO DE TITULACIÓN CERTIFICA QUE:

El **Trabajo de Titulación modalidad Proyectos de Investigación y Desarrollo**, titulado “Diagnóstico ultraprecoz de gestación en bovinos lecheros con la técnica DOPPLER”, de responsabilidad del Sr. JHONNATAN FABRICIO VALDIVIESO VALLEJO ha sido prolijamente revisado y se autoriza su presentación.

Tribunal:



Ing. Luis Eduardo Hidalgo Almeida; PhD.

PRESIDENTE



Dr. MVZ. Rodrigo Leonardo Muñoz Espinoza; Mag

DIRECTOR

FABIAN
AUGUSTO
ALMEIDA
LOPEZ



Firmado digitalmente por FABIAN
AUGUSTO ALMEIDA LOPEZ
Fecha: 2021.12.16 15:46:04 -0500

Ing. Fabián Augusto Almeida López; Mag

MIEMBRO



JULIO CESAR
BENAVIDES
LARA

MIEMBRO

Ing. Julio Cesar Benavides Lara; Mag

MIEMBRO

Riobamba, diciembre-2021

DERECHOS INTELECTUALES

Yo, Jhonnatan Fabricio Valdivieso Vallejo, soy responsable de las ideas, doctrinas y resultados expuestos en este Trabajo de Titulación y el patrimonio intelectual del mismo pertenece a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo



Jhonnatan Fabricio Valdivieso Vallejo
N°. cédula: 0603744608

Yo, Jhonnatan Fabricio Valdivieso Vallejo, declaro que el presente proyecto de investigación, es de mi autoría y que los resultados del mismo son auténticos y originales. Los textos constantes en el documento que provienen de otras fuentes están debidamente citados y referenciados.

Como autor, asumo la responsabilidad legal y académica de los contenidos de este Trabajo de Titulación de Maestría



Jhonnatan Fabricio Valdivieso Vallejo

N°. Cédula: 0603744608

DEDICATORIA

A mi hermano que desde el cielo me cuida y me bendice.

AGRADECIMIENTO.

A Dios por brindarme salud para seguir adelante, a mis padres por el ejemplo y el apoyo incondicional

CONTENIDO

RESUMEN.....	xv
ABSTRACT.....	xvi

CAPÍTULO I

1.	INTRODUCCIÓN	1
1.1.	Planteamiento del problema.....	2
1.2.	Situación problemática	3
1.3.	Formulación del problema	5
1.4.	Preguntas directrices	5
1.5.	Justificación de la investigación.....	6
1.5.1.	<i>Justificación teórica</i>	6
1.5.2.	<i>Justificación metodológica</i>	6
1.5.3.	<i>Justificación práctica</i>	7
1.6.	Objetivos de la investigación	8
1.6.1.	<i>Objetivo General</i>	8
1.6.2.	<i>Objetivos específicos</i>	8

CAPITULO II

2.	MARCO TEÓRICO REFERENCIAL	9
2.1.	Antecedentes del problema.....	9
2.2.	Bases teóricas.....	12
2.2.1.	<i>Gestación en bovinos</i>	12
2.2.2.	<i>Reconocimiento de la gestación en vacas</i>	13
2.2.3.	<i>La progesterona</i>	15
2.2.4.	<i>Ciclo estral</i>	17
2.2.5.	<i>Funcionamiento del Ciclo Estral</i>	18
2.2.5.1.	Detección precoz de preñez en vacas	19
2.2.6.	<i>Determinación de las concentraciones de progesterona en la sangre</i>	20
2.2.7.	<i>Técnica doppler</i>	21
2.2.8.	<i>Detección de preñez en vacas utilizando la técnica del ecógrafo doppler</i>	22
2.2.8.1.	Cambios en el flujo sanguíneo en los ovarios	25
2.2.9.	<i>Términos de referencia</i>	26

CAPÍTULO III

3.2.	Diseño de la investigación.....	29
3.4.	Método de la investigación	30
3.5.	Población de estudio.....	30
3.6.	Unidad de análisis	30
3.7.	Selección de la muestra.....	30
3.8.	Técnica de recolección de datos primario y secundario	31
3.10.	Identificación de variables.....	33
3.11.	Variable Independiente	33
3.1.3.	Variable Dependiente	33
3.1.4.	Variables Intervinientes	33
3.2.	Operacionalización de variables	34

CAPÍTULO IV

4.	MARCO DE RESULTADO Y DISCUSIÓN.....	37
4.1.	Evaluación del Diagnóstico ultraprecoz de gestación en bovinos lecheros con la técnica doppler	37
4.1.1.	<i>Diagnóstico ultraprecoz de la gestación en vacas</i>	37
4.1.2.	<i>Exploración Transrectal de las vacas lecheras</i>	38
4.1.3.	<i>Sensibilidad y Especificidad</i>	39
4.1.4.	<i>Exactitud y Fiabilidad</i>	41
4.2.	Funcionalidad del Cuerpo lúteo de los bovinos lecheros con el uso de la técnica Doppler.....	42
4.2.1.	<i>Exploración y tamaño del cuerpo lúteo</i>	42
4.2.2.	<i>Irrigación sanguínea</i>	44
4.2.3.	<i>Niveles de progesterona en la sangre</i>	46
4.2.4.	<i>Nivel de progesterona en relación con el tamaño y calidad del cuerpo lúteo</i>	47
4.2.5.	<i>Muerte embrionaria</i>	48
4.2.6.	<i>Niveles de progesterona en relación con la irrigación sanguínea central</i>	48
4.2.7.	<i>Niveles de progesterona en la sangre en relación con la muerte embrionaria</i>	49

CAPÍTULO V

5.	PROPUESTA	51
5.1.	Protocolo para el diagnóstico ultraprecoz de gestación en bovinos lecheros con la técnica doppler	51

5.1.1.	<i>Antecedentes</i>	51
5.1.2.	<i>Objetivo</i>	52
5.1.3.	<i>Alcance</i>	52
5.1.4.	<i>Descripción de procesos</i>	52
5.1.4.1.	Elección del equipo	52
5.1.4.2.	Examen del útero	52
5.1.4.3.	Examen ecográfico del aparato genital de la vaca (ovarios)	52
5.1.4.4.	Exploración del Cuerpo Lúteo	53
5.1.4.5.	<i>Diagnóstico de Quistes Folículos</i>	53
5.1.5.	<i>Diagnóstico de gestación</i>	53
5.1.6.	<i>Periodo de capacitación en el uso del ecógrafo</i>	53
5.1.7.	<i>Impacto económico en relación a los días abiertos</i>	54
CONCLUSIONES		55
RECOMENDACIONES		56
BIBLIOGRAFÍA		
ANEXOS		

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1-2. Comparación de parámetros reproductivos obtenidos con los idóneos.....	21
Tabla 1-3 : Operacionalización de variables	34
Tabla 2-3: Matriz de consistencia	35
Tabla 1-4: Evaluación del porcentaje de gestación utilizando diferentes técnicas de diagnóstico en vacas lecheras	37
Tabla 2- 4: Evaluación de la sensibilidad y especificidad del diagnóstico de gestación de vacas lecheras	39
Tabla 3-4: Evaluación de la Funcionalidad del Cuerpo lúteo de los bovinos lecheros con el uso de la técnica Doppler	42

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1-1: Fisiología de las hondas de crecimiento folicular	19
--	----

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1-4: Evaluación del diagnóstico de la gestación en vacas lecheras, utilizando la técnica Doppler y exploración transrectal	38
Gráfico 2-4: Evaluación de la presencia de irrigación sanguínea en vacas diagnosticadas con la técnica de ecografía doopler	45
Gráfico 3-4: Evaluación de los niveles de progesterona en la sangre en vacas diagnosticadas con la técnica de ecografía doopler	46

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo A: Estadísticas descriptivas de la variable niveles de progesterona en la leche

Anexo B: Evidencia fotográfica

RESUMEN

En la presente investigación se realizó un diagnóstico ultraprecoz de gestación en bovinos lecheros utilizando la técnica Doppler, para evaluar la eficacia de la técnica, a través del método de inseminación artificial, se analizaron un total de 30 vacas, y la metodología estaba centrada en el análisis de medias de tendencia central por cuanto se utilizó una estadística descriptiva para el análisis de las variables. Se establecieron valores de sensibilidad de (93,33%), especificidad (13,33%) fertilidad (93,33%) exactitud (92,4%) y fiabilidad (86,58%); asimismo, se determinó que 7 vacas que obtuvieron el mayor tamaño del cuerpo lúteo siendo 35mm, mientras que, la irrigación sanguínea del cuerpo lúteo a los 22 días post inseminación obtuvo un resultado de 100% en 22 vacas, finalmente se observa que 2 vacas alcanzaron los niveles más altos de progesterona en la leche con 25,84 y 21,993 ng/ml, Con lo que se demuestra por medio del presente estudio que la ecografía es de un método fácil y confiable que además por ser una técnica no invasiva, se ha venido usando generalmente para el estudio de los órganos reproductivos del ganado bovino entre otras especies. Su uso permite la visualización in vivo de órganos internos, además del seguimiento de la vida reproductiva de la vaca.

Palabras clave: <ZOOTECNIA> <DIAGNÓSTICO ULTRAPRECOZ>
<GESTACIÓN><BOVINOS LECHEROS < TÉCNICA DOOPLER < INSEMINACIÓN
ARTIFICIAL < VACAS < IRRIGACIÓN SANGUÍNEA < CUERPO LÚTEO <
PROGESTERONA < VIDA REPRODUCTIVA <FERTILIDAD >

LUIS
ALBERTO
CAMINOS
VARGAS

Firmado digitalmente
por LUIS ALBERTO
CAMINOS VARGAS
Nombre de
reconocimiento (DN):
c=EC, l=RIOBAMBA,
serialNumber=06027669
74, cn=LUIS ALBERTO
CAMINOS VARGAS
Fecha: 2021.12.07
10:38:53 -05'00'



0122-DBRAI-UPT-IPEC-2021

ABSTRACT

In the present investigation, an ultra-early pregnancy diagnosis was carried out in dairy cattle using the Doppler technique. To evaluate the effectiveness of the technique through the artificial insemination method, a total of 30 cows were analyzed. The methodology focused on the analysis of measures of central tendency; therefore, a descriptive statistic was employed for the analysis of the variables. Sensitivity values of (93.33%), specificity (13.33%), fertility (93.33%), accuracy (92.4%) and reliability (86.58%) were established; Likewise, it was determined that 7 cows that obtained the largest size of the corpus luteum being 35mm, while the blood supply of the corpus luteum at 22 days post insemination obtained a result of 100% in 22 cows. Finally, it is observed that 2 cows reached the highest levels of progesterone in milk with 25.84 and 21.993 ng / ml, with which it is demonstrated, by means of the present study, that an ultrasound is an easy and reliable method that, in addition to being a non-invasive technique, it has generally been used to study the reproductive organs of cattle and many other species. Its use allows in vivo visualization of internal organs, in addition to monitoring the reproductive life of the cow.

Key words: ZOOTECHNY, ULTRA EARLY DIAGNOSIS, GESTATION, DAIRY CATTLE, DOOPLER TECHNIQUE, ARTIFICIAL INSEMINATION, COWS, BLOOD IRRIGATION, CORPUS LUTEUM, PROGESTERONE, REPRODUCTIVE LIFE, FERTILITY.

CAPÍTULO I

1. INTRODUCCIÓN

La fertilidad del ganado Holstein ha disminuido constantemente en los últimos 30 años, una de las causas es la alta tecnificación de los hatos lecheros, mejoramiento genético, debido a que al incrementar los niveles de producción, se habría seleccionado vacas genéticamente menos fértiles. La aplicación de los equipos de ultrasonidos en la reproducción bovina tiene sus inicios a principios de los años 80 del siglo pasado, se conoce que la primera aplicación de esta técnica fue el diagnóstico precoz de gestación realizada por Tainturier en el año de 1983, y que fue posteriormente utilizada con otros fines como fue el control de las estructuras ováricas, el examen complementario del útero, sexaje fetal, etc., entre otros. Sin embargo, su desarrollo y perfeccionamiento para el estudio de los eventos reproductivos se ha acelerado en la presente década, (Galina, 2008 pág. 25).

Debido a las bondades que presente la ultrasonografía que es un método de diagnóstico por imagen que viene utilizándose desde hace años atrás la ventaja es que los equipos se han vuelto más manejables, pequeños y sobre todo más económicos y mas no solamente puede ser utilizada para el tema puesto que es considerada una técnica no invasiva, se ha conseguido mejores resultados en el campo de la reproducción animal en nuestro país (Hafez, 2000 pág. 25).

Para la detección de la gestación en vacas lecheras existe una variedad de técnicas, como es la exploración transrectal y la técnica doppler, este tipo de equipos se ha venido usando generalmente para el estudio de los órganos reproductivos del ganado bovino entre otras especies, con la finalidad de realizar el diagnóstico ultra precoz de gestación, puesto que desde el día 22 ya se puede determinar si la vaca está preñada o vacía, (Cuningham, 2005 pág. 25).

En resumen se ha demostrado que la técnica denominada ecografía transrectal Doppler se está aplicando en forma más generalizada en muchas ganaderías de nuestro país, puesto que se considera no invasiva y sobre todo 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 o la monta natural así como permite observar y cuantificar la circulación sanguínea en los tejidos y estructuras de los bovinos, y que está basada en los principios del efecto Doppler que tiene por objeto poner énfasis en el cambio de la frecuencia aparente de una onda producido por el movimiento relativo de la fuente respecto a su observador, (Siqueira, 2014 pág. 1)

1.1. Planteamiento del problema

El diagnóstico de gestación en una explotación bovina a nivel mundial es un gran refuerzo para la identificación de los problemas de infertilidad que se puede presentar en el ganado, sin embargo, es necesario considerar que no se ha encontrado ninguna influencia sobre la aparición de dichos inconvenientes, (Siqueira, 2014 pág. 1).

Con la identificación o detección de la preñez se consigue reconocer y marcar los días no productivos de la explotación de forma precoz para poder aplicar las acciones correctivas necesarias. Como ya hemos comentado, la identificación rápida y precisa de las vacas gestantes y no gestantes es un punto importante, dentro del manejo reproductivo, para mejorar la eficacia reproductiva de las explotaciones, (Cuningham, 2005 pág. 25).

El crecimiento demográfico en el planeta presenta el reto de una mayor demanda de productos pecuarios, lo que tiene como consecuencias enfrenarnos al reto sobre todo para la agricultura y ganadería abastecer a la población mundial. De acuerdo a estadísticas y perspectivas se espera que para el año 2050 la demanda mundial de productos pecuarios se incremente en relación directa con el crecimiento poblacional en un 70% para poder suministrar de alimento a una población cerca de 9,600 millones de personas, (Bellenda, 2002 pág. 21)

Por este motivo se considera que a nivel mundial es necesario tener mayores conocimientos sobre el correcto manejo reproductivo en las explotaciones ganaderas destinadas a la producción lechera, para proporcionar como resultado elevados réditos económicos que consigan mejorar la economía no solo de la explotación sino también de las personas que laboran y por ende sus familias. Para conseguir este fin el ganadero busca reconocer y apearse a los mejores parámetros reproductivos que se puede obtener en la evolución del hato, (Galina, 2008 pág. 20).

La meta del productor en una ganadería lechera es obtener un parto por vaca por año, con el objetivo de obtener rentabilidad, sin embargo, existen problemas de que la eficiencia reproductiva en las vacas lecheras en sistemas intensivos es bastante pobre. Sólo basta tener en cuenta que tasa de preñez fluctúa entre 12 a 16%, es decir, en cada ciclo estral únicamente se logra preñar entre 12 y 16 vacas de 100 elegibles para inseminarse Para corregir esto se debe llevar a cabo una serie de manejos y consideraciones en el hato ganadero con el fin de fortalecer una productividad constante que logre solucionar diversos problemas nutricionales de la población y al mismo tiempo genere mayores réditos económicos a la producción lechera, (Hernandez, 2016 pág. 21)

En la actualidad se pretende que el uso de la tecnología permita encontrar nuevos métodos que colaboren para lograr índices de producción deseados y con ello se consigue mejorar este tipo de actividades, debido principalmente a que la alimentación siempre se considerara prioritaria en todos los confines del planeta ya que sus productos siempre requerida el hombre para su sustento, (González, 2009 pág. 434).

Entre los métodos más usados esta la detección precoz utilizando herramientas como son el método por ecografía de ultrasonido para detección precoz de preñez en ganado lechero que se lo puede efectuar desde el día 26 post- servicio, pero es necesario recomendar que una mayor exactitud se consigue entre los 30 a 75 días de gestación, otra de las ventajas de esta prueba es que inclusive se puede reconocer el sexo del feto entre los días 55 al 75, muy necesario para conocer cómo será la proyección del número de animales que se deberá manejar (Bellenda, 2002 pág. 21).

La técnica Doppler actualmente está en auge en el ámbito de la reproducción bovina. con el objetivo de planificar el trabajo, o en caso de que el diagnóstico de gestación sea negativo, solucionar el problema Su uso se ha extendido a diversos campos como son la súper ovulación y la transferencia embrionaria. Se ha observado que el aumento de la velocidad del flujo sanguíneo de las arterias uterinas se encuentra directamente relacionado con el desarrollo folicular y formación de cuerpos lúteos tras una súper estimulación hormonal, (Jiménez, 2021 pág. 20).

El uso del ecógrafo cada vez es más demandado por los centros de investigación y producción genética, así como por los propios ganaderos. Es muy útil para determinar el estado de gestación precoz, el sexado de las crías y la evaluación de las enfermedades del sistema reproductor de las vacas. A su vez, se ha demostrado una relación entre el flujo sanguíneo uterino y los niveles de hormonas esteroideas, y el número de embriones obtenidos de cada animal, por lo que podría ser utilizado como predictor del éxito del programa de transferencia, (Tamayo, 2010 pág. 29).

1.2. Situación problemática

En los últimos años en nuestro país se ha observado una creciente producción por vaca y año, debido a las aplicaciones de tecnologías sobre todo en el área de la formulación de las raciones, en el manejo de la alimentación y sobre todo en la calidad genética de los rebaños. Sin embargo, se sucinto el problema que estos avances se han visto parcialmente eclipsados por un descenso en los parámetros reproductivos; por tal razón es difícil alcanzar la eficiencia en la producción ganadera, para ello se deben evaluar los diferentes problemas que se encuentran presentes durante los procesos de producción y reproducción de la explotación, (Bellenda, 2002 pág. 52).

Este tipo de problemas solo puede ser detectado para encontrar posibles soluciones a través de un análisis de los datos que deben llevarse en cada uno de los registros, razón por lo cual, el estudio de cada uno de los parámetros productivos y reproductivos, sirven para hacer las correcciones necesarias en el manejo de los animales con el propósito de obtener mejores niveles en la producción y reproducción para que la explotación tenga una excelentes resultados y dentro de estos conocimientos estarán incluidas técnicas de detección precoz de gestación utilizando la exploración de ecografía doppler del cuerpo lúteo y presencia progesterona (Tamayo, 2010 pág. 29)..

Uno de los métodos más comunes que todavía se usan en nuestro país para la detección de preñez es la palpación rectal porque se le considera más rápido, efectivo y de bajo costo. Ésta práctica puede ser realizada desde los 45 días post-servicio, con su aplicación se consigue detectar si la vaca se encuentra vacía o preñada e inclusive; pero, tomando en cuenta la práctica de la persona que lo ejecuta se puede saber la edad de la gestación (Bellenda, 2002 pág. 52)..

Por lo tanto, se considera que la exactitud de la prueba dependerá de la experiencia del examinador. La mayor ventaja de este método es que se puede reconocer las pérdidas de embriones y fetos ocurridas durante la preñez (Siqueira, 2014 pág. 35)

A inicios de los 70, el diagnóstico utilizando aparatos como son el ultrasonido se logró poner a disposición de la comunidad médica veterinaria este tipo de tecnologías. Con respecto a este tema es necesario considerar que el desarrollo logrado a finales de esa década permitió el uso de equipos de tiempo real o imágenes dinámicas, lo que convirtió a la herramienta de la ultrasonografía una poderosa tecnología adaptable al estudio del tracto reproductivo de animales domésticos mayores a través del recto (Bellenda, 2002 pág. 52).

Cuando se estudia la reproducción bovina, es necesario considerar la técnica doppler que sirve para determinar el caudal sanguíneo de los vasos de los órganos reproductores a lo largo de distintos momentos biológicos ya sean estos el ciclo estral, gestación o periodo posparto, en las vacas obteniendo de manera indirecta información sobre el estado funcional del tejido. Por ello, proporciona información de los procesos fisiológicos y patológicos que suceden en el ovario y útero de la vaca. La vascularización del cuerpo lúteo indica el nivel de actividad de esta estructura ovárica y, por lo tanto, su capacidad de secreción de progesterona, lo que permite evaluar su calidad durante la gestación (Siqueira, 2014 pág. 35).

En nuestra provincia este tipo de tecnología es pionera en su área y los resultados alcanzados lograran cambiar significativamente los grandes enigmas que la reproducción bovina encierran puesto que el manejo reproductivo muchas veces se encuentra limitado por los recursos que

tiene las explotaciones bovinas que les permitan contratar a personal capacitado y con ello la aplicación de nuevas herramientas para la detección precoz del embarazo que al no ser realizado correctamente se puede caer en múltiples problemas que desencadenarían a veces en la muerte del producto, (Waberski, 2007 pág. 29)

En resumen, con la aplicación tanto de la ecografía transrectal Doppler del cuerpo lúteo y presencia progesterona en leche, se estará beneficiando al manejo reproductivo del hato para conseguir solucionar problemas, como abortos, así como se consiguiera cumplir la meta, como es obtener un ternero sano por año, y como anexo sería la reducción de los días abiertos para que la vaca pueda entrar en mejores condiciones a una nueva gestación, (Galina, 2008 pág. 25).

Por lo tanto es necesario difundir los resultados alcanzados en el presente estudio para que los ganaderos puedan implementar en sus hatos la detección precoz de gestación, permitiendo concientizar; que los costos, de su implementación son compensados con los beneficios que se presentan al conseguir una gestación más cuidada, (Idrovo, 2016 pág. 65).

1.3. Formulación del problema

¿Al realizar el diagnóstico ultra-precoz de gestación en bovinos lecheros utilizando la técnica doppler al cuerpo lúteo se conseguirá una mayor eficiencia en la vida reproductiva del hato?

1.4. Preguntas directrices

- ¿La evaluación de la irrigación del cuerpo lúteo de los bovinos lecheros se podrá determinar utilizando la técnica Doppler, que se realizará a los 22 días post inseminación
- ¿La determinación de la progesterona en la sangre post inseminación nos servirá para validar la eficiencia de la técnica Doppler en la afirmación o descarte de preñez?
- ¿Existirá impacto económico por la presencia de días abiertos en bovinos lecheros además se conseguirá la reducción de costos con el uso de la técnica Doppler para hacer una detección precoz de la gestación?

1.5. Justificación de la investigación

1.5.1. Justificación teórica

En el manejo de una explotación ganadera existen varios parámetros que pueden utilizarse para controlar los progresos, con el fin de maximizar la eficiencia reproductiva de las vacas cumpliendo las premisas de una detección precoz de la gestación y así reducir los días abiertos para conseguir una cría saludable por año, y en general conseguir la mejora en el índice general del estado reproductivo de la explotación, que son los parámetros más utilizados para controlar el desarrollo reproductivo (Idrovo, 2016 pág. 65).

Los distintos métodos para determinar en forma precoz la gestación en vacas tienen que tener su sustento no solo teórico sino también práctico, ya que como es de conocimiento general muchas técnicas, no han tenido los resultados esperados por lo tanto ha surgido la gran necesidad de conocer los resultados de la investigación para conocer en forma más rápida y eficiente la gestación y de esta manera disminuir los días abiertos y generar una cría por año, para mantener más coordinado el desarrollo en la explotación ganadera, (Suárez, 2015 pág. 54).

La técnica de ecografía doppler es un tema muy polémico sobre todo en el ámbito económico puesto que hasta hace algunos años no se disponía de cifras claras de la eficiencia versus la inversión, sin embargo es necesario acotar que las utilidades en la reproducción bovina son innumerables, y que sus costos se han ido reduciendo hasta el punto de convertirse en una inversión cuyo costo se ha vuelto más accesible sobre todo para aquellas explotaciones en las que el número de vacas es significativo, (Waberski, 2007 pág. 29)

1.5.2. Justificación metodológica

El reconocimiento en una vaca del estado de preñez se da en el momento en que el embrión entra en contacto con el endometrio uterino, permitiendo así el intercambio de nutrientes y comunicación endocrina. El embrión debe producir proteínas, hormonas esteroides o ambas para indicar su presencia en el organismo materno. Cuando una vaca presenta repetición de servicio está indicando que hay problemas en su fertilidad y está ligado a múltiples factores internos y externos que impiden su preñez. La hormona liberadora de hormona luteinizante (GnRH), es marcadamente luteotrófica, producida por la glándula hipófisis ayuda a alargar la vida del cuerpo lúteo unas 48 horas, de esta manera se puede incrementar el margen para la

sincronización entre las señales del embrión y el reconocimiento materno previniendo así la regresión prematura del cuerpo lúteo (Tamayo, 2010 pág. 29).

El método de ultrasonido o ecosonografía es muy útil puesto que los equipos han mejorado mucho la imagen y las personas puedan entender mejor los resultados, se lo puede utilizar no solo en medicina interna sino también en la parte de reproducción, para evaluar la actividad folicular y saber en el momento en que podemos utilizar hormonas para la sincronización de estos y disminuir los días abiertos, en que los animales están vacíos (Waberski, 2007 pág. 29).

Además, permite hacer una detección temprana de la gestación puesto que cuando se utiliza la palpación se la realiza a partir del mes y medio y dos meses de acuerdo a la experiencia de la persona que está realizando el trabajo, (Pitti, 2012 pág. 41).

1.5.3. Justificación práctica

La detección temprana de preñez es muy importante dentro del manejo reproductivo de un hato lechero, puesto que sirve para preñar el ganado en un menor periodo de tiempo, logrando consolidar la meta del productor en una ganadería lechera la cual se basará en la obtención de un parto por vaca por año, con el objetivo de elevar la rentabilidad. Para alcanzar esto se debe llevar a cabo una serie de manejos y consideraciones en el hato ganadero con el fin de consolidar una productividad constante (Waberski, 2007 pág. 29).

Hasta hace unos años esta técnica no se podría desarrollar en condiciones de campo, únicamente de laboratorio ya que los equipos que eran de gran tamaño y por ende también eran costos eran imposibles de adquirir y mucho menos de manejarse. En la actualidad existe ecógrafos portátiles doppler que hace posible su utilización tanto a nivel de laboratorio como de campo aunque el problema surge en el momento de adquirir s éstos aparatos, (Pitti, 2012 pág. 41).

La detección de preñez en las vacas sería recomendable realizarse tempranamente para determinar las vacas que requerirán nuevas cubriciones y así acortar los días abiertos para lo cual se puede utilizar tanto pruebas de progesterona en la sangre como en la leche y la utilización de equipos como son los ecógrafos que tenían un costo elevado, pero en la actualidad se han reducido significativamente, (Palma, 2001 pág. 41).

Los ecógrafos aún tienen un costo muy elevado muchas veces porque son importados por lo que suponen una inversión considerable y hasta el momento los márgenes de beneficio que se obtienen son reducidos, a todo esto, se suma el tiempo de aprendizaje debido a que debe ser el

personal capacitado quien los opere y de cambio de paradigmas condición de la elección a la hora de comprar estos equipos, (Vélez, 2002 pág. 51).

En los últimos años se han publicado algunos artículos relacionados con la utilidad de la ecografía Doppler en la reproducción de ganado vacuno lechero, así como también para la determinación de algunas anomalías reproductivas. En el ámbito de la investigación esta herramienta ha permitido analizar el flujo sanguíneo es decir los niveles de folículo estimulante durante el crecimiento folicular la población y el desarrollo y regresión del cuerpo lúteo por lo que es útil para el diagnóstico diferencial entre quiste folicular y quiste luteal para reducir la mortalidad en plenaria la respuesta son obligatorias y la selección de receptores, (Palma, 2001 pág. 41).

Para conseguir este objetivo se deberá disponer de personal capacitado para obtener un diagnóstico de gestación preciso y confiable. Se pueden utilizar diferentes maneras para detectar gestación en una vaca como: no retorno a celo, palpación rectal, mediante ecografía de ultrasonido y midiendo los niveles de progesterona, (Vélez, 2002 pág. 51).

1.6. Objetivos de la investigación

1.6.1. Objetivo General

Realizar el Diagnóstico ultraprecoz de gestación en bovinos lecheros con la técnica doppler

1.6.2. Objetivos específicos

- Evaluar la funcionalidad del Cuerpo lúteo de los bovinos lecheros con el uso de la técnica Doppler.
- Determinar la irrigación sanguínea del cuerpo lúteo mediante la técnica doppler a los 22 días post inseminación.
- Establecer una correlación entre los niveles de progesterona en la sangre y la irrigación sanguínea del cuerpo lúteo con la técnica doppler.
- Establecer el impacto económico relacionado con el ahorro que tiene el ganadero al reducir los días abiertos por medio de la detección ultra-precoc de la gestación, mediante la técnica doppler

CAPÍTULO II

2. MARCO TEÓRICO REFERENCIAL

2.1. Antecedentes del problema

Diagnóstico ultraprecoz de gestación en el ganado vacuno mediante la exploración ecográfica del cuerpo lúteo y determinación del sexo del feto mediante valoración de los niveles plasmáticos de testosterona:

Autor: Judith Tejero Martínez

En el presente trabajo de investigación se estudia la evolución de las características ecográficas de las estructuras ováricas, con especial referencia a los cuerpos lúteos de vacas cíclicas y vacas en los primeros 21 días de gestación, siguiendo y comparando su evolución estructural y ecogénica, (Tejero, 2021).

Así mismo, se realiza una valoración de la eficacia del método de la ultrasonografía del CL como técnica de diagnóstico precoz de gestación. Para el seguimiento de la evolución del CL a lo largo del ciclo estral, y compararlo con la evolución que tiene lugar durante los primeros 21 días de gestación, utilizamos 76 vacas de raza frisona pertenecientes a dos explotaciones intensivas de ganado vacuno, situadas en Toral de los Guzmanes, (Guadamud, 2017 pág. 20)

De estas 76 vacas inseminadas, 33 quedaron preñadas y 43 vacías. Las exploraciones ecográficas se realizaron cada 48 horas y los parámetros estudiados han sido: el diámetro menor y mayor del CL, el área y el volumen luteal, (Tejero, 2021).

Los resultados obtenidos ponen de manifiesto que en los diferentes parámetros estudiados, aparecen diferencias estadísticamente significativas entre los cuerpos lúteos de vacas gestantes y no gestantes en determinados días. Realizado los análisis estadísticos (t-test prueba no pareada) encontramos estas diferencias en el día trece, el día dieciséis y el día veintiuno tras la inseminación. El tercer y último objetivo de esta tesis doctoral es establecer una posible predicción del sexo fetal, por determinación de la testosterona plasmática en vacas preñadas de 90-100 días de gestación. Para el seguimiento de la evolución del CL a lo largo del ciclo estral, y compararlo con la evolución que tiene lugar durante los primeros 21 días de gestación, utilizamos 76 vacas de raza frisona pertenecientes a dos explotaciones intensivas de ganado

vacuno, situadas en Toral de los Guzmanes. De estas 76 vacas inseminadas, 33 quedaron preñadas y 43 vacías. Las exploraciones ecográficas se realizaron cada 48 horas y los parámetros estudiados han sido: el diámetro menor y mayor del CL, el área y el volumen luteal. Los resultados obtenidos ponen de manifiesto que, en los diferentes parámetros estudiados, aparecen diferencias estadísticamente significativas entre los cuerpos lúteos de vacas gestantes y no gestantes en determinados días. Realizado los análisis estadísticos (t-test prueba no pareada) encontramos estas diferencias en el día trece, el día dieciséis y el día veintiuno tras la inseminación. El día trece post-IA, comparando las medias obtenidas en los dos grupos experimentales (animales no gestantes y gestantes), aparecen diferencias significativas, (Tejero, 2021).

Finalmente, calculamos todas las probabilidades de macho en relación con las concentraciones de testosterona. Aquí, pudimos ver que la mayoría del universo de resultados está entre 5 y 35 ng/dl, siendo por encima y por debajo donde el método se hace más eficaz para determinar el sexo del feto, masculino o femenino respectivamente, aunque lamentablemente en esos extremos existen muy pocos casos. Es decir, este método de predicción del sexo fetal entre los 90 y 100 días de gestación sólo es eficaz a bajas concentraciones de testosterona (inferior a 5 ng/dl) para las terneras y por encima de 35 ng/dl para los terneros, (Tejero, 2021).

Las glicoproteínas asociadas a la gestación detectadas mediante la técnica de elisa es un método confiable y seguro en el diagnóstico temprano de la preñez en vacas Holstein

Autor: Marco Antonio Rodríguez Herrera

El objetivo del presente estudio fue determinar la especificidad y la sensibilidad de las glicoproteínas asociadas a la gestación (PAG's) en suero sanguíneo en vacas Holstein a los días 28, 29 y 30 post-inseminación artificial, utilizando la técnica de ELISA. La sensibilidad de la prueba fue del 97%, la especificidad fue de 82%. El valor predictivo positivo fue de 86% y el valor predictivo negativo fue de 96%. La exactitud de la prueba fue del 90%. La razón de verosimilitud positiva, indicó que una vaca preñada diagnosticada mediante las pruebas de Elisa es 5.5 veces más probable que el resultado sea como preñada que como no preñada. La razón de verosimilitud negativa arrojó un valor de 3.2% el cual indica probabilidad de que un resultado de una vaca preñada sea diagnosticada como no preñada. Se concluye que las glicoproteínas asociadas a la gestación detectadas mediante la técnica de Elisa son un método confiable en el diagnóstico temprano de la preñez en vacas Holstein, (Rodríguez, 2017).

LA ULTRASONOGRAFÍA EN BOVINOS

Autor: Gutiérrez-Lizarazo Diana y Báez-Sandoval Giovanni.

La ultrasonografía transrectal se ha convertido en una útil herramienta en la reproducción animal desde su implementación en la década de 1980. Su uso abarca desde el campo clínico hasta estudios fisiológicos, pasando por numerosas aplicaciones prácticas de diagnóstico en finca. Objetivo: Hacer una revisión de los principios básicos de la ultrasonografía y con base en resultados de investigación, señalar la importancia de su potencial uso dentro del contexto productivo de la empresa ganadera, (Gutiérrez, 2021) .

Métodos: Se describen conceptos anatómicos y fisiológicos del tracto reproductivo de la hembra bovina así como también sobre el uso de la ecografía en el seguimiento de la dinámica ovárica a través de mediciones del diámetro folicular y volumen del cuerpo lúteo durante el ciclo estral, relacionando estas variables con la obtención exitosa de una preñez diagnosticada igualmente por medio de ultrasonido, (Gutiérrez, 2021) ..

Resultados: Se presentan algunos referentes de investigación, así como resultados propios, que mostraron una relación positiva entre el diámetro del folículo ovulatorio, el volumen del cuerpo lúteo generado luego de la ovulación, y el diagnóstico positivo de preñez. Conclusión: Nuestros datos, y la literatura relacionada, demuestran que la ultrasonografía es una herramienta útil para la evaluación, diagnóstico y toma de decisiones respecto a los eventos reproductivos de la hembra bovina, con potencial para ser usada en conjunto con la aplicación de biotecnologías reproductivas como la inseminación artificial y transferencia de embriones con el fin de optimizar su eficiencia (Gutiérrez, 2021).

El objetivo fue determinar el efecto de la Somatotropina Recombinante Bovina sobre la morfometría ovárica, el porcentaje de concepción y la tasa de mortalidad embrionaria en vacas Holstein de alta producción sincronizadas con dispositivos intravaginales a base de Progesterona (P4) y Benzoato de Estradiol (BE) e inseminadas artificialmente a tiempo fijo. El estudio se realizó entre Febrero-Agosto del 2012 en la hacienda Chullin, ubicada en el cantón Chambo Chimborazo; se utilizaron 50 vacas Holstein de alta producción, divididas en dos grupos: un grupo con rBST y grupo testigo. Las características de los animales fueron: edad entre 5 – 7 años, de 3 – 5 partos, condición corporal 2,75 -3,75 en la escala de 1-5, promedio de producción de 20 litros/día, lactancia >80 y < 120 días. Los fármacos utilizados: Implante de Progesterona de 1.9mg, Benzoato de Estradiol 5mg/ml, 200ug D- Cloprostenol sódico, 500mg de rBST. Se realizó el seguimiento ecográfico de los animales el día 0, 5 y 10 post aplicación de

los tratamientos para valorar el tamaño del ovario y las estructuras. A los 30 y 45 días post inseminación se realizó el diagnóstico de preñez; para verificar el porcentaje de gestación de los animales y para valorar el porcentaje de muerte embrionaria temprana. La aplicación de la rBST el día 0 del protocolo, no existe efectos significativos en la morfometría ovárica. Sin embargo, aumenta el ancho del ovario y mejora el tamaño de los folículos, no mejora el porcentaje de gestación a los 30 días tampoco disminuye la reabsorción embrionaria (Gutiérrez, 2021) .

2.2. Bases teóricas

2.2.1. Gestación en bovinos

La gestación es el período de desarrollo del ternero en crecimiento dentro del vientre de la vaca y las adaptaciones de ella encaminadas para tal fin. La duración promedio es de 285 días (9 meses). Los factores que intervienen en la duración de la gestación son: edad de la madre, factores fetales como el sexo y factores genéticos, entre otros, (Rosner, 2016 pág. 2)

La mayoría de los mamíferos son vivíparos, por lo que el desarrollo embrionario y fetal se lleva a cabo en el útero. Este período de desarrollo uterino se denomina gestación y en él, tienen lugar los diferentes cambios de adaptación del tracto reproductivo de la madre para el correspondiente mantenimiento nutricional y crecimiento del feto, así como la sincronización de los distintos mecanismos necesarios para que el feto llegue en buenas condiciones al parto, (Gil, 2008 pág. 34).

La gestación está regulada por factores maternos como la edad, siendo su duración menor en animales jóvenes; el tamaño de la madre influye debido a la mayor producción de lactógeno placentario. El crecimiento es menor al comienzo de la gestación, siendo mayor al final de la misma. Las pequeñas variaciones de la duración de la gestación entre razas se deben a efectos genéticos, siendo mayor el crecimiento en *Bos Taurus* que en razas cebuínas, (Rangel, 2009 pág. 37)

Una vez que se produce la unión gamética y se consigue la fusión de los pronúcleos masculino y femenino que se llama Singamia, se produce la siguiente etapa es decir la formación de una célula que se denomina cigoto y que contiene la información necesaria para el desarrollo embrionario, así como las sustancias nutritivas en el citoplasma para mantener al embrión y se llama vitelo, que contiene elementos nutritivos tales como lípidos o gránulos de carbohidratos y es aportado en su mayoría por el óvulo, (Cuningham, 2005 pág. 21) .

El periodo comprendido entre la singamia y el nacimiento de nuevo individuo se denomina gestación, que dura 180 días 9 meses, el rango más específico comprende entre 276 y 283 días de gestación. El rango más específico comprende entre 276 y 283 días de gestación. Durante este tiempo se efectúa el crecimiento y nutrición del feto, así como las adaptaciones maternas para mantener al producto de la fecundación en estado normal, y que se llegue a la culminación de estas etapas como es el parto, (Hafez, 2000 pág. 36).

2.2.2. Reconocimiento de la gestación en vacas

Para el reconocimiento de la gestación de las vacas en una explotación ganadera es necesario considerar que existen procesos que prolongan la vida media del cuerpo lúteo (CL) cíclico, el momento de la identificación de la gestación se presenta después que el blastocito que engloba a las distintas fases de multiplicación antes de la aparición de los primeros esbozos orgánicos. Se divide en segmentación y gastrulación llega al útero y se fija para su implantación posterior. Si no hay blastocito en el día 12 en la vaca, el cuerpo lúteo comienza a lisarse por efecto de la prostaglandina $PGF2\alpha$, (Espinoza, 2015 pág. 35).

En este proceso fisiológico el embrión envía señales moleculares como la secreción de interferón tau (IFN-t), las cuales anuncian su presencia en el tracto reproductivo de la vaca, con el fin de evitar que se desencadene el mecanismo de luteolisis ejercido por la $PGF2\alpha$ sobre el cuerpo lúteo, prolongando la vida de éste y garantizando la producción de P4, (Ostrowski, 2007 pág. 39).

Con el proceso de luteinización se inhibe la aromatización de $PGF2\alpha$ y se comienza a producir P4 desde niveles no detectables, hasta el día 2 postestro donde se registran niveles séricos mayores de 1ng/ml, para en el día 5 postestro llegar a niveles mayores de 5 ng/ml, considerándose como funcional el CL. Si el embrión logra ser reconocido por la madre, la producción de P4 se mantiene y favorece la producción de IFN-t, molécula importante en el reconocimiento de la gestación, caso contrario entra en regresión mediante luteolisis, (Hernandez, 2016 pág. 57).

La P4 producida durante los primeros 10 días postestro inhibe el mecanismo luteolítico, debido a la comulación existente entre el Receptor Alfa de Estrógenos - $RE2\alpha$ - y el Receptor P4-RP- en el núcleo de las células endometriales. La unión de la P4 a su receptor, inhibe a $RE2\alpha$ impidiendo que la unión de E2 a su receptor sirva como factor de Transcripción para la Síntesis de Receptores de Oxitocina -OTR-, necesario en el mecanismo de producción de $PGF2\alpha$. Una

exposición continua de prostaglandina P4 sobre el endometrio de la vaca induce una saturación de los receptores RP entre los días 11-12 postestro deprimiendo su función, (Palma, 2001 pág. 34) . La expresión de OTR en la célula endometrial es el paso previo para que tenga lugar el mecanismo luteolítico. Los estrógenos provenientes de los folículos en crecimiento actúan sobre el RE2 α , actuando como transcriptor para OTR que se instala en la membrana citoplasmática basal en espera del estímulo de la oxitocina, (Galina, 2008 pág. 57).

La Oxitocina hipotalámica y luteal es liberada al torrente sanguíneo y llega al útero acoplándose al OTR en la célula endometrial, activando la fosfolipasa A2 cuya función es degradar el ácido araquidónico de los fosfolípidos de membrana produciéndose la PGF2 α . La PGF2 α llega al CL por contracorriente entre la vena uterina media y la arteria ovárica, produciendo la pérdida de la función y la apoptosis de las células luteales, (Gil, 2008 pág. 46).

La producción de PGF2 α en forma pulsátil comienza a ser importantes desde el día 12 del estro, cuando existen receptores luteales de membrana y sobre las cuales ejerce su función. La luteolisis permite la continuidad de la ciclicidad ovárica del animal, ya que sin la presencia de P4 se retira el bloqueo a nivel hipotalámico y el pico preovulatorio de LH puede darse de nuevo (Galina, 2008 pág. 21).

En el caso de haber fecundación en el día 9 del desarrollo embrionario se presenta la eclosión del embrión y la nidación, caracterizada por la fusión de las membranas trofoblásticas con las membranas de las células endometriales, así como la elongación del mismo durante los días 10 a 13 postestro, (González, 2009 pág. 68)

Durante éste período se induce la secreción de una proteína el interferon Tau –IFN-t por parte de las células mononucleares del trofotodermo al interior del útero entre los días 10-12, con una producción máxima entre los días 14-16. En los días de mayor producción de IFN-t el embrión se encuentra en la fase de pre contacto, caracterizada por la diferenciación de las células del trofotodermo en columnares y sincitiales, en esta etapa no hay contacto entre el embrión y la madre en espera de que el IFN-t realice su función antiluteolítica. Este Interferon se ha denominado igualmente Proteína Trofoblástica Tipo 1 (TP-1 – Trofoblastina), (Ostrowski, 2007 pág. 76).

La producción de Trofoblastina por parte del blastocito sería el factor inhibidor de la secreción de PGF2 α . y por lo tanto asegura el mantenimiento del cuerpo lúteo y la producción de P4, estimulada por la acción de la luteinizante (LH), e indispensable para el mantenimiento de la

gestación. La inhibición de la $PGF2\alpha$ se lleva a cabo en la síntesis de receptores para la oxitocina OTR. Las células endometriales poseen un receptor de membrana para los interferones tipo 1. El IFN-t se acopla a este receptor para inducir una señal intracelular que genera la producción de proteínas como el Factor Regulador de Interferón 1 y 2. El Factor Regulador de Interferón FRI-2 actúa como inhibidor del receptor de estrógenos $RE2\alpha$ en la célula endometrial, evitando la unión hormona-receptor necesaria para la síntesis de OTR, por lo que no habrá receptor que reciba el estímulo para la producción de $PGF2\alpha$, (Quintela, 2012 pág. 21).

Mediante este mecanismo de señalización por IFN-t se mantiene la producción de P4 por el cuerpo lúteo, mientras el embrión continúa su desarrollo y adosamiento en los días 18 a 19 de la etapa de postestro. El embrión se inmoviliza en el útero de la vaca por medio de las interdigitaciones de las células diferenciadas del trofotodermo extraembrionario con las microvellosidades del epitelio endometrial, (Galina, 2008 pág. 46)

El entender los mecanismos involucrados en el reconocimiento materno embrionario en los bovinos, permite comprender desde la fisiología, fenómenos que comprometen la eficiencia reproductiva del ganado, como las reabsorciones embrionarias tempranas. Igualmente permite identificar funciones dentro de la biología molecular que son importantes para la planeación de estrategias de manejo hormonal, control del ciclo estral o la continuidad del proceso de gestación en la fertilización in vitro, (Palma, 2001 pág. 57)

El conocimiento de los factores que intervienen en el reconocimiento de la gestación desde el punto de vista fisiológico facilita la comprensión del proceso reproductivo y su incidencia en fenómenos como la muerte embrionaria temprana o la vaca repetidora. Paralelamente facilita la adopción de mecanismos que permitan un control adecuado del ciclo estral, técnicas de manejo hormonal en procesos de inseminación artificial a tiempo fijo, (Ostrowski, 2007 pág. 58)

2.2.3. *La progesterona*

La progesterona es producida por un cuerpo lúteo activo, el cuerpo lúteo puede estar en crecimiento después del celo/estro (metaestro), aunque la vaca esté o no gestante. Puede estar en declinación antes del estro (proestro), La progesterona (P4) es una hormona esteroide secretada por el cuerpo lúteo (CL) y por la placenta que tiene papel fundamental en los eventos reproductivos y establecimiento, y mantenimiento de la gestación. La Progesterona, es producida en el cuerpo lúteo por acción de la LH y responsable de la preparación del útero para

permitir la implantación del embrión y de mantener la gestación, que provoca un efecto de retroalimentación negativa sobre el hipotálamo, (Rosner, 2016 pág. 34)

La vaca es una especie poliéstrica continua en la cual la regulación de la ciclicidad sexual se lleva a cabo bajo el control del eje hipotálamo-hipófisis-ovario, el cual a su vez está influenciado por áreas extra-hipotalámicas (corteza cerebral, tálamo, zona medial del cerebro) que se ven afectadas por estímulos como luz, olfato y tacto. También cabe mencionar la influencia del útero sobre el ovario. El nivel sanguíneo de progesterona (P4) es importante porque permite orientar programas de manejo reproductivo, disminuyendo los costos de producción al incrementar la eficiencia, (Rosner, 2016 pág. 12).

Durante la fase del pro-estro hay un crecimiento folicular, relacionado en forma directa con la hormona folículo estimulante o FSH, que presenta un primer pico asociado con la descarga de hormona luteinizante (LH), que es pre-ovulatoria y un segundo pico que ocurre 24 horas después. Uno o ambos picos estimulan la primera onda folicular que ocurre luego de la ovulación. Como consecuencia del aumento de la FSH, hay elevación de los estrógenos los cuales actúan sobre el tracto genital e inducen el comportamiento sexual propio del estro, (Hernandez, 2016 pág. 48)

El hipotálamo y la adenohipófisis responden a los aumentos sostenidos de la secreción de estrógenos estimulando por retroalimentación positiva la secreción de gonadotropinas las cuales inducen cambios dentro del folículo que dan lugar a su ruptura. Después de la ovulación se produce la formación del cuerpo lúteo (CL) cuya principal función es secretar progesterona, hormona esencial para el desarrollo del útero y necesaria para la implantación y mantenimiento de la preñez, (Hafez, 2000 pág. 23)

El cuerpo lúteo se forma debido a la ruptura del folículo, existiendo un desdoblamiento de los tejidos que rodean la granulosa. Los pliegues de tejido que se protruyen hacia dentro de la cavidad contienen células de la granulosa y teca además del sistema vascular sanguíneo que debe respaldar el crecimiento y diferenciación celular. A pesar de que las células dominantes son las granulosas, las de la teca también contribuyen significativamente en la composición de la estructura (Cuningham, 2005 pág. 45).

El proceso que las células de la granulosa sufren durante los cambios de secreción de estrógenos a progesterona (luteinización) se inicia al comenzar la secreción pre-ovulatoria de LH y se acelera con la ovulación, (Galina, 2008 pág. 34).

En el hipotálamo se produce la Hormona Liberadora de Gonadotropinas o (GnRH), que se difunde a través de los capilares al sistema hipofisiario y de allí a las células de la hipófisis anterior o adenohipófisis, en donde su función es estimular la producción y secreción de las hormonas hipofisiarias: Hormona Folículo Estimulante (FSH) y Hormona Luteinizante (LH). La FSH es la encargada del proceso de esteroideogénesis ovárica y crecimiento y maduración folicular, y la LH interviene en el proceso de ovulación y formación y mantenimiento del cuerpo lúteo, la oxitocina, que también es producida en el hipotálamo, es almacenada en la adenohipofisis e intervendrá en los procesos de parto, bajada de la leche, transporte de espermatozoides en el útero, así como en el proceso de luteolisis o ruptura del cuerpo lúteo en el ovario, (Rosner, 2016 pág. 58)

2.2.4. *Ciclo estral*

Una vez una hembra ha alcanzado la pubertad ocurren muchas variaciones en su aparato reproductor como respuesta a distintos niveles de hormonas. En una hembra no gestante estos cambios ocurren cada 17 a 24 días. Esta periodicidad se llama Ciclo Estral. El ciclo estral está regulado por la interacción de varios órganos; entre ellos el eje hipotálamo-hipófisis, el ovario y el útero (Galina, 2008 pág. 54).

El ciclo estral está conformado por cuatro fases continuas: proestro, estro, metaestro y diestro, durante las cuales sucede una serie de cambios en las estructuras ováricas y concentraciones de hormonas que interactúan para que la vaca pueda ciclar. En el hipotálamo se produce la Hormona Liberadora de Gonadotropinas o (GnRH), que se difunde a través de los capilares al sistema hipofisiario y de allí a las células de la hipófisis anterior o adenohipófisis, en donde su función es estimular la producción y secreción de las hormonas hipofisiarias: Hormona Folículo Estimulante (FSH) y Hormona Luteinizante (LH). La FSH es la encargada del proceso de esteroideogénesis ovárica y crecimiento y maduración folicular, y la LH interviene en el proceso de ovulación y formación y mantenimiento del cuerpo lúteo. (Waberski, 2007 pág. 48).

La Oxitocina, que también es producida en el hipotálamo, es almacenada en la adenohipofisis e intervendrá en los procesos de parto, bajada de la leche, transporte de espermatozoides en el útero, así como en el proceso de luteolisis o ruptura del cuerpo lúteo en el ovario. Entre las hormonas que producen los ovarios podemos citar: los Estrógenos, que tienen un efecto de retroalimentación positiva sobre el hipotálamo produciendo la liberación de GnRH; (Galina, 2008 pág. 76)

La progesterona, producida en el cuerpo lúteo por acción de la LH y responsable de la preparación del útero para permitir la implantación del embrión y de mantener la gestación, que

provoca un efecto de retroalimentación negativa sobre el hipotálamo; y la Inhibina generada en el folículo y que interviene en el mecanismo de regulación de la secreción de FSH y tiene un efecto de retroalimentación negativa sobre la hipófisis anterior originando una menor secreción de FSH. El útero produce Prostaglandina F₂ (PGF₂), la cual interviene en la regulación del ciclo estral mediante su efecto de luteolisis o regresión del cuerpo lúteo, (Tamayo, 2010 pág. 58)

2.2.5. *Funcionamiento del Ciclo Estral*

Al valorar el aparato reproductor de una vaca en celo en el día cero, se aprecia que uno de los ovarios tendrá un folículo grande, tal vez de un diámetro de 15 a 20 mm, este folículo contiene un óvulo maduro, listo que está listo para ovular. Las células dentro del folículo están produciendo estrógenos. Los signos de celo o celo ocurren gracias a la presencia de estos estrógenos provenientes del folículo. La duración de celo es muy variable, pero se considera que 16 ± 4 horas es el tiempo promedio, (Espinoza, 2015 pág. 34).

Los estrógenos son producidos por las células que forman la pared del folículo en desarrollo, los se incrementan, además, las contracciones del tracto reproductivo facilitando el transporte del espermatozoides y del óvulo; y afectan también a centros endocrinos en el hipotálamo que controlan la liberación de GnRH del hipotálamo y ésta, a su vez, la liberación de FSH y LH de la adenohipófisis. El incremento de LH se inicia después de que se hayan iniciado los signos de celo e inicia el proceso de ovulación, (Vélez, 2002 pág. 43).

En el día 1 el folículo se rompe u ovula, (la ovulación tiene lugar unas 28-32 horas después de haberse iniciado el celo, o a las 10-15 horas de haber cesado los signos de celo en respuesta al pico preovulatorio de LH), permitiendo la salida del óvulo al infundíbulo que lo es para. Después de la ovulación, las células foliculares se transformarán en células luteales. Durante los próximos cinco o seis días, estas células crecen rápidamente para formar el cuerpo lúteo, que produce Progesterona, cuya función es preparar al útero para la gestación e inhibir la liberación de gonadotropinas (Espinoza, 2015 pág. 34).

Los días 16 a 18 del ciclo estral toman el nombre de periodo de reconocimiento materno, durante este periodo, el útero busca la presencia de un embrión en crecimiento. Si no se detecta un embrión, el útero inicia la producción de prostaglandina. Esta hormona destruye el cuerpo lúteo. Cuando se destruye el cuerpo lúteo cesa la producción de progesterona y desaparece el efecto de retroalimentación negativa que ejercía a nivel hipotalámico, por lo que comenzará a aumentar la frecuencia pulsátil de las hormonas FSH y LH, encargadas de estimular el crecimiento folicular, (Vélez, 2002 pág. 43).

Muchos folículos pueden llegar a desarrollarse durante el proceso de dinámica folicular, pero solo 1 (2 o 3 en el caso de gemelos o trillizos) será el folículo dominante seleccionado para ser ovulado. Este folículo dominante se diferencia de los demás en que es estimulado coordinadamente por las hormonas FSH y LH para producir estrógenos y provocar el siguiente celo, en la figura 1, se indica la fisiología de las ondas de crecimiento folicular.

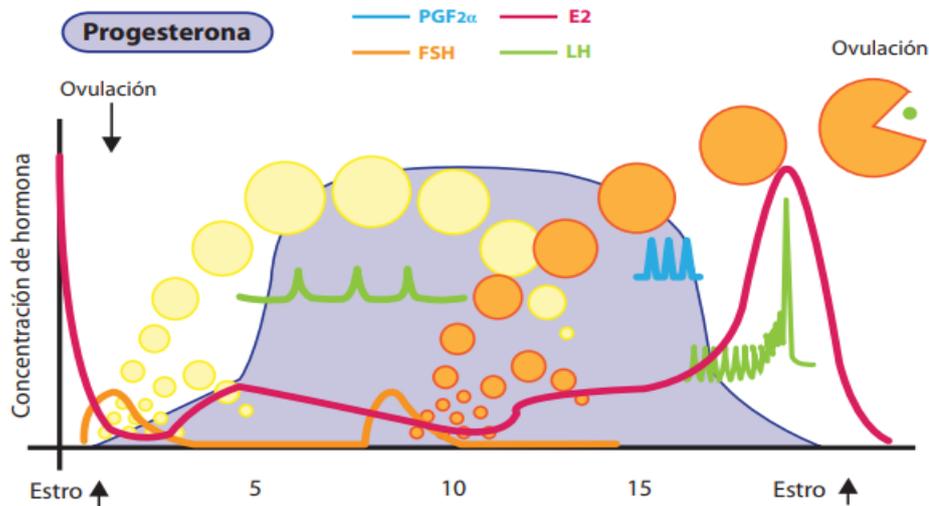


Figura 1-2: Fisiología de las ondas de crecimiento folicular
Fuente: (Espinoza, 2015 pág. 34).

2.2.5.1. Detección precoz de preñez en vacas

En el proceso productivo de cualquier especie doméstica, el manejo reproductivo es de gran importancia, tanto para su uso productivo propiamente dicho como para asegurar el reemplazo de los individuos que por diferentes motivos se van eliminando del hato, Las fallas en la observación, así como en la interpretación de los signos de esto resultan en pérdidas económicas significativas (Llamas, 2008 pág. 42).

La principal ventaja del diagnóstico de la gestación en la vaca productora destinada a la producción de leche es facilitar el reconocimiento temprano de la vaca no gestante, y evitar pérdidas en la producción como resultado de los índices de infertilidad arrojado. El diagnóstico precoz de la gestación en vacas lecheras es una práctica común y tiene como propósito identificar lo más rápido posible las vacas vacías para reintegrarlas al programa de inseminación, (Rupérez, 2007 pág. 35).

El retorno al estro sería el primer recurso para identificar a las hembras no gestantes; sin embargo, debido a la baja eficiencia en la detección de calores, la mitad de las vacas vacías no son observadas en estro y llegan hasta el diagnóstico de gestación, (Waberski, 2007 pág. 23)

Desde el punto de vista reproductivo resulta muy importante realizar un diagnóstico de gestación lo más pronto posible después de la inseminación artificial. Uno de los objetivos principales de los establos es que cada vaca tenga un parto por año para lo cual es necesario disminuir los días abiertos, de esta manera al identificar las hembras no preñadas se soluciona el problema cuanto antes, volviendo a inseminarlas o sometiénolas al tratamiento veterinario correspondiente, (Tamayo, 2010 pág. 22) .

2.2.6. Determinación de las concentraciones de progesterona en la sangre

La progesterona (P4) es una hormona esteroide secretada por el cuerpo lúteo (CL) y por la placenta que tiene papel fundamental en los eventos reproductivos y establecimiento, y mantenimiento de la gestación., siendo necesaria para el mantenimiento de la preñez, las vacas con altas concentraciones de progesterona P4 antes de la inyección de prostaglandinas para sincronizar el estro tienen tanto una tasa de detección de celos mayor, como una tasa de concepción más alta. (González, 2009 pág. 48).

La progesterona P4 natural ha sido utilizada para extender la fase luteal del ciclo estral y poder sincronizar el celo en bovinos, también se la usa para suprimir el desarrollo del folículo dominante y de esta manera sincronizar el desarrollo de una nueva onda folicular, si el ovocito liberado del folículo durante la ovulación no es fertilizado el animal no recibirá la señal de gestación del embrión, por lo que alrededor del día 16 después de la ovulación el endometrio del útero no gestante liberará prostaglandina F2 α (PGF2 α). Dicha PGF2 α es luteolítica, lo que significa que inicia la regresión del cuerpo lúteo. Como consecuencia de esta regresión del cuerpo lúteo, se reduce la concentración de progesterona en sangre, y desaparece el bloqueo ejercido por la progesterona sobre la liberación de GnRH, (Fricke, 2019 pág. 65).

Así, concentraciones basales (< 1ng/ml) indican que ha ocurrido la regresión lútea, lo que permite asumir con 100 por ciento de precisión que la vaca está vacía. En contraste, concentraciones altas (> 1ng/ml), permite concluir con una precisión de 75 a 85 por ciento, que la vaca esta gestante. Los falsos positivos se deben a diferencias en la longitud del ciclo estral entre vacas, a quistes luteinizados y piómetra, en la tabla 1-2, se indica la comparación de parámetros reproductivos obtenidos con los idóneos, (Vélez, 2002 pág. 26).

Todos los animales que se encuentran ciclando (repetidoras), presentaron niveles de P4 en sangre por encima de 1 ng/ml. La exactitud en la predicción de la gestación ha variado entre el 75 y 90%. Por el contrario, la exactitud de la no preñez es de 100%. Por tanto, la prueba de progesterona es más confiable para diagnosticar vacas vacías que preñada, y permitir hacerlo en

un etapa más temprana que por palpación rectal, la progesterona puede inhibir o promover respuestas conductuales inducidas por estradiol dependiendo de la duración de la exposición, (Hafez, 2000 pág. 34).

Tabla 1-2. Comparación de parámetros reproductivos obtenidos con los idóneos.

Parámetro	Valor Obtenido	Valor Idóneo
Días abiertos	193	70 – 90 días
Servicios por concepción	7 servicios	1.3 – 1.8 servicios
Porcentaje de gestación al primer servicio post-parto	25 %	50 – 60 %
Abortos	18 %	1 4 %

Fuente: (Cuningham, 2005 pág. 34)

2.2.7. Técnica doppler

La técnica doppler se utiliza para una detección ultraprecoz de gestación en bovinos que no es invasiva que permite visualizar y cuantificar la circulación sanguínea en los tejidos y estructuras basándose en los principios del efecto Doppler. En la reproducción bovina, esta técnica se utiliza para determinar el caudal sanguíneo de los vasos de los órganos reproductores a lo largo de distintos momentos biológicos (ciclo estral, *gestación* o periodo posparto), obteniendo de manera indirecta información sobre el estado funcional del tejido, (Waberski, 2007 pág. 76).

Por ello, proporciona información de los procesos fisiológicos y patológicos que suceden en el ovario y útero de la vaca. Un ejemplo es la valoración de la funcionalidad del cuerpo lúteo (CL). La vascularización del cuerpo lúteo, indica el nivel de actividad de esta estructura ovárica y, por lo tanto, su capacidad de secreción de progesterona, lo que permite evaluar su calidad durante la gestación, (Tamayo, 2010 pág. 76) .

La ecografía Doppler utiliza ondas sonoras de alta frecuencia para obtener imágenes de tejidos blandos y órganos internos, es una técnica en auge en el ámbito de la reproducción bovina. Su uso se ha extendido a diversos campos como son la superovulación y la transferencia embrionaria. Se ha observado que el aumento de la velocidad del flujo sanguíneo de las arterias uterinas se encuentra directamente relacionado con el desarrollo folicular y formación de CLs tras una supe estimulación hormonal, (Gil, 2008 pág. 65).

A su vez, se ha demostrado una relación entre el flujo sanguíneo uterino y los niveles de hormonas esteroideas, y el número de embriones obtenidos de cada animal, por lo que podría ser utilizado como predictor del éxito del programa de transferencia, (Quintela, 2012 pág. 48).

Sin embargo, una de las aplicaciones más interesantes de la ecografía Doppler desde un punto de vista económico, es la posibilidad de reducir el intervalo de días entre la inseminación y el diagnóstico de *gestación*. Actualmente, con la ecografía modo B, el diagnóstico de preñez se realiza con un mínimo de 27-28 días postinseminación (post-IA), complicándose mucho un diagnóstico más precoz. Aunque la fiabilidad del Doppler para este fin es muy controvertida, recientemente se ha demostrado su utilidad a día 20 post-inseminación artificial, (Hernandez, 2016 pág. 56)

La ecografía Doppler color está siendo utilizada en investigación y centros de referencia como una herramienta valiosa para monitorizar eficientemente la reproducción bovina, su elevado coste y el tamaño no versátil de los equipos actuales aún no permiten su uso en la práctica habitual de la clínica rural. En consecuencia, a medida que avance la tecnología y la preparación de los veterinarios en el uso de esta técnica, será una herramienta de un gran potencial para su uso futuro en la clínica bovina, (Tamayo, 2010 pág. 47).

Al efectuar la técnica doppler se producen alternativamente los fenómenos de compresión y refracción, estas ondas son reflejadas de vuelta hacia un transductor o sonda, compuesto por un cristal piezoeléctrico (al aplicar un campo eléctrico producen sonido) recubierto en ambas caras por electrodos que al ser expuestos a una señal eléctrica, hacen que el cristal se expanda y contraiga con la misma relación que la frecuencia aplicada y posteriormente son enviadas al ecógrafo donde son analizadas y convertidas en una imagen en escala de grises, que se extiende desde el negro al blanco, (Hernandez, 2016 pág. 43)

2.2.8. *Detección de preñez en vacas utilizando la técnica del ecógrafo doppler*

La función reproductiva del ganado bovino es uno de los aspectos que más repercuten en la rentabilidad económica del sistema de producción y es uno de los aspectos a los que hay que prestar más atención cuando se persigue una producción eficiente. Para ello, debe hacerse un diagnóstico general del estado reproductivo de la explotación utilizando herramientas disponibles en el mercado, una de las cuales es la ecografía. Los veterinarios prefieren cada vez más este método, ya que permite el diagnóstico y la monitorización del aspecto reproductivo de una manera precisa, rápida, no invasiva y en tiempo real.

La ecografía o ultrasonografía es una técnica en la que se emplea ondas de sonido de alta frecuencia para producir imágenes de los tejidos blandos y órganos internos, las cuales podemos visualizar a través de la pantalla del ecógrafo, ha sido valorada como una herramienta de aplicación práctica en la reproducción y diagnóstico médico, (Hernandez, 2016 pág. 39).

La ultrasonografía en tiempo real es una valiosa técnica ampliamente utilizada durante los últimos años para estudiar estructuras anatómicas y funcionales del aparato reproductivo de los bovinos es un método no invasivo que no solo permite el diagnóstico temprano de la gestación, sino que además permite realizar la evaluación del útero, cérvix, ovarios y sus cambios morfológicos, diagnóstico embrionario y fetal, sexaje del feto, seguimiento de los diferentes eventos fisiológicos presentes en los bovinos y detección y estudio de posibles cambios patológicos, de manera más exacta y objetiva en comparación a la técnica de palpación rectal, (Perea, 2012 pág. 56)

La ecografía Doppler color es una herramienta no invasiva que combina datos anatómicos y de flujo sanguíneo útiles para evaluar el aparato reproductor de la vaca en su estado normal y patológico. Así, esta herramienta ha permitido evaluar la función luteal, el desarrollo folicular, el embrión y el feto, por lo que estudios recientes demuestran su utilidad como técnica para realizar diagnósticos diferenciales más precisos de gestación y no preñez, de quistes foliculares o luteínicos, de riesgos de mortalidad embrionaria o fetal, así como predecir la respuesta superovulatoria y la eficacia en la transferencia de embriones.

Por lo tanto, se trata de una nueva herramienta que promete mejorar las técnicas ecográficas actuales o dar otro apoyo a las tradicionales, hasta hace unos años, esta técnica no se podía desarrollar en condiciones de campo, ya que los equipos eran de gran tamaño (Perea, 2012 pág. 56).

En la actualidad, existen ecógrafos portátiles Doppler color que hacen posible su utilización en la clínica de campo, aunque el problema surge en el momento de adquirirlos. Estos aparatos cuestan alrededor de 15.000 dólares americanos, por lo que suponen una inversión considerable, y, hasta el momento, los márgenes de beneficio que se obtienen son reducidos si los comparamos con los de un ecógrafo tipo B (imagen bidimensional en blanco y negro). Todo esto, más el tiempo de aprendizaje y de cambio de paradigmas, condiciona la elección a la hora de comprar y utilizar uno u otro ecógrafo. En los últimos años se han publicado algunos artículos relacionados con la utilidad de la ecografía Doppler color en la reproducción de ganado vacuno lechero en el ámbito de la investigación. Esta herramienta ha permitido analizar el flujo sanguíneo (FS) durante el crecimiento folicular, la ovulación y el desarrollo y regresión del cuerpo lúteo (CL), por lo que es útil para el diagnóstico diferencial entre quiste folicular y

luteal, para predecir la mortalidad embrionaria, la respuesta superovulatoria y la selección de receptoras (Siqueira, 2014 pág. 23).

La implementación de la ultrasonografía transrectal en bovinos ha permitido dilucidar los mecanismos ováricos que suceden durante la reactivación ovárica posparto, el ciclo estral, estimación del número de folículos en el caso de la transferencia de embriones y los tratamientos de superovulación identificación quistes foliculares o luteales, que antes no eran conocidos, esta técnica se incrementa cada día por el veterinario clínico y el especialista en biotecnología de la reproducción, pues su utilización es demandada cada vez más por los ganaderos y los centros científicos, ya que su aplicación confirma o desestima la valoración realizada por palpación rectal, (Rosner, 2016 pág. 32).

Gracias a esta técnica y al hallazgo de que el crecimiento de folículos bovinos ocurre en un patrón denominado ondas de crecimiento folicular, ha sido posible el diseño e implementación de protocolos de sincronización de ovulación para programas de Inseminación artificial (IA) y sus modificaciones, permitiendo un incremento valioso en la productividad y la calidad genética gracias a la masificación del uso de la IA, (Hernandez, 2016 pág. 32)

El actual desarrollo de la ecografía transrectal Doppler ha permitido la evaluación del flujo vascular luteal (FVL) en las vacas, siendo esto de gran importancia, ya que una adecuada angiogénesis del cuerpo lúteo (CL) juega un papel decisivo en su funcionalidad. Los estudios de FVL pueden proveer valiosa información acerca de la fisiología y fisiopatología del cuerpo lúteo y en vacas cíclicas han demostrado que las concentraciones de progesterona en el plasma sanguíneo pueden ser más fiables al ser predecidas por FVL que por tamaño luteal del diámetro mayor del cuerpo del luteo (DMaCL), especialmente durante la fase de regresión del cuerpo lúteo, (Tamayo, 2010 pág. 32)

El desarrollo de la capacidad del cuerpo lúteo para producir y secretar P4 (progesterona), es dependiente de un proceso de angiogénesis activo que ocurre durante los primeros días después de la ovulación. Como resultado de este proceso, el cuerpo lúteo se convierte en uno de los órganos más altamente vascularizados y recibe la mayor tasa de flujo sanguíneo por unidad de tejido que cualquier otro órgano en el cuerpo (Siqueira, 2014 pág. 23).

El sistema vascular luteal sirve como una ruta de distribución para las sustancias biológicas y proporciona nutrientes a las células lúteas, sustratos hormonales y hormonas circulantes que son indispensables para apoyar la secreción de la prostaglandina (P4), (Rupérez, 2007 pág. 56).

2.2.8.1. *Cambios en el flujo sanguíneo en los ovarios*

En la vaca lechera, la fertilidad se ve afectada por distintos parámetros o causas: nutricionales, manejo, sanitarias, genéticas y otras, el abastecimiento de sangre hacia los folículos y el cuerpo lúteo está estrechamente relacionado con el crecimiento folicular, la atresia y la ovulación. En conjunto, los complejos cambios estructurales, secretores y funcionales que se producen en el ovario están estrechamente relacionados con variaciones locales en el flujo de sangre. El uso de la ecografía transrectal para realizar el diagnóstico precoz de gestación es una aplicación práctica de la ecografía en la reproducción del ganado vacuno, (Rangel, 2009 pág. 39).

Las ventajas potenciales del uso de la ecografía para diagnóstico de gestación radican en que la presencia de un embrión puede ser detectada antes que con palpación rectal. Aunque el embrión puede observarse por primera vez de los días 19 a 24 de la gestación, se recomienda no realizar el diagnóstico antes de los 28-30 días, para obtener altos niveles de precisión. En esta situación, el eco- Doppler puede facilitar la determinación de la presencia y la vitalidad del embrión, al ser más fácil identificar el latido cardiaco, (Pierre, 2007 pág. 110)

En las vacas no gestantes el estro vuelve a aparecer en un intervalo normal de 18-24 días tras la inseminación artificial (IA), después de que tenga lugar la regresión del cuerpo lúteo. Por lo tanto, una evaluación del cuerpo lúteo en esta última etapa del ciclo puede permitir una determinación correcta del estado de gestación, (Galina, 2008 pág. 30).

La evaluación del flujo sanguíneo del cuerpo lúteo tardío puede permitir una mejor monitorización del estado de la preñez. Dado que el flujo de sangre que rodea al cuerpo lúteo llega a un máximo y luego disminuye progresivamente durante la regresión, el seguimiento de su fluido sanguíneo se puede utilizar para monitorizar la gestación inicial. Para ello, el eco-Doppler color ha permitido observar que en vacas no preñadas el flujo sanguíneo alrededor del cuerpo lúteo disminuye a los 19 días post-ovulación, mientras que en las preñadas el flujo sanguíneo del cuerpo lúteo tardío se mantiene 16-23 días después de la ovulación.

De ahí que una disminución del flujo sanguíneo alrededor del cuerpo lúteo durante los días 19 al 23 constituya un indicador de no preñez, por lo que la monitorización del flujo sanguíneo (FS) del CL durante estos días puede ser útil para el diagnóstico y posterior monitorización de la preñez. El eco-Doppler color ha permitido comparar el flujo sanguíneo (FS) folicular durante la inseminación artificial en relación al éxito de la misma. Así, se lograron determinar que las novillas cuyos folículos presentaban un mayor grado de FS en el momento de la IA quedaban

preñadas con mayor facilidad. Estos hallazgos soportan la hipótesis de que existe una relación directa entre del FS del folículo preovulatorio y el éxito de conseguir gestaciones después de la inseminación artificial, (Siqueira, 2014 pág. 21).

2.2.9. *Términos de referencia*

- **Bovinos:** son animales mamíferos y ruminantes que constituyen una subfamilia del grupo de los bóvidos. Disponen de una cola extensa que finaliza en un mechón y de un hocico ancho, mientras que el estuche de sus cuernos resulta liso. ganado vacuno es el nombre común de los mamíferos herbívoros domesticados del género Bos, perteneciente a la familia Bóvidos, que tienen gran importancia para el hombre, pues de la cría de los mismos se provee de carne, leche, cuero, cola, gelatina y otros productos comerciales
- **Bovinos lecheros:** El ganado lechero, utiliza para la producción de leche casi todos los nutrientes que ha consumido, a diferencia del ganado de carne, que los puede almacenar en su cuerpo en forma de carne y grasa. el ganado de leche utiliza los nutrientes que consume, para producir leche. El promedio de producción de las vacas lecheras es un reflejo de la influencia del cuidado que reciben durante su vida productiva. Durante las últimas dos décadas, mejoras en la calidad genética, en la nutrición, en sistemas de ordeño, en diseño de instalaciones y de programas de salud del hato han permitido un incremento sustancial en la producción de leche.
- **Ciclo estrual de las vacas:** El ciclo reproductivo de la vaca consta de 4 fases que se conocen como estro, metaestro, diestro y proestro. Primero la vaca entra en el período de celo (estro), el cual puede durar alrededor de 10 horas, durante las cuales estará receptiva a ser montada por un macho. Cuando esto ocurre será evidente, ya que la hembra en celo suele mostrar un comportamiento inusual el cual es conocido como la Vaca Tora. La vaca actúa como un toro, con gran excitación muge fuertemente e intenta montar a otras vacas hasta que finalmente ella es montada. Una vez terminado el celo ocurre la ovulación (metaestro) y se forma el cuerpo lúteo en los ovarios. El cuerpo lúteo se comienza a desarrollar (diestro) y a secretar progesterona para preparar a la mucosa uterina para la implantación del embrión. Si no ha ocurrido la fecundación el cuerpo lúteo es reabsorbido (proestro) y comienza nuevamente el ciclo reproductivo de la vaca, en caso de preñez este continúa secretando hormonas durante todo el período gestacional.
- **Gestación:** El tiempo de gestación de las vacas es de 9 meses o 280 días como media, aunque el rango más específico comprende entre 276 y 283 días de gestación. Como sucede con otros animales este período de gestación puede ser variable, en consecuencia, con la

raza, el tamaño y la edad de la vaca gestante. También puede influir el tamaño del ternero que se ha gestado durante el embarazo. Los nacimientos prematuros suelen ser poco comunes en esta especie.

- **Progesterona:** La progesterona (P4) es una hormona esteroide secretada por el cuerpo lúteo (CL) y por la placenta que tiene papel fundamental en los eventos reproductivos y establecimiento, y mantenimiento de la gestación. La concentración de progesterona en la circulación es determinada por un equilibrio entre su producción y el metabolismo, cuyo órgano responsable es el hígado. Así, la tasa de metabolismo de P4 general es determinada por el flujo sanguíneo hepático y puede tener importancia crítica en la determinación de la concentración de esta hormona en la circulación, especialmente en vacas de leche de alta producción. Además de ser fundamental para la gestación, algunos estudios tienen relacionado una mejor tasa de concepción de vacas de leche con elevada concentración de progesterona circulante en protocolos de inseminación artificial a tiempo fijo
- **Ecografía doppler:** es una técnica no invasiva que permite visualizar y cuantificar la circulación sanguínea en los tejidos y estructuras basándose en los principios del efecto Doppler. En la reproducción bovina, esta técnica se utiliza para determinar el caudal sanguíneo de los vasos de los órganos reproductores a lo largo de distintos momentos biológicos (ciclo estral, gestación o periodo posparto), obteniendo de manera indirecta información sobre el estado funcional del tejido. La ecografía Doppler es una técnica en auge en el ámbito de la reproducción bovina. Su uso se ha extendido a diversos campos como son la superovulación y la transferencia embrionaria. Se ha observado que el aumento de la velocidad del flujo sanguíneo de las arterias uterinas se encuentra directamente relacionado con el desarrollo folicular y formación de CLs tras una superestimulación hormonal. A su vez, se ha demostrado una relación entre el flujo sanguíneo uterino y los niveles de hormonas esteroideas, y el número de embriones obtenidos de cada animal, por lo que podría ser utilizado como predictor del éxito del programa de transferencia. Sin embargo, una de las aplicaciones más interesantes de la ecografía Doppler desde un punto de vista económico, es la posibilidad de reducir el intervalo de días entre la inseminación y el diagnóstico de *gestación*.
- **Cuerpo lúteo:** llamado cuerpo amarillo, es una estructura formada a partir del folículo de Graaf (este se transforma en cuerpo lúteo cuando el ovocito sale del folículo, inducido por un pico de la hormona luteinizante) y se considera la fase final del proceso de foliculogénesis. Aparece en el ovario después de la ovulación, durante la cual se generan una serie de hormonas femeninas, estrógeno y progesterona, aunque tras la ovulación la hormona que más prevalece es la progesterona, la cual favorece la gestación. Se compone

de dos tipos de células: pequeñas y grandes. Al comienzo de la fase luteal, producen progesterona y sólo las células pequeñas siguen produciéndola cuando esta fase ha finalizado. El cuerpo lúteo entonces sufre una regresión, proceso que recibe el nombre de luteolisis. Durante la fase luteínica, el estradiol de los folículos conduce a la aparición de receptores de oxitocina en el útero. Las células luteales grandes comienzan a sintetizar oxitocina, que se fija a los receptores uterinos, haciendo que el útero produzca y libere prostaglandinas lo que provoca la luteolisis.

CAPÍTULO III

3. MARCO METODOLÓGICO

3.1. Enfoque y alcance de la investigación

Al efectuar el presente estudio se procura aportar al sector ganadero y empresarial de nuestro país, aportes en el campo reproductivo puesto que se contará con una información confiable del diagnóstico ultra precoz de gestación en bovinos lecheros mediante la exploración de ecografía doppler del cuerpo lúteo y presencia progesterona en la sangre, de las vacas de la Hacienda “Pucate”, del cantón Chambo, Provincia de Chimborazo

El alcance de la investigación es muy amplio puesto que se tratará sobre aspectos reproductivos de las vacas muy necesarios de ser conocidos por los ganaderos no solo de la provincia sino también del país entero puesto que la tecnología aplicada permitirá la detección precoz de la gestación, para así reducir los días abiertos en vacas y planificar nuevas cubriciones en vacas que resulten vacías, para asegurar el crecimiento del hato.

3.2. Diseño de la investigación

El diseño de la investigación es descriptivo puesto que su preocupación primordial radica en describir algunas características fundamentales de conjuntos homogéneos de fenómenos, utilizando criterios sistemáticos que permitan poner de manifiesto su estructura o comportamiento. De esta forma se pueden obtener las notas que caracterizan a la realidad estudiada. Por lo cual se utilizó medidas de tendencia central como fueron media mediana y moda y una de dispersión como fueron varianza y desviación estándar

3.3. Tipo de investigación

El tipo de investigación es explicativa o causal, que es aquella que tiene relación causal; no solo persigue describir o acercarse a un problema, sino que intenta encontrar las causas de este tipo de estudio y trata de explicar las causas por las cuales ocurren determinadas situaciones, hechos o fenómenos.

En ese sentido, en este tipo de investigación se encontró la descripción de las variables de un fenómeno, así como el análisis de la relación que existe entre ellas. Las investigaciones

explicativas son más estructuradas que los estudios con los demás alcances, y de hecho implican los propósitos de estos puesto que se efectuó una exploración, descriptivo y correlación o asociación, entre cada una de las variables, además de que proporcionan un sentido de entendimiento del fenómeno al que hace referencia

3.4. Método de la investigación

El método utilizado en la investigación fue hipotético deductivo, que parte de una hipótesis o explicación inicial, para luego obtener conclusiones particulares de ella, que luego serán a su vez comprobadas experimentalmente. Es decir, comprende un paso inicial de inferencias empíricas que permiten deducir una hipótesis inicial que sea luego sometida a experimentación.

Debido a su naturaleza y rigurosidad la prueba de hipótesis en este tipo de investigaciones es fundamental, que puede elegirse una un método de investigación explicativa-predictiva para entender comportamiento de las variables y cuantificar sus relaciones. “con este tipo de investigación tratamos de conocer la estructura de los factores que influyen en una variable, en la mayoría de los casos, con el objetivo último de establecer predicciones sobre la misma (Lafuente, 2008 pág. 43)

3.5. Población de estudio

La población de estudio fueron las vacas de la Hacienda “Pucate”, del cantón Chambo, Provincia de Chimborazo: animales que han sido inseminados no mayor a 22 días

3.6. Unidad de análisis

La unidad de análisis que se utilizó en la presente investigación estuvo conformada por: Muestras de sangre para el análisis de progesterona y su posible preñez positiva o negativa, y la determinación de la irrigación sanguínea del cuerpo lúteo con la técnica doppler para dar como resultado positivo o negativo la gestación

3.7. Selección de la muestra

La muestra estuvo conformada por las 30 vacas con un periodo de inseminación no mayor a 22 días, de segundo y tercer parto.

3.8. Técnica de recolección de datos primario y secundario

- Revisión de registro se seleccionó todos los animales no mayores a 22 días de inseminación.
- Inspección visual de los animales se procedió a verificar que los animales que fueron identificados en el registro no presenten el despintado de los parches.
- Diagnóstico de gestación: para el diagnóstico de la gestación se utilizó un ecógrafo que tenía la función doppler color, la técnica consiste en retirar toda la materia de heces que van a interrumpir con la transmisión de la onda ecográfica.
- Se ecografiará los ovarios para determina la presencia o ausencia del cuerpo lúteo, y se tomó las medidas correspondientes,
- Una vez identificado el cuerpo lúteo se realizó la técnica doppler para medir la irrigación sanguínea del mismo.
- La técnica que se utilizó es el doppler color continuo

3.9. Metodología de evaluación

La metodología para obtener cada una de las variables para realizar el diagnóstico ultraprecoz de gestación en bovinos lecheros con la técnica doppler se describe a continuación:

- Porcentaje de concepción: A 30 vacas inseminadas se realizó un chequeo con ecografía doppler al cuerpo lúteo a los 22 días de gestación, después de realizar la técnica doppler si determinamos preñes según la irrigación sanguínea del cuerpo lúteo se predice una posible preñez, pero fue necesario asegurarse con la prueba de progesterona en la sangre a los 22 días post inseminación
- Tasa de concepción (TC): que se refiere al número de animales que quedan preñados como un porcentaje del número total de animales inseminados. Se trata de una cifra importante, ya que muestra la habilidad de los técnicos inseminadores, la condición de salud del útero de la vaca para mantener una preñez. Sin embargo, no da ninguna información acerca de otros parámetros importantes para medir el desempeño reproductivo del establo y desafortunadamente para algunos Establos continúa siendo el parámetro reproductivo más empleado para la toma de decisiones.

- Exactitud: La Exactitud es la aptitud para detectar las hembras gestantes o vacías. Para obtener el resultado se utilizó la siguiente fórmula:

Exactitud DG (+) = $a/(a+b)$ y Exactitud DG (-) = $c/(c+d)$

- Fiabilidad: Es la probabilidad para que un animal declarado gestante lo esté o lo contrario que sea diagnosticada no gestante esté realmente vacía. La fiabilidad DG (+) = $a/(a+d)$ La fiabilidad del diagnóstico de gestación positivo se denomina sensibilidad. Fiabilidad DG (-) = $c/(c+b)$. Esta fiabilidad del diagnóstico de gestación negativo la conocemos como especificidad.
- Exactitud global: Tenemos además una exactitud global del método que la podemos calcular aplicando la siguiente fórmula: Exactitud global = $(a+c)/(a+b+c+d)$
- Concentraciones de progesterona: Esta determinación se pudo realizar el día 22 después de la inseminación con el fin de descubrir un posible retorno al celo. Sin embargo, haciéndolo así no se puede conseguir la misma exactitud en todos los animales, y llevar a cabo este a todos los animales resulta inviable económicamente. Realizar este análisis entre los días 21 y 24 de gestación se debe reservar para los animales en los que se busque una mortalidad embrionaria tardía.
- Presencia de progesterona en sangre: Se realizó una prueba de presencia de progesterona en leche a los 22 días post inseminación la cual nos va a dar un resultado positivo o negativo. Esta determinación se puede realizar el día 22 después de la inseminación con el fin de descubrir un posible retorno al celo. Sin embargo, haciéndolo así no se puede conseguir la misma exactitud en todos los animales, y llevar a cabo este análisis a todos los animales resulta inviable económicamente. Realizar este análisis entre los días 21 y 24 de gestación se debe de reservar para los animales en los que se busque una mortalidad embrionaria tardía.
- Tamaño cuerpo lúteo: Desde el día 9 al 22 de gestación los cuerpos lúteos quísticos son de 1 a 3 mm mayores que los cuerpos lúteos sin cavidad. El día 18 del ciclo el cuerpo lúteo sin cavidad tiene un diámetro de 22 a 24 mm, en comparación con los 24 a 26 mm de diámetro al principio de la gestación. Por lo tanto, los cuerpos lúteos sin cavidad tienen menor tamaño en el ciclo que durante la gestación
- Irrigación sanguínea central del cuerpo lúteo: Una vez que el transductor este sobre el cuerpo lúteo mediante la técnica doppler color medimos la irrigación sanguínea de 0-100%

3.10. Identificación de variables

Las variables planteadas en la presente investigación fueron:

3.11. Variable Independiente

- Niveles de progesterona en la sangre
- Irrigación sanguínea del cuerpo lúteo (Irrigación central)

3.1.3. Variable Dependiente

- Exploración transrectal
- Tamaño del cuerpo lúteo
- Exploración del cuerpo lúteo (calidad 1-3)

3.1.4. Variables Intervinientes

- Exactitud.
- Fiabilidad.
- Exactitud global.
- Especificidad, %
- Sensibilidad, %

3.2. Operacionalización de variables

En la tabla 1-3. Se indica la operacionalización de variables que se utilizará en la presente investigación

Tabla 1-3 : Operacionalización de variables

Variable Independiente	Conceptualización	Dimensiones	Indicadores	Definición De Los Indicadores	Criterio De Medición	Técnica	Instrumento	Escala
Irrigación sanguínea del cuerpo lúteo	Al utilizar la técnica doppler se consigue determinar el estado de irrigación sanguínea del cuerpo lúteo para la sincronización del celo y la inseminación	clarificación de tejidos microscopía de luz, microscopía electrónica de barrido y técnicas radiográficas	Irrigación sanguínea Cuerpo Lúteo Sincronización de celo	irrigación del útero y ovarios derivan de las arterias ováricas, uterinas y una rama craneal de la arteria vaginal	Diagnóstico de gestación más precoz técnica doppler en los días 22 post-Inseminación artificial	Doppler	Ecógrafo	
Determinación de los niveles de progesterona	Determinar la secuencia de cambios en los niveles de progesterona (NP) durante el Ciclo Normal	Muestras de sangre para determinar las concentraciones de progesterona	Dinámica folicular	Proceso de crecimiento y regresión de folículos primordiales que conllevan al desarrollo de un folículo preovulatorio	Se basa en una curva patrón, derivada de tres estándares y por ello muy exacta.	MiniReader test ELISA	MiniReader	ng/ml de Progesterona.
Variable Dependiente	Conceptualización	Dimensiones	Indicadores	Definición De Los Indicadores	Criterio De Medición	Técnica	Instrumento	Escala
Porcentaje de fertilidad	Diagnostico ultra precoz del embarazo	Exploración transvaginal	Numero de vacas fértiles	Mide en porcentaje el número de vacas que han quedado fértiles	Conteo del número de vacas fértiles	Observación y análisis	Observación	Porcentaje
Exactitud.	En las técnicas de detección	Dependerá de la práctica profesional personal capacitado	Numero de vacas detectadas, inseminadas	En el conjunto de vacas	Observación y análisis			%
Fiabilidad.	En el diagnostico gestante en q realmente lo este.	Dependerá de la práctica profesional personal capacitado	Numero de vacas detectadas, inseminadas	En el conjunto de vacas	Observación y análisis			Porcentaje
Exactitud global.	En el conjunto de vacas	Dependerá de la práctica profesional personal capacitado	Numero de vacas detectadas, inseminadas	En el conjunto de vacas	Observación y análisis			Porcentaje
Especificidad, %	Diagnostico negativo.	Dependerá de la práctica profesional personal capacitado	Numero de vacas detectadas, inseminadas	Diagnostico negativo.	Observación y análisis			Porcentaje
Sensibilidad	Diagnostico positivo con la prueba de progesterona.	Dependerá de la práctica profesional personal capacitado	Numero de vacas detectadas, inseminadas	Diagnostico positivo con la prueba de progesterona.	Observación y análisis			Porcentaje

Elaborado por: Valdivieso, Jhonnatan, 2020

En la tabla 2-3, se indica la matriz de consistencia que se utilizó en la presente investigación.

Tabla 2-3: Matriz de consistencia

Formulación del problema	Objetivos	Hipótesis	Variables	Indicadores	Técnicas	Instrumentos
GENERAL						
Al realizar el diagnóstico ultra-precoz de gestación en bovinos lecheros utilizando la técnica doppler del cuerpo lúteo se conseguirá una mayor eficiencia en la vida reproductiva del hato	Realizar el Diagnóstico ultraprecoz de gestación en bovinos lecheros con la técnica doppler	¿El diagnóstico ultra-precoz de gestación en bovinos lecheros con la técnica Doppler de evaluación al cuerpo lúteo si eleva la eficiencia reproductiva en el hato lechero de la hacienda “Pucate”?	Variable independiente • Niveles de progesterona en la sangre • Irrigación sanguínea del cuerpo lúteo	La gestación puede observarse por primera vez en los días 19 a 24 post inseminación	Técnica Doppler continuo Test de Eliza	Ecógrafo Doppler El Testkit ELISA contiene de suero: • Estándares 1, 2, 3 • Reactivos • Solución de lavado • Pocillos recubiertos
ESPECÍFICOS						
¿La evaluación de la irrigación del cuerpo lúteo de los bovinos lecheros se podrá determinar utilizando la técnica Doppler, que se realizara a los 22 días post inseminación	Evaluar la funcionalidad del Cuerpo lúteo de los bovinos lecheros con el uso de la técnica Doppler.	¿El uso de la técnica Doppler si evalúa la funcionalidad del cuerpo lúteo en bovinos lecheros?	Variable dependiente Diagnostico ultra precoz Exploración transvaginal Gestación en bovinos lecheros Exploración del cuerpo lúteo Tamaño del cuerpo lúteo Análisis de la leche	El cuerpo lúteo presentara mayor irrigación sanguínea en el caso de gestación.	Técnica Doppler continuo	Ecógrafo con funcionalidad de la técnica Doppler
¿ Al realizar el diagnóstico ultra-precoz de gestación en bovinos lecheros utilizando la técnica doppler del	Determinar la irrigación sanguínea del cuerpo lúteo mediante la técnica doppler a los 22 días	¿La técnica Doppler aplicada a los 22 días post inseminación si determina la irrigación sanguínea del cuerpo lúteo?	Variables intervinientes			
			% de fertilidad	Numero de vacas fértiles	Observación y análisis	Porcentaje
			Exactitud.	En las técnicas de	Observación	Porcentaje

cuerpo lúteo se conseguirá una mayor eficiencia en la vida reproductiva del hato	post inseminación.			detección	y análisis	
			Fiabilidad.	En el diagnóstico gestante en que realmente lo este.	Observación y análisis	Porcentaje
			Exactitud global.	En el conjunto de vacas	Observación y análisis	Porcentaje
			Especificidad, %	Diagnóstico negativo.	Observación y análisis	Porcentaje
			Sensibilidad	Diagnóstico positivo con la prueba de progesterona.	Observación y análisis	Porcentaje
¿La determinación de la progesterona en la sangre post inseminación nos servirá para validar la eficiencia de la técnica Doppler en la afirmación o descarte de preñez?	Establecer una correlación entre los niveles de progesterona en la sangre y la irrigación sanguínea del cuerpo lúteo con la técnica doppler.	¿Con la técnica Doppler si construye la correlación entre los niveles de progesterona en leche y la irrigación sanguínea del cuerpo lúteo?	Valor predeterminado		Observación y análisis	Porcentaje
			Presencia de progesterona en la sangre.	10 ng/ml de progesterona en la sangre.	Observación y análisis	Mini Reader test ELISA para medir Progesterona
			Diámetro del cuerpo lúteo,	Diámetro menor Día 22>16,9 Diámetro mayor Día 22>26,96	Observación y análisis	Milímetros
¿Existirá impacto económico por la presencia de días abiertos en bovinos lecheros además se conseguirá el ahorro al ganadero al disminuir los días abiertos con el uso de la técnica Doppler para hacer una detección precoz de la gestación?	El uso de la ecografía Doppler para la detección ultra-precoz de gestación si produce un ahorro al ganadero por disminuir los días abiertos en bovinos lecheros?	¿El uso de la ecografía Doppler si produce un ahorro al ganadero al disminuir los días abiertos por la detección precoz de la gestación?	Costo por día abierto	10 dólares	Cálculos por días abiertos	Excel.

Realizado por: Valdivieso, Jhonnatan. 2021

CAPÍTULO IV

4. MARCO DE RESULTADO Y DISCUSIÓN

4.1. Evaluación del Diagnóstico ultraprecoz de gestación en bovinos lecheros con la técnica doppler

4.1.1. Diagnóstico ultraprecoz de la gestación en vacas

Para la evaluación del diagnóstico ultraprecoz de la gestación se analizaron 30 vacas lecheras holstein, utilizando la técnica Doppler, donde se logró detectar que al utilizar el diagnóstico ultraprecoz por medio de la técnica doppler se reportó que 28 vacas quedaron gestantes, mientras que 2 vacas fueron no gestantes, como se indica en la tabla 1-4.

Tabla 1-4: Evaluación del porcentaje de gestación utilizando diferentes técnicas de diagnóstico en vacas lecheras

Método	Número de vacas gestantes	Número de Vacas Vacías
Detección precoz con ultrasonido a los 22 días	28	2
Exploración Transrectal a los 45 días	26	4

Realizado por: Valdivieso, Jhonnatan, 2021

Por lo tanto, se aprecia que el uso de la ecografía con la técnica doppler para realizar el diagnóstico precoz de gestación es una aplicación práctica en la reproducción del ganado vacuno, debido que ya a los 22 días se puede saber el estado de la vaca y disminuir los días abiertos, como se ilustra en el gráfico 1-4. Los resultados de la presente investigación son superiores al ser comparados con los que reporta (España, 2004 pág. 25), quien al efectuar la inseminación artificial y pasados 32 días se realizó el diagnóstico de gestación por ecografía transrectal del útero, reportó 14 hembras gestantes (33,3%) y 28 vacías (66,6%).

Además son similares a los reportados por (Bellenda, 2002 pág. 65), reportó que la determinación de la gestación en vacuno se realizó a los 12 días en un ambiente controlado, y hacia el día 25 bajo condiciones de campo, reportando que de 60 vacas resultaron positivas 56 y 4 vacías, esta

determinación es mucho más temprana que lo que es posible con la palpación rectal del feto y/o de las membranas.

4.1.2. Exploración Transrectal de las vacas lecheras

El resultado obtenido al realizar la prueba de diagnóstico de gestación utilizando la técnica de exploración transrectal a las vacas lecheras a los 45 días, nos permitió determinar que 26 vacas resultado positivo (+) con el 86.7% es decir estaban gestantes mientras tanto que 4 vacas registraron una respuesta negativa (-) con el 13.3%, que se encontraban vacías como se ilustra en el gráfico 1-4.

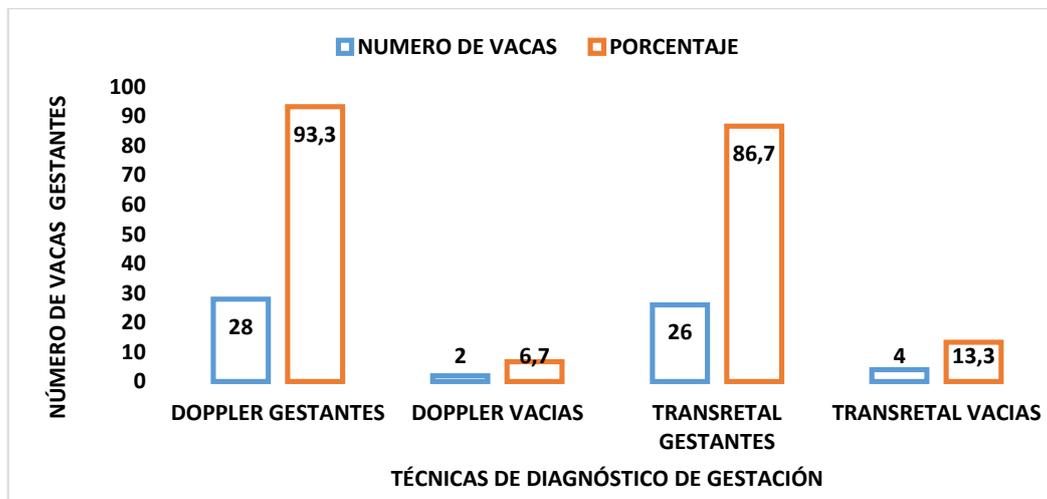


Gráfico 1-4: Evaluación del diagnóstico de la gestación en vacas lecheras, utilizando la técnica Doppler y exploración transrectal

Realizado por: Valdivieso, Jhonnatan, 2021

Los resultados de la presente investigación son superiores al ser comparados con (Suárez, 2015 pag 25), quien al utilizar la técnica de palpación rectal a los 60 días post inseminación artificial, pudo realizar el diagnóstico de gestación, determinando un porcentaje en vacas del 40% y en vaconas el 50% gestantes del total de animales inseminados al primer servicio.

De los resultados expuestos se afirma que un porcentaje muy alto de las vacas se presentaron gestante, a los 45 días, utilizando el método de exploración transvaginal al respecto (Galina, 2008 p. 29), mención que, es comúnmente usado, se considera rápido y de bajo costo para el diagnóstico de preñez en vacas. Este examen debe ser realizado entre los 45 y 60 días posteriores al servicio bien sea por inseminación artificial o monta natural o como se lo realizaba antes de acuerdo con la experiencia del operador, y permite poner en evidencia una

serie de signos clínicos que posibilitan definir con exactitud si la hembra está vacía o preñada, y la edad de la gestación.

4.1.3. *Sensibilidad y Especificidad*

Al evaluar la sensibilidad y especificidad utilizando el diagnóstico ultraprecoz Doppler realizado a los 22 días se obtuvo un resultado del 100% para ambas, de la misma manera cuando se efectuó la detección por exploración transrectal a los 45 días los resultados fueron de 100% de las dos variables

A continuación, se presenta en la tabla 2-4, el cuadro esquemático indicando los diagnósticos correctos positivos (a), diagnósticos incorrectos positivos (b), diagnósticos correctos negativos (c) y diagnósticos incorrectos negativos (d).

Tabla 2- 4: Evaluación de la sensibilidad y especificidad del diagnóstico de gestación de vacas lecheras

Variable	Método	Falsos (+)	DG (+)	Exactos (++)	DG (+)	Falsos (+)	DG (-)	Correctos (--)	DG (-)
Sensibilidad	Diagnostico ultraprecoz doppler 22			100					
	Exploración transrectal a los 45 días	a		100					
Especificidad	Diagnostico ultraprecoz doppler a los 22							100	
	Exploración transrectal a los 45 días							100	

Realizado por: Valdivieso, Jhonnatan, 2021

Resultados que son superiores al ser comparado con la investigación realizada por (Rodríguez, 2017 pág. 56), quien reporta que la sensibilidad de la prueba de doppler fue del 97% es decir que de 37 vacas resultaron 38 vacas gestantes, debido a que fue el porcentaje de vacas diagnosticadas como gestantes, mientras que la especificidad alcanzo un porcentaje de 82% de vacas no gestantes.

Estos datos afirma (Perea, 2012 pág. 62) quien menciona que los resultados Falsos positivos pueden existir si el tiempo de diagnósticos de preñez se realiza por debajo de los veintisiete días; así, algunas vacas acumulan mucus de celo en la curvatura mayor del útero, pudiendo dar una imagen similar a preñez temprana, la ecografía de ovarios nos indicará la ausencia de cuerpo lúteo (CL) y la presencia de un folículo preovulatorio, siempre que se pueda es importante visualizar el embrión y revisar los ovarios.

Sin embargo, el error de diagnóstico con ecografía es mínimo lo más importante es poder diagnosticar una vaca como vacía con certeza para poder tratarla y aplicarle una prostaglandina con seguridad y sin riesgo de producir un aborto y que de esta manera se realice una nueva inseminación o monta natural, para de esa manera evitar los días abiertos que resultan antieconómicos para la explotación ganadera.

Algunas investigaciones demuestran que entre los días 26 y 33 posterior a la inseminación artificial, existe una sensibilidad del 97,7% y una especificidad de 87,8%, por lo cual es también un método fiable para el diagnóstico de hembras no gestantes.

Finalmente, se puede observar que en la investigación realizada por (Ríos, 2013 pág. 62), sobre la evaluación del uso de proteínas asociadas a la gestación (PAG) como alternativa para el diagnóstico de gestación temprana en ganado Holstein Friesian, La precisión de la US para el diagnóstico de gestación en vacas según sus días post-inseminación muestra que la sensibilidad fue aumentando a medida que aumentaron los días post-inseminación hasta llegar a un 87,0% el día 29. Ya que durante los días 27 a 29 post-inseminación, se realizaron en total 15 diagnósticos falsos negativos, de los cuales 15 fueron positivos.

En cuanto a la especificidad de la US fue de un 100% al día 27 postinseminación, para luego fluctuar entre 75% al día 28 y 77,8% al día 29. A los días 27 a 29 post-inseminación se realizaron en total 4 diagnósticos falsos positivos; de los cuales, 2 estaban positivos y 2 negativos.

Estos resultados son inferiores a los encontrados por (Guadamud, 2017 pág. 41), quien reportó una sensibilidad del kit IDEXX Rapid Visual Pregnancy Test® de 97,4%, resultado similar al provisto por el laboratorio IDEXX, el cual indica una sensibilidad de 99,1%. Sin embargo, se encontró una especificidad de 58,4% en el kit, muy por debajo de lo establecido por el laboratorio IDEXX de 95,1%.

Los valores que se presentan también ha sido corroborado por (Romano y col 2006), citados por (Ríos, 2013 pág. 52), quien afirma que la precisión en el diagnóstico de gestación es inversamente

proporcional a la edad o número de partos del animal, dado tal vez, porque el tamaño y posición del útero cambian con relación a la entrada pélvica según el número de partos. Otra de las posibles causas que puede afectar al incremento de los falsos negativos mediante la US en vacas podría estar relacionada con la frecuencia del transductor usada en el examen rectal. Se ha observado que un equipo ultrasonográfico con un transductor de 7,5 MHz mejora la sensibilidad y valor predictivo negativo cuando se incrementa el intervalo entre la inseminación y el diagnóstico de gestación, recomendándose su uso después del día 31 post-inseminación.

La sensibilidad mide la capacidad del método para diagnosticar correctamente los animales positivos, mientras que, la especificidad mide la capacidad de diagnosticar correctamente los animales negativos. Un diagnóstico con baja sensibilidad ofrece demasiados falsos negativos, mientras que los que tienen baja especificidad dan demasiados falsos positivos

4.1.4. Exactitud y Fiabilidad

En relación a la exactitud de las vacas gestantes o vacías utilizando el diagnóstico ultraprecoz Doppler realizado a los 22 días se determinó un porcentaje de 93,33% vacas gestantes y 6,67% vacas con resultado negativo de preñez, mientras que la fiabilidad estableció un valor de 100% vacas realmente en estado de gestación, y 100 % vacas realmente vacías.

Estos resultados son similares a los expuestos por (Rodríguez, 2012), quien obtuvo para exactitud de la prueba en 90%, es decir, que ese fue el porcentaje de diagnóstico de gestación realizado correctamente. Mientras que para (Martínez, 2008 pág. 52), al evaluar el intervalo de la inseminación artificial y el diagnóstico de gestación por ecografía logró determinar una exactitud del 97% entre los 60 y 70 días de detección de la gestación en vacas lecheras.

De los resultados expuesto se aprecia que los porcentajes de exactitud y fiabilidad (positivos y negativos), aumentan a medida que incrementan los días en los cuales se realiza el diagnóstico de gestación. Es por ello que la utilización del método de diagnóstico por ultrasonografía garantiza un 100% los resultados reales tanto positivos y negativos siempre y cuando esta prueba se realice a los 30 días posteriores a la inseminación artificial o monta natural, siendo este método el más adecuado en la detección de la preñez o la detección de vacas vacías.

La mayor exactitud en la detección de preñez se consigue al utilizar la técnica doppler lo que tiene su fundamento en lo expuesto por (González, 2009 pág. 36), quien afirma que la exactitud es la aptitud para detectar las hembras gestantes o vacías, el método por ecografía de ultrasonido para detección de preñez se puede realizar desde el día 26 post servicio, logrando mayor

exactitud entre los 30 a 75 días de gestación por otra parte, la fiabilidad es la probabilidad o posibilidad de que el diagnóstico de que un animal declarado gestante efectivamente sea positivo su resultado; o que. la vaca que ha sido diagnosticada no gestante esté realmente vacía.

De la misma manera (Cunningham, 2005), reporta que la exactitud es elevada en estudios tempranos de gestación (30 a 90 días), aunque hacia la mitad de la gestación, cuando el feto reposa en el fondo de la cavidad abdominal por lo que es común que clínico difiera en 2 o 4 semanas al estimar la edad exacta de preñez. Por lo que podría considerarse que la escasa concordancia entre las exactitudes diagnosticadas por ambos métodos indica que, si bien ambas técnicas son útiles para realizar el diagnóstico de preñez, la palpación rectal no es tan eficiente para determinar la edad exacta de la gestación en comparación con la ecografía, especialmente en gestaciones tempranas.

4.2. Funcionalidad del Cuerpo lúteo de los bovinos lecheros con el uso de la técnica Doppler

4.2.1. Exploración y tamaño del cuerpo lúteo

Una vez realizada la exploración del cuerpo lúteo utilizando el método Doppler se observa que en las 30 vacas evaluadas existe presencia del cuerpo lúteo, esta apreciación permitió además analizar los datos obtenidos de la medición del tamaño del cuerpo lúteo, donde se encontró que mayor tamaño del CL fue de 35mm y el menor de 25mm, como se indica en la tabla 3-4.

VARIABLES	ESTADÍSTICAS DESCRIPTIVAS					
	Media	Mediana	Desviación estándar	Mínimo	Máximo	Suma
Díámetro del cuerpo lúteo	30.7	30	2.7	25	35	921
Calidad del cuerpo lúteo	3.2	3	2.9	1	3	3
Niveles de progesterona en la leche	10.81	10.55	6.31	0.15	25.84	324.2
Irrigación sanguínea del cuerpo lúteo	93.33	100.00	11.24	75.00	100.00	2800
Tamaño del cuerpo lúteo	30.70	30.00	2.74	25.00	35.00	921

Tabla 3-4: Evaluación de la Funcionalidad del Cuerpo lúteo de los bovinos lecheros con el uso de la técnica Doppler

Realizado por: Valdivieso, Jhonnatan, 2021

Los resultados de la presente investigación son superiores a los reportados por (Rodríguez, 2017 pág. 25), quien registró que el porcentaje total de preñez en vacas Brahman transferidas con embriones producidos in vitro obtuvieron un diámetro del cuerpo lúteo de 22 mm, generaron una tasa de preñez del 63,6%.

Por su parte, (Martínez, 2008 pág. 52), estableció una respuesta inferior y que fue de $13,6 \pm 1,12$ mm a $18,13 \pm 0,97$ mm, al calcular los valores del diámetro del cuerpo lúteo al hacer el seguimiento ecográfico, en el grupo de animales que quedaron gestantes tras la inseminación artificial.

En una investigación realizada por (Vélez, 2002), se menciona que el cuerpo lúteo presente al momento de la implantación del embrión juega un papel importante en los resultados de la transferencia de embriones ya que se espera que secreta suficiente cantidad de progesterona para el mantenimiento de la preñez del embrión transferido, con un rango de valor de 1 a 3, lo cual de lo contrario que produce un cuerpo lúteo de baja funcionalidad. Con los resultados arrojados en la presente investigación, los valores son de 3, es decir está dentro de los días hábiles y presenta una alta funcionalidad.

En un estudio realizado en vacas Fresian, (Fricke, 2019 pág. 12), reportó que se encontraron 22% de cuerpos lúteos menores a 20 mm y 47% de cuerpos lúteos mayores o iguales a 20 mm. Estos resultados difieren con los encontrados en el presente trabajo dichas diferencias podrían deber a efectos de la raza ya que en este trabajo se realizaron con animales de la raza Holstein Fresian

Para la determinación de la gestación es conveniente conocer lo que manifiesta (Waberski, 2007 pág. 53), quien menciona que el proceso de luteinización se caracteriza por un incremento en el tamaño y número de las células de la granulosa y la teca, después de la ovulación del folículo, en ciertas especies se caracteriza por la formación de un pigmento amarillo, las células luteales producen progesterona en altas concentraciones para el mantenimiento de la preñez, en los animales que no están gestantes el útero produce prostaglandina y causa la luteolisis.

El cuerpo lúteo puede clasificarse como grado 1 bueno debido a que presenta un tamaño mayor a 18mm, y de grado 3 malo puesto que el cuerpo lúteo es menor a 15mm. Por lo tanto, en las 30

vacas el grado del cuerpo lúteo fue de 1, es decir calificación buena, debido a que superó los 15 mm

Los resultados obtenidos evidencia la eficacia de la utilización de los ultrasonidos en la reproducción bovina lo que es corroborado con lo que manifiesta (Hafez, 2000 pág. 63) quien menciona que el Diagnostico ultraprecoz Doppler realizado a los 22 días proporciona a los criaderos de vacas y otras especies un procedimiento ideal por la facilidad de interpretación de la imagen, además, ofrece una resolución lateral buena sobre toda la profundidad del campo examinado, y permite visualizar estructuras de gran dimensión (de varios centímetros), aplicada en la actualidad no sólo para el diagnóstico de gestación y sexaje fetal, sino también en otros muchos procesos reproductivos tales como la dinámica de ondas foliculares, desarrollo del cuerpo lúteo y control de procesos patológicos del aparato reproductor.

El cuerpo lúteo se origina en las células del folículo ovulatorio, la hormona luteinizante (LH), es la principal hormona luteotrópica en el ganado, es responsable de estimular la luteinización de las células de la teca y de la granulosa del folículo preovulatorio en células lúteas. La función del cuerpo lúteo es producir concentraciones suficientes de P4 durante la fase lútea del ciclo estral para mantener la preñez (si un embrión está presente) y durante la preñez, para disminuir la secreción de gonadotropinas y prevenir el comportamiento del estro.

4.2.2. *Irrigación sanguínea*

La irrigación del cuerpo lúteo se valoró con la técnica de doppler continuo en donde obtiene los valores de la irrigación central y periférica la misma que se valoró en un mapa de cuadrantes con valor total del 100% entendiéndose una vaca positiva a la gestación y 0% de irrigación centra y periférica una vaca no gestante, este estudio se realizó 22 post inseminación. como se detalla en la figura 2-2

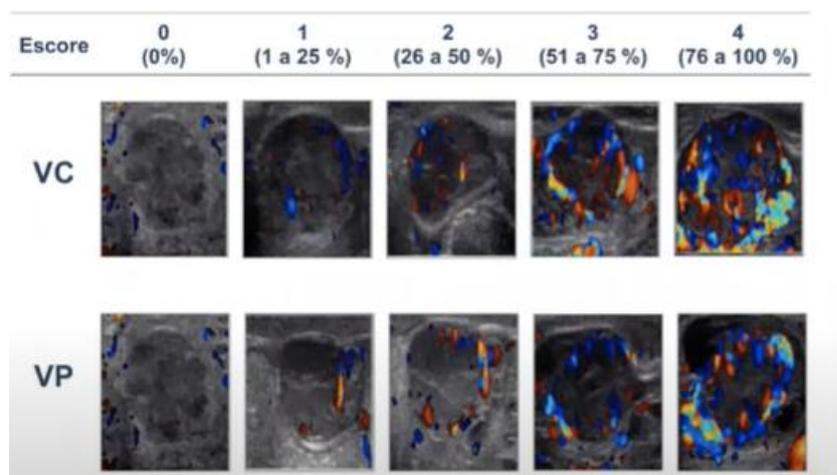


Figura 2-2: mapeo de la irrigación centra y periférica del cuerpo lúteo.

Fuente. (GINTHER,2007; PUGLIESI et.al.2014)

En nuestro estudio se obtuvo un promedio de 73.33% de animales que presentaron irrigación sanguínea central y periférica del cuerpo lúteo del 100% y el 20% una irrigación central y periférica del 75% esto significa son positivos a gestación por diagnostico temprana concordando con (Siquiera, 2019), quien determina un 60% Q4 de irrigación sanguínea del cuerpo lúteo en vacas gir x Holstein después de sincronizar las ovulaciones utilizando un protocolo basado en estradiol más progesterona (P4) estos valores son similares a (Dubuc, 2019), quien manifiesta que una irrigación sanguínea del 60% o más se puede predecir la preñez del animal.

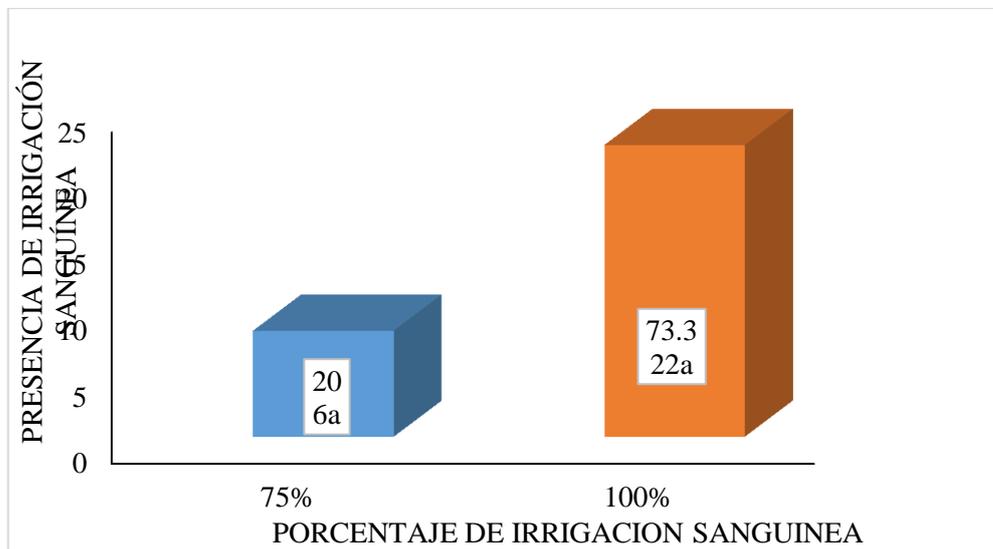


Gráfico 2-4: Evaluación de la presencia de irrigación sanguínea en vacas diagnosticadas con la técnica de ecografía doppler

Realizado por: Valdivieso, Jhonnatan, 2021

Después de sincronizar las ovulaciones utilizando un protocolo basado en estradiol más progesterona (P4) estos valores son similares a (Dubuc, 2019), quien manifiesta que una irrigación sanguínea del 60% o más se puede predecir la preñez del animal.

Al respecto (Galina, 2008 pág. 25), manifiesta que la irrigación del aparato reproductor femenino en bovinos se origina en las arterias umbilicales a través de su rama uterina que antes era denominada arteria uterina media, la arteria vaginal o llamada antes arteria urogenital y la arteria pudenda interna; todas ellas originadas en la arteria iliaca interna, última rama de la arteria aorta, la cual penetra en la zona vascular del ovario formando un complejo ovillo arterial

muy tortuoso en el ovino. Existe una alta variabilidad en la distribución de los vasos que irrigan esta estructura.

El cuerpo lúteo es una de las glándulas primordiales responsable de la producción de progesterona P4, una hormona destacada por ser la responsable de establecer y mantener la preñez, es característico por desarrollar y someterse a múltiples cambios debido a la angiogénesis y vascularización en un periodo relativamente corto de tiempo (2- 3 días), tales alteraciones repentinas del folículo preovulatorio desarrollan un sistema capilar complejo dependiente de una alta cantidad de flujo sanguíneo constante para funcionar.

4.2.3. Niveles de progesterona en la sangre

Al evaluar la concentración de progesterona, se observa que alcanzó el nivel más alto con 25,84 ng/ml y el nivel mínimo de progesterona es de 0.15 ng/ml como se ilustra en la tabla 3-4

Estos resultados demuestran que las vacas cuyo resultado de preñez fue positivo durante la evaluación por ecografía obtuvieron los más altos niveles de progesterona en comparación con las vacas que se encontraron vacías las cuales presentaron niveles inferiores, como se ilustra en el gráfico 3-4.

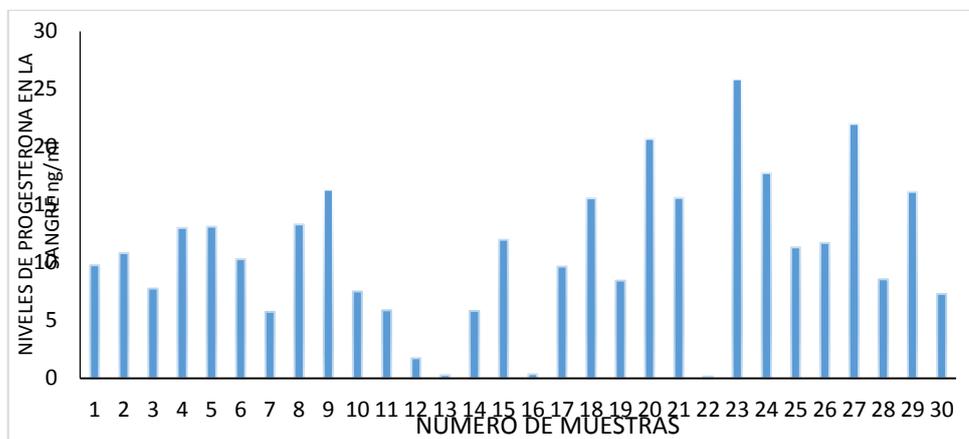


Gráfico 3-4: Evaluación de los niveles de progesterona en la sangre en vacas diagnosticadas con la técnica de ecografía doppler

Realizado por: Valdivieso, Jhonnatan, 2021.

Los resultados de la presente investigación son superiores al ser comparados con las respuestas de (Layme, 2018 p. 52) quien al evaluar los niveles séricos de progesterona en las vacas con aplicación hormonal en el momento post inseminación; registró que en las vacas del grupo que recibieron dosis de GnRH produjeron 4.58 ng de P4/ml de suero, mientras las vacas con

aplicación de la hormona eCG mostraron 2.87 ng de P4/ml de suero, y las vacas del grupo testigo sin ningún estimulante hormonal alcanzaron 1.95 ng de P4/ml.

Además, los niveles de progesterona (P4), encontrados en el presente estudio son inferiores a los resultados (Granados, 2015 p. 52), quienes determinaron los perfiles de progesterona y volumen luteal en el ciclo estral, en vacas de la hacienda lechera Sausalito S.C.C., las concentraciones de progesterona (P4) fue máxima durante el ciclo estral de los animales con valores de $9,26 \pm 3,17$ ng/ml vs. $5,19 \pm 1,76$ ng/ml. Mientras, (Pitti, 2012 p. 26), al determinar los porcentajes de preñez y las concentraciones de progesterona en plasma sanguíneo en vacas de aptitud lechera tratadas con GnRH a los 7 y 12 días post inseminación artificial registraron la concentración de progesterona más alta en el tratamiento de GnRH al día 7, con una media de 10.03 ng/ml, al día 12, 7.62 ng/ml y control 8.72 ng/ml.

Un comportamiento similar se observa en la investigación realizada por (España, 2004 p. 52), quien al realizar el estudio comparativo de la eficacia del diagnóstico precoz de gestación en vacuno mediante ecografía luteal y progesterona plasmática reportó 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.

4.2.4. Nivel de progesterona en relación con el tamaño y calidad del cuerpo lúteo

El porcentaje total de preñez en vacas Holstein Freisan aplicando el Diagnostico ultraprecoz Doppler realizado a los 22 días donde se muestrearon 30 animales y quedaron preñados 28. De las cuales, las hembras con un tamaño del cuerpo lúteo promedio de 30.7 mm y con una concentración sérica media de 10.81 ng/ml de P4, generaron una tasa de preñez del 93.33 % y 6.67 % de vacas resultaron negativas es decir no estaban gestantes un nivel bajo de P4 de 0.15 ng/ml.

Los resultados de la presente investigación son superiores al ser comparadas con (Rodríguez, 2017 p. 57), quien reporta que el porcentaje total de preñez en vacas Brahman transferidas con embriones producidos in vitro del grupo A, donde se muestrearon 35 animales y quedaron preñados 14, obteniendo el 40 % (14/35). De las cuales, las hembras con un diámetro de 22mm, generaron una tasa de preñez del 63,6%.

Sin embargo, los valores de preñez obtenidos en la presente investigación son superiores a los sugeridos por (Idrovo, 2016 p. 63), menciona que las vacas cuyo diámetro estaba entre 22 y 20 mm

presentaron los mejores resultados de preñez, 65,6% y 47,4% respectivamente; esto garantizará al productor pecuario que se dedique a esta actividad, ejercer un control en las vacas que tenga en su hato y mejorar su producción.

De la misma manera Vasconcelos et al., (2001), indicaron que a las hembras que se les encontraron cuerpos lúteos de 15 mm s de diámetro producen niveles de progesterona circulantes de 1,75 ng/ml, y una tasa de concepción del 41%; y, a las hembras a las que se les encontraron cuerpos lúteos menores de 15 mm de diámetro presentaron niveles de progesterona circulantes de 1,19 ng/ml y una tasa de concepción del 31%, es decir que los cuerpos lúteos de 22 mm obtuvieron mayores tasas de preñez en las hembras de estudio y mejores que los demás diámetros (20, 18 y 16mm).

4.2.5. Muerte embrionaria

Los valores obtenidos de la reabsorción embrionaria son del 6.66% de (2 vacas), que resultaron no gestantes utilizando el método de diagnóstico ultraprecoz Doppler realizado a los 22 días y a los 45 días se aprecia que se reabsorbe los embriones. Lo resultados de la presente investigación son inferiores al ser comparados con lo que registra (Muñoz, 2013), quien determina un 8 % de reabsorción embrionaria tanto con el uso de la Somatotropina recombinante bovina rBST y sin ella. Valores que se encuentran por debajo de los parámetros sugeridos por (Gordon, 1999), citado por (Fricke, 2019 pág. 8), que determinaron hasta un 25% o más en vacunos sanos y entre los 18 a 50 días puede morir un 10-15% de los embriones.

Al respecto (Gil, 2008 pág. 2), manifiesta que la mortalidad embrionaria es considerada la principal causa del incremento en el intervalo entre partos en los bovinos, es un factor limitante que afecta la eficiencia reproductiva el hato ganadero, considerándose así la causa más importante para el aumento de intervalo entre partos en las vacas, se habla de muerte embrionaria temprana aquel suceso que ocurre desde el momento de la fecundación hasta el día 14, la cual corresponde a la etapa de desarrollo temprano; la muerte del embrión tardía sucede a partir del día 14 hasta el día 45, donde sucede el reconocimiento materno de la gestación y se da la implantación del embrión en el útero. Se estima que en un 50% de las muertes embrionarias se da en los primeros 16 días.

4.2.6. Niveles de progesterona en relación con la irrigación sanguínea central

Al relacionar los niveles de progesterona en relación con la irrigación sanguínea central, se aprecia diferencias altamente significativas ($P < 0.01$), debido a que en las vacas que

presentaron un 75% de irrigación se reportó un promedio de 5.24 ng/ml, de niveles de progesterona en la sangre, mientras tanto que en las vacas que establecieron un 100 % de irrigación sanguínea los niveles de progesterona en la sangre fueron en promedio de 12.83 ng/ml.

Es decir que a mayor irrigación sanguínea existirán mayores niveles de progesterona en la sangre generalmente está determinada por el flujo sanguíneo hepático y puede ser muy importante, especialmente en vacas lecheras, para determinar las concentraciones circulantes de progesterona (P4).

Tabla 4-4: Comparación de la irrigación sanguínea central versus los niveles de progesterona en la leche.

	75%	100%
Media	5.24	12.83
Varianza	28.38	29.49
Observaciones	8.00	22.00
Diferencia hipotética de las medias	0.0	
Grados de Libertad	13.00	
Estadístico t	-3.44	
P(T<=t) una cola	0.00	
Valor crítico de t (una cola)	1.77	
P(T<=t) dos colas	0.00	
Valor crítico de t (dos colas)	2.16	

Realizado por: Valdivieso, Jhonnatan, 2021

Al respecto con (Guilherme Pugliesi, 2019), quien reportó que, el área CL promedio fue de $3.58 \pm 0.05 \text{ cm}^2$, la Perfusión sanguínea lútea promedio fue $47,5 \pm 0,5\%$ y la P4 sérica promedio fue $2,77 \pm 0,15 \text{ ng /ml}$, en el día 7, para los destinatarios cuyo lado de DF en relación con CL era posible ser determinado (n=431), DF se observó con mayor frecuencia ipsilateral al CL (50%; n=250) que contralateral (42,8%; n = 181; P <0,05).

4.2.7. Niveles de progesterona en la sangre en relación con la muerte embrionaria

Al evaluar los niveles de progesterona en la sangre y la muerte embrionaria se registra que al realizar la detección a los 45 días cuando existió una reabsorción embrionaria los niveles de progesterona fueron valores de 1.73 ng/ml y 0.36 ng/ml, además se habla de muerte

embrionaria temprana a aquella que ocurre desde el momento de la fecundación hasta el día 14, la cual corresponde a la etapa de desarrollo temprano; la muerte del embrión tardía sucede a partir del día 14 hasta el día 45, donde sucede el reconocimiento materno de la gestación y se da la implantación del embrión en el útero.

Al respecto la progesterona es una hormona que regula los cambios que deben ocurrir en el oviducto y en el útero, pues permite que el embrión reciba nutrientes y sustancias que estimulan un buen desarrollo. Alteraciones o anomalías en la función lútea, hacen que se genere menor cantidad de P4, por consiguiente, el desarrollo embrionario será más lento y tendrá menor capacidad de producir el Interferón tau (INFt), debido a que no mantiene un equilibrio entre progesterona-estradiol, lo cual hace más sensible la secreción de prostaglandina F2 a (PGF2 α) y conllevar a la lisis del cuerpo lúteo (CL).

(Sartori, 2021), indica que bajas concentraciones de prostaglandina (P4), después de la ovulación o un retraso en el incremento de ésta, están relacionados con un pobre desarrollo embrionario y pérdida de este. De la misma manera Según (Pursley, 2011), reporta que las vacas lactantes disminuyen a la mitad los niveles de prostaglandina P4, comparadas con novillas; esta disminución, puede provocar la prolongación de vida del folículo produciendo pulsos de hormona luteinizante (LH), teniendo características similares al de un folículo persistente. Los embriones producidos a partir de estos ovocitos podrían ser menos competentes para desarrollarse, lo cual podría conllevar a una muerte embrionaria temprana; en comparación con los ovocitos de novillas.

CAPÍTULO V

5. PROPUESTA

5.1. Protocolo para el diagnóstico ultraprecoz de gestación en bovinos lecheros con la técnica doppler

Se selección los animales que estén inseminados hace 22 días y que no hayan presentado celo, se realiza la exploración transrectal con el uso del transductor nos dirigimos a ovarios sobre el cuerpo lúteo y con la técnica doppler observamos los colores la cual determinaran el flujo de sangre y la irrigación sanguínea del CL, si tenemos una irrigación sanguínea central de más del 75% podemos decir que la vaca esta gestante

5.1.1. Antecedentes

La función reproductiva del ganado bovino es uno de los aspectos que más repercuten en la rentabilidad económica del sistema de producción y es uno de los aspectos a los que hay que prestar más atención cuando se persigue una producción eficiente. Para ello, debe hacerse un diagnóstico general del estado reproductivo de la explotación utilizando herramientas disponibles en el mercado, una de las cuales es la ecografía. Los veterinarios prefieren cada vez más este método, ya que permite el diagnóstico y la monitorización del aspecto reproductivo de una manera precisa, rápida, no invasiva y en tiempo real.

La ecografía es una técnica de diagnóstico por imagen sobre la base de la emisión de ultrasonidos y la recepción de ecos. Estos ecos se producen por la reflexión de los ultrasonidos a nivel de los distintos tejidos. Cuanto mayor sea la reflexión, mayor intensidad tendrán los ecos, pero menor cantidad de ultrasonidos serán capaces de seguir avanzando y mandar información.

En el formato de imagen llamado modo B, estos ecos van e ser presentados como puntos de brillo, que serán tanto más brillantes cuanto mayor sea la reflexión, y serán en una posición proporcional al tiempo que han tardados en ser recibidos. La imagen ecográfica se corresponde con el conjunto de puntos de brillo, que representa un corte anatómico de la región examinada. Los órganos o tejidos serán híper, hipo o anaecogénicos, según la cantidad de ultrasonidos que reflejen.

Es por ello que la presente propuesta constituye una herramienta que orienta el desarrollo reproductivo de los bovinos utilizando la técnica de ecografía por si eficacia, exactitud,

fiabilidad ya que su aplicación confirma o desestima la valoración realizada por palpación rectal, constituyendo un medio diagnóstico de certeza en la dinámica de las ondas foliculares, desarrollo del cuerpo lúteo, la determinación del estado de gestación precoz, sexado de las crías y la evaluación de los procesos patológicos del sistema reproductor, entre otros usos.

5.1.2. *Objetivo*

Conocer los principios básicos en el uso correcto de la ultrasonografía con la técnica doppler y su aplicación a la reproducción bovina.

5.1.3. *Alcance*

La ventaja que ofrece la aplicación de la ultrasonografía reproductiva radica en que esta reduce el intervalo IA-diagnóstico de gestación, frente al tradicional tacto rectal cuya aplicación es más tardía, ya este método posibilita mejorar la eficiencia productiva de los hatos.

5.1.4. *Descripción de procesos*

5.1.4.1. *Elección del equipo*

Un equipo de alta resolución y buena calidad es indispensable para la exploración del sistema musculo esquelético y articular. La elección del transductor dependerá del tipo de estudio por realizar.

5.1.4.2. *Examen del útero*

El útero se examina en toda su dimensión con cortes transversales, longitudinales y oblicuos. Si los cuernos están vacíos es relativamente fácil su identificación mediante la visualización en la pantalla de redondeles de 2 a 4 cm de diámetro, pero si la vaca está en celo, entonces la luz uterina se observa con exudados, apreciándose una imagen de estrella oscura (anecogénica) en toda la longitud del cuerno.

5.1.4.3. *Examen ecográfico del aparato genital de la vaca (ovarios)*

El examen de los ovarios se debe realizar en forma similar a la exploración rectal, colocando el transductor a ambos lados del útero y realizando un barrido de la zona hasta localizar los ovarios. Los folículos se muestran a través de imágenes no ecogénicas de color negro en forma

redondeada o en estructuras irregulares debido a la compresión de los folículos adyacentes, al cuerpo lúteo y a la compresión de los folículos por el estroma ovárico.

5.1.4.4. Exploración del Cuerpo Lúteo

La exploración del cuerpo lúteo (CL) se muestra evidente en imágenes ecográficas alrededor de los 2 - 3 días posteriores a la ovulación. Esta estructura es hipocogénica en la vaca, algo oscura y redondeada con 1,5 a 3,5 cm de tamaño en correspondencia con los estadios del CL hemorrágico, CL maduro o CL en regresión.

5.1.4.5. Diagnóstico de Quistes Foliculares

El diagnóstico de quistes ováricos se deberá realizar sobre la base del análisis de imágenes visuales de los ovarios con estructuras redondeadas anecoica de un tamaño superior a 25 mm que son persistentes y provocan que la vaca no cicle normalmente. Es importante diferenciar estas imágenes de otras similares que pueden ser artefactos.

5.1.5. Diagnóstico de gestación

Se recomienda no realizar el diagnóstico antes de los 28-30 días, para obtener altos niveles de precisión, este proceso se basa en la observación de la presencia de líquido uterino intraluminal, el cual se muestra a través de imágenes no ecogénicas, como en el caso de los folículos, por lo que es posible observar el embrión como una imagen ecogénica a partir del 27 posterior a la fecundación con una especificidad del 86%. En este caso, el eco- Doppler puede facilitar la determinación de la presencia y la vitalidad del embrión, al ser más fácil identificar el latido cardíaco.

Es fundamental que se realice la confirmación de la gestación ya que con esta actividad estamos seguros de que la vaca está preñada o vacía, o en su caso si esto fue interrumpido llevar a cabo medidas de manejo para esta vaca, como sería una nueva inseminación artificial o monta natural

5.1.6. Periodo de capacitación en el uso del ecógrafo

En el protocolo de aplicación de la técnica de Diagnóstico ultraprecoz doppler a los 22 días es necesario tener un periodo de capacitación al técnico o persona que se encargara de la manipulación del equipo con la finalidad de conocer el tiempo y poder hacer recomendaciones para el entrenamiento en el uso del ecógrafo para lo cual se reporta lo siguiente.

- Es un requisito tener un entrenamiento a la persona que manipulará el equipo previo la realización de la exploración transrectal, es suficiente que el personal sea capaz de identificar las principales estructuras anatómicas del aparato reproductor femenino de la vaca como son la cérvix, cuerpo del útero, cuernos uterinos y ovarios. Se considera muy importante capacitarlo para que posea esta habilidad pues se facilita la capacitación en la interpretación de imágenes, debido a que al palpar una estructura conocida se relaciona con la imagen que proyecta el ecógrafo o equipo doopler.
- Se recomienda que esta capacitación este formada por sesiones de 1 hora seguidas de un descanso de 1 hora y un máximo de tres sesiones por día. Es necesario el conocimiento de que en el examen ecográfico transrectal doopler entre los días 26 y 33, es una etapa, en que el embrión mide aproximadamente 1cm.
- Al encontrarse valores muy altos o muy bajos de longitud del embrión puede deberse a múltiples factores entre los cuales se cuenta la falta de experiencia en el uso del ecógrafo, como es el enfocar la imagen del feto, posición del útero, número de partos de la vaca, luminosidad del ambiente forma del feto para medirlo con exactitud.

5.1.7. Impacto económico en relación a los días abiertos

Comúnmente se realiza un chequeo ginecológico a los 45 días pos-inseminación vía rectal por palpación o ecografía, Con la técnica doppler utilizada en la presente investigación reducimos considerablemente los días abiertos ya que podemos predecir si una vaca esta gestante a los 22-23 días pos-inseminación artificial la cual se ahorra 23 días abiertos, considerando que el costo por día abierto y por vaca es de 5 dólares

Por lo tanto, el diagnóstico ultraprecoz de la gestación necesita un mínimo de experiencia y especial cuidado; sobre todo se debe confirmar posteriormente la preñez, ya que existe una tasa normal de reabsorción embrionaria y la vaca vuelve a estar vacía. Desde este punto de vista, la ecografía no es una técnica que sustituye el control de la gestación por palpación rectal, que con la adecuada experiencia de la persona que la realiza es confiable, rápido y económico, pero si se considera una ayuda valiosa, particularmente para casos dudosos, de urgencia, animales de alto valor genético y económico y en vacas repetidoras.

CONCLUSIONES

- Utilizando la técnica Doppler al flujo sanguíneo del cuerpo lúteo se logró determinar que 93,3% de las vacas se encontraron en estado de gestación, con esto se concluye que el uso de la técnica doppler es eficaz para diagnosticar gestaciones tempranas siendo una herramienta útil para los profesionales dedicados a la reproducción bovina.
- En conclusión, al valorar la irrigación sanguínea del cuerpo lúteo a los 22 días post inseminación en esta investigación se considera una vaca con gestación positiva cuando el CL alcanza un tamaño de 30 mm con una irrigación sanguínea central y periférica $\geq 75\%$, y un nivel de progesterona de ≥ 5.24 ng/ml
- Además, al utilizar la ecografía con la técnica doppler lograremos reducir los días abiertos y por ende el intervalo entre partos porque se realiza el diagnóstico temprano de gestación, de esta manera podemos ayudar económicamente a los pequeños, medianos y grandes ganaderos de la provincia.

RECOMENDACIONES

- Se recomienda utilizar la ultrasonografía con la técnica doppler porque es más efectiva y se puede diagnosticar preñeces tempranas y problemas reproductivos.
- Se recomienda la aplicación de este método porque ha demostrado que el diagnóstico por ecografía es una técnica de alta exactitud, fiabilidad, especificidad y sensibilidad en la determinación temprana de gestación de vacas, para realizar lo que asegura un mejor manejo y cuidado, así como en la interpretación de las imágenes, para lograr así, el mejor aprovechamiento de esta herramienta tecnológica.
- Se debe realizar más investigaciones de diagnóstico ultra precoz de gestación en vacas porque es una herramienta eficaz, útil e innovador para la reproducción bovina.

BIBLIOGRAFÍA

- BELLENDÁ, Germánico.** La ultrasonografía aplicada a la calidad y capacidad carnicera en el animal vivo. [En línea] Produccion animal , 2002. Disponible en:
<http://www.Producción-animal.com.ar/portal.htm>.
- BRITO, Mònica.** *Efecto de la progesterona post inseminacion en la preñez en vacas holstein post parto.* Universidad De Cuenca, Cuenca - Ecuador : 2013. Disponible en:
<http://dspace.ucuenca.edu.ec/handle/123456789/404>
- CUNININGHAM, James.** *Fisiología veterinaria.* Segunda edición. Barcelona, España : Elsevier, 2005.
- DUBUC, Joseph & HOULE, Jairo & ROUSSEAU, Meisis &, ROY, Ernest.** Comunicación breve: precisión de la ecografía Doppler de flujo de color del cuerpo lúteo para diagnosticar la falta de gestación en vacas lecheras el día 21 después de la inseminación. [En línea] 12 de Abril de 2020. Disponible en:
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31759602/>.
- ESPAÑA, Fidelina.** *Estudio comparativo de la eficacia del diagnóstico precoz de gestación en vacuno mediante ecografía luteal y progesterona plasmática.* Universidad del Zulia, Maracaibo, Venezuela: 2004. Disponible en:
<https://www.redalyc.org/pdf/959/95911219004.pdf>
- ESPINOZA, Federico.** Fisiología de la reproducción bovina. [En línea] 2015. [Citado el: 17 de Enero de 2020.] Disponible en:
http://axonveterinaria.net/web_axoncomunicacion/criaysalud/36/cys_36_40-41_Fisiologia%20de%20la%20reproduccion%20bovina.pdf.
- FRICKE, Paul.** Estrategias Agresivas de Manejo Para Mejorar la Eficiencia Reproductiva de Vacas Lecheras en Lactancia. [En línea] 12 de Abril de 2019. Disponible en:
<https://1library.co/document/y60o777y-estrategias-agresivas-manejo-mejorar-eficiencia-reproductiva-lecheras-lactancia.html>.
- GALINA, Josheph.** *Reproducción de animales domésticos.* Tercera edición . Mexico DF, Mexico : Limusa, 2008.

- GALINA, Ernesto.** *Reproducción de animales domésticos*. Segunda, edición. México D.F, México : Limusa, 2008.
- GIL, Andersson.** *Afecciones Reproductivas de la vaca, estudiadas mediante determinaciones de progesterona en la leche*. Guanajuato, México : El Condde, 2008. Vol. Vol 15.
- GONZÁLEZ, Carlos.** *Principios físicos de la ultrasonografía. Reproducción Bovina*. Maracaibo, Venezuela : STAGNARO , 2009.
- GRANADOS, Luz & ZAPATA, Francisco.** *Comparación de los perfiles de progesterona*, Universidad San Francisco de Quito, Quito, Ecuador : 2015. Disponible en:
<http://repositorio.usfq.edu.ec/handle/23000/4215>
- GUADAMUD, Christian.** *Detección temprana de preñez en ganado de carne con prueba ELISA usando kit IDEXX Rapid Visual Pregnancy Test®*. Escuela Agrícola Panamericana Zamorano, Francisco Morazán, Honduras : 2017. Disponible en:
<http://hdl.handle.net/11036/6099>
- GUILHERME Pugliesi, Gabriela Dalmaso de Melo, Júlio Barboza Silva, Alexandre Sardinha Carvalhedeo, Everton Lopes, Emivaldo de Siqueira Filho, Luciano Andrade Silva, Mario Binelli.** *Use of color-Doppler ultrasonography for selection of recipients in beef cattle*. s.l. : Theriogenology, 2019.
- GUTIÉRREZ, Diana & BÁEZ, Giovanni.** *La Ultrasonografía en bovinas* . [En línea] 12 de Agosto de 2021. Disponible en:
<https://revistas.ufps.edu.co/index.php/respuestas/article/view/12>.
- HAFEZ, Ernesto & HAFEZ, Bernabe.** *Reproducción e inseminación artificial en animales* . Septima edición . Baja California : McGraw-Hill, 2000.
- HERNANDEZ, Joel.** *Manual de la materia: Práctica de profundización en Manual de la materia: Práctica de profundización en lecheros*. [En línea] 2016. [Citado el: 12 de Febrero de 2020.] Disponible en:
http://www.fmvz.unam.mx/fmvz/licenciatura/coepa/archivos/manuales_2013/Manual%20de%20Practicas%20de%20Profundizacion%20en%20Reproduccion%20Animal%20%28Bovinos%20Lecheros%29.pdf.

IDROVO, Tania. *Evaluación de la tasa de preñez en vacas repetidoras con la aplicación de eCG al momento de inseminación artificial.* Universidad Politécnica Nacional, Cuenca , Ecuador : 2016.

INSTITUTO NACIONAL DE METEOROLOGIA E HIDROLOGIA,. *Registros de las condiciones meteorológicas del canton Riobamba.* Riobamba : INEMIN, 2019.

JIMÉNEZ, Carmen. Superovulación: estrategias, factores asociados y predicción de respuesta superovulatoria en bovinos. [En línea] Revista de la Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia, 2021. [Citado el: 5 de Julio de 2021.]. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=407639221005>.

LAFUENTE, Carmen & MARÍN, Ainhoa. *Metodologías de la investigación en las ciencias sociales: Fases, fuentes y selección de técnicas* Revista Escuela de Administración de Negocios, . Bogota : Universidad EAN , 2008.

LAYME, Pedro. *Efecto de GnRH y eCG en la tasa de concepción y niveles séricos de progesterona en vacas inseminadas a celo natural.* Universidad Nacional del Altiplano , Puno, Perú : 2018.

LLAMAS, Estuardo. *Diagnóstico y edad de gestación determinados por palpación rectal y ultrasonografía.* 44, 43-50. Tercera edición . Guanajuato. México : Arch. Zootec , 2008.

MARTÍNEZ, Judith. *Diagnóstico ultraprecoz de gestación en el ganado vacuno mediante la exploración ecográfica del cuerpo lúteo y determinación del sexo del feto mediante valoración de los niveles plasmáticos de testosterona".* Universidad de Leon, Buenos Aires , Argentina : 2008. Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/tesis?codigo=19924>

MUÑOZ, Rodrigo. *Efecto de la Somatropina Recombinante Bovina (rBST) sobre la tasa de concepción en vacas Holstein sincronizadas con dispositivos intravaginales con Progesterona y Benzoato de Estradiol e inseminadas a tiempo fijo.* Universidad de Cuenca, Cuenca, Ecuador : 2013. Disponible en: <http://dspace.ucuenca.edu.ec/handle/123456789/507>

OSTROWSKI, Jorge. *Biología y Patología de la reproducción de los bovinos.* segunda edición . Buenos Aires, Argentina : El Ateneo, 2007.

- PALMA, Gustavo.** *Biotecnología de la reproducción.* Segunda . Buenos Aires : Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, 2001 .
- PEREA, Francisco.** *Manual de Ganadería Doble Propósito: Ecografía reproductiva.* Segunda . Trujillo : Núcleo Universitario Rafael Rangel, Universidad, 2012.
- PIERRE, Marriot & , MARTÍNEZ, Bernabe & MÉNDEZ, María.** *Uso de la ecografía en la reproducción del ganado vacuno. Frisona Española* -. Segunda Edición . Barcelona : Temario del Criador , 2007.
- PITTI, José & SÁNCHEZ, Diana & HINCAPIÉ, John & MATAMOROS, Isidro & TREJO, Celia.** *Concentración de progesterona y porcenta de preñez en vacas tratadas con GNRH pos inseminación artificial.* Escuela Agrícola Panamericana, El Zamorano, Honduras : 2012. Disponible en: <https://bdigital.zamorano.edu/bitstream/11036/1080/1/T3354.pdf>
- PUGLIESI, Guilherme.** *Uso de ecografía Doppler color para la selección de receptores en programas de transferencia de embriones cronometrados en ganado de carne.* National Lybrary of Medicine , Los Angeles , Estados Unidos : 2019.
- PURSLEY, Richard & MARTINS, João.** Incrementando la fertilidad de vacas lecheras en lactancia. *Articulo Cientifico del Departamento de Ciencia Animal*,. Michigan : Dairy Review, 2011. Vol. Vol. 16, N° 2.
- QUINTELA, Larry & , DÍAZ DE PABLO, Cecilian & , BECERRA, Jeronimo & GARCÍA, Erasmo.** *Atlas de ecografía en la vaca.* Segunda. Barcelona, España : RIPLEA, 2012.
- RANGEL, Lucia & ALARCON, Marco & GALINA, Carlos.** *Manual de Reproduccion Animal.* Mexico D.F. : Universidad Autonoma de Mexico, 2009.
- RÍOS, Francisca.** *Evaluación del uso de proteínas asociadas a la gestación (PAG) como alternativa para el diagnóstico de gesdtación temprana en ganado Holstein Friesian.* Universidad Austral de Chile, Valdivia, Chile : 2013.
- RODRÌGUEZ, Marco.** *Las Glicoproteínas asociadas a la gestación detectadas mediante la técnica de Elisa es un metodos confiable y seguro en el diagnóstico temprano de la*

preñez en vacas Holstein. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Ciudad de México, México : 2012.

RODRÍGUEZ, Sergio. *Influencia del tamaño del cuerpo lúteo, sobre la tasa de preñez, en vacas de la raza brahman, sincronizadas a tiempo fijo, para transferencias de embriones producidos In vitro*". Universidad Autónoma Del Estado De México, Toluca, México : 2017.

ROSNER, Maria. Gestación, parto y cuidados del ternero al nacimiento en bovinos de cría. [En línea] 2016. [Citado el: 11 de Enero de 2020.] Disponible en: https://inta.gob.ar/sites/default/files/inta_gestacion_parto_y_cuidados_del_ternero_al_nacimiento_en_bovinos_de_cria_0.pdf.

RUPÉREZ, Reinaldo. *Diagnóstico del sexo fetal por ecografía en la vaca*. Tercera edición . Buenos Aires, Argentina : Tamayo, 2007.

SARTORI, Reinaldo. Mortalidad embrionaria en bovinos lecheros . [En línea] Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnología, 19 de Abril de 2021. Disponible en: <https://ganaderiasos.com/wp-content/uploads/2016/10/mortalidad-embionaria-en-bovinos-lecheros.pdf>.

SIQUEIRA, Leonard. La ecografía transrectal Doppler en reproducción bovina. [En línea] 2014. [Citado el: 12 de Enero de 2020.] Disponible en: <https://www.reproduction.com/es/Trials-y-Articulos/2014.01.03-La-ecografia-transrectal-Doppler-en-reproduccion-bovina>.

SIQUEIRA, Luiz. Características vasculares y morfológicas del cuerpo lúteo 12 a 20 días después de la inseminación artificial programada en ganado lechero. [En línea] 12 de Agosto de 2020. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30954257/>.

SUÁREZ, Andres. *“Eficiencia De La Inseminación Artificial Al Primer Servicio Por La Técnica Transvaginal En Hembras Bovinas De La Hacienda El Prado.”*. Universidad Técnica De Ambato, Cevallos- Ecuador : 2015.

TAMAYO, Thomas. *La ecografía como medio diagnóstico y evaluación de los procesos reproductivos en el bovin.* Segunda Edición . San José, La Habana, Cuba : Departamento de Clínica, Facultad de Medicina Veterinaria, 2010 .

TEJERO, Judith. Diagnóstico ultraprecoz de gestación en el ganado vacuno mediante la exploración ecográfica del cuerpo lúteo y determinación del sexo del feto mediante valoración de los niveles plasmáticos de testosterona. [En línea] 12 de Abril de 2021. Disponible en:

https://dialnet.unirioja.es/servlet/tesis?codigo=19924&fbclid=IwAR3RkhuHU4n1zl_moflSwmali4ewerAMjUR9Hy84vbfdWVe5fakIq__ygvw.

VÉLEZ, Martina & HINCAPIÉ, Ismael & MATAMOROS, Renato & SANTILLÁN, Rene. *Producción de ganado lechero en el trópico.* Cuarta edición. Zamorano : Zamorano Academic Press, 2002.

WABERSKI, Walter. *Manual de inseminación artificial de los animales domésticos y de explotación zootécnica.* segunda edición . Zaragoza : Ecumenico., 2007.

ANEXOS

Anexo A: Estadísticas descriptivas de la variable niveles de progesterona en la leche

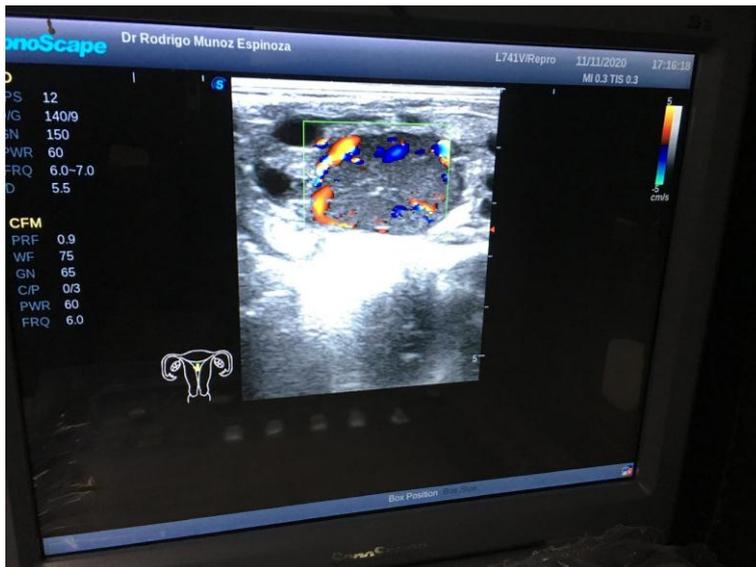
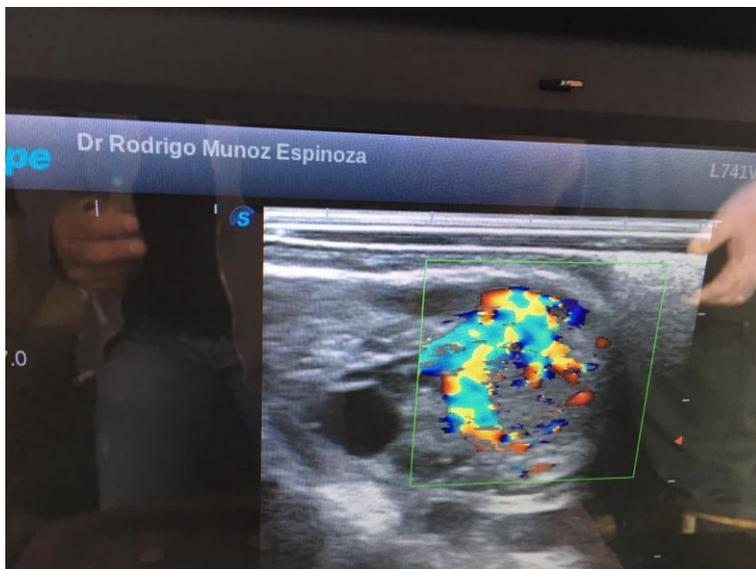
Regla de strugert	Clase	Límite inferior	Límite superior	Marca de clase	Frecuencia absoluta	Frecuencia abs acumulada	Frecuencia relativa	Frecuencia
$1+3.322*\log_{10}(3 \text{ datos})$	1	0	6	3	7	7	0.23	23.33
	2	7	13	10	13	20	0.43	43.33
	3	14	20	17	7	27	0.23	23.33
# de datos	10.81	4	21	27	24	3	0.10	10.00
Valor máximo	25.84	5	28	34	31	0	1.00	100.00
Valor mínimo	0.15				30			
Rango	25.69							
Numero de intervalos K	5	6						
Amplitud	5.138							

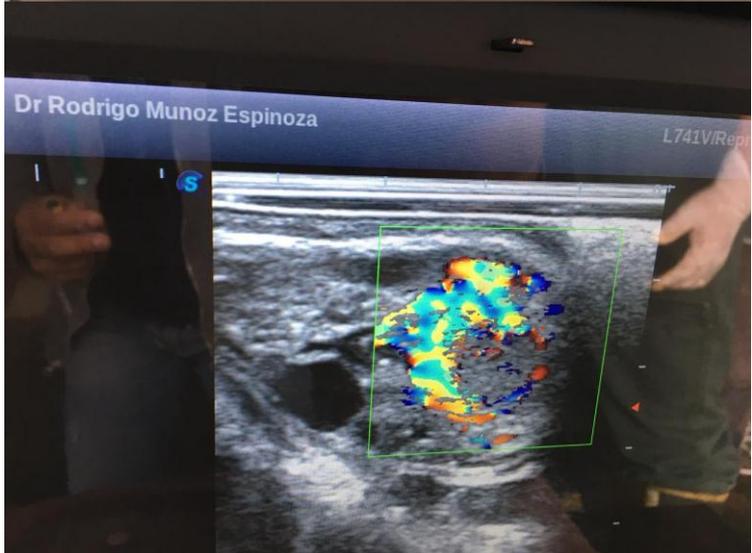
Polígono de Frecuencia	
Marca de clase	Frecuencia absoluta
1	0
3	7
10	13
17	7
24	3
31	0
0	0

ESTADÍSTICAS DESCRIPTIVAS	
Media	10.81
Error típico	1.15
Mediana	10.55
Moda	#N/A
Desviación estándar	6.31
Varianza de la muestra	39.87
Curtosis	0.07
Coficiente de asimetría	0.28
Rango	25.69
Mínimo	0.15
Máximo	25.84
Suma	324.17
Cuenta	30.00

Anexo B: Evidencia fotográfica









ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

**DIRECCIÓN DE BIBLIOTECAS Y RECURSOS DEL APRENDIZAJE
UNIDAD DE PROCESOS TÉCNICOS Y ANÁLISIS BIBLIOGRÁFICO Y DOCUMENTAL**

REVISIÓN DE NORMAS TÉCNICAS, RESUMEN Y BIBLIOGRAFÍA

Fecha de entrega: 16 / 12 / 2021

INFORMACION DEL AUTOR/A (S)
Nombres – Apellidos: <i>Jhomatan Fabricio Valdivieso Vallejo</i>
INFORMACION INSTITUCIONAL
<i>Instituto de Posgrado y Educación Continua</i>
Título a optar: <i>Magister en Reproducción Animal mención Reproducción Bovina</i>
f. Analista de Biblioteca responsable: <i>Lic. Luis Caminos Vargas Mgs.</i>



0122-DBRAI-UPT-IPEC-2021



Traducción IPEC



MARLIN JANETH KHAMASHTA...

9 dic.

Para Tu usuario y Centro de Idiomas



RESUMEN tesis1
DOCX - 18 KB

Buenas noches,
Adjunto la traducción requerida.

Atentamente,
Lic. Marlin Khamashta.

Gracias por la traducción.

Muchas gracias.



Responder a todos

