

## COMPARATIVE EVALUATION OF TWO METHODS OF EARLY PREGNANCY DIAGNOSIS IN BOVINES IN THE CENTRAL HIGHLANDS OF PERU

### Evaluación comparativa de dos métodos de diagnóstico precoz de gestación en bovinos en la sierra central del Perú

Fernando Arauco Villar<sup>1\*</sup>, Noemí Mayorga Sánchez<sup>1</sup>, Ronald Damas Huamán<sup>1</sup>, Ide Unchupaico Payano<sup>1,2</sup>, Carlos Quispe Eulogio<sup>3</sup>, Alex Huamán De La Cruz<sup>2,4</sup>

- 1 Facultad de Zootecnia, Universidad Nacional del Centro del Perú (UNCP), Huancayo-Perú.
- 2 Escuela Profesional de Ingeniería Ambiental, Universidad Nacional Intercultural de la Selva Central Juan Santos Atahualpa, La Merced-Perú.
- 3 Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Peruana Los Andes, Huancayo-Perú.
- 4 Escuela Profesional de Ingeniería Ambiental, Universidad Peruana Unión, Naña-Perú

\* Corresponding author: Fernando Arauco Villar. E-mail: faraucov@gmail.com

Recibido: 31/07/2022

Aceptado: 05/09/2022

Publicado: 31/03/2023

#### ABSTRACT

An early diagnosis of pregnancy in bovine is of great importance because this improves farmers' profitability, avoiding any delay in fertilization or significant economic losses. Thus, the objective of this study was to evaluate and compare two diagnostic methods of pregnancy: determination of pregnancy-associated glycoproteins (PAG) and transrectal ultrasound, for which 46 animals (14 heifers and 32 cows) of the Brown Swiss breed were evaluated between 3 and 8 years old and with a body condition between 2.8 - 3.5, considering two periods (28 and 35 days) post service, collecting blood samples from the coccygeal vein of the animals to perform the serological test and simultaneously performing the transrectal ultrasonography technique; 60 days after service, rectal palpation was performed, according to the establishment's protocols, to detect the animals' pregnancy or not. Of the 100% of animals with which the work began, 17.4% returned to heat and 30.4% were diagnosed as pregnant and 52.2% empty. Both diagnostic methods had a "very good" kappa concordance index ( $\kappa = 0.95$  and  $0.89$  for 28 and 35 days respectively). The serological method in relation to rectal palpation had a concordance of 0.78 and 0.89 for days 28 and 35 respectively, while the ultrasonography obtained concordances of 0.833 and 1.00 for days 28 and 35. To the MacNemar test, serological and ultrasound diagnoses made at 28- and 35-days post-service have not changed significantly. The sensitivity values at 28 and 35 days for both methods were 92.9% and 100.0%, and specificity for the immunological method 87.5% and 91.7%, and with the ultrasonography 91.7% and 100.0%, at 28 and 35 days respectively. The positive predictive values (PPV) for the serological method were 81.3% and 81.25%, and with the ultrasonography 95.65% and 100%, at 28 and 35 days. 5.3% of cases were interpreted as cases of late embryonic abortion, which requires further investigation, so we have to consider the experimental error. Both methods of pregnancy diagnosis are very reliable and precise, from day 28 post service, being the immune diagnosis method with the detection of PAG proteins in the serum more versatile from the practical point of view.

**Keywords:** immunodiagnostic, ultrasonography, gestation diagnosis, sensitivity, specificity, VPP, VPN

#### RESUMEN

Un diagnóstico precoz del embarazo en bovino es de gran importancia económica porque mejora la rentabilidad de los ganaderos evitando cualquier retraso en la fecundación o pérdidas económicas significativas. Así, el objetivo de este estudio fue evaluar y comparar dos métodos diagnósticos del embarazo: determinación de glicoproteínas asociadas al embarazo (PAG) y la ecografía transrectal, para lo cual se evaluaron 46 animales (14 vaquillonas y 32 vacas) de raza Brown Swiss entre los 3 y 8 años y con una condición corporal entre 2.8 - 3.5, considerando dos periodos (28 y 35 días) post servicio, colectando muestras de sangre de la vena coccígea de los animales para la realización de la prueba serológica y realizando simultáneamente la técnica de ultrasonografía transrectal; a los 60 días post servicio se realizó la palpación rectal, de acuerdo con los protocolos del establecimiento, para detectar la preñez o no de los animales. Del 100% de animales con que se inició el trabajo, 17.4% retornaron al celo y 30.4% fueron diagnosticadas como preñadas y 52.2% vacías. Ambos métodos de diagnóstico tuvieron entre sí un índice de concordancia kappa "muy bueno" ( $\kappa = 0.95$  y  $0.89$  para los 28 y 35 días

respectivamente). El método serológico con relación a la palpación rectal tuvo una concordancia de 0.78 y 0.89 para los días 28 y 35 respectivamente, mientras que el ultrasonógrafo obtuvo concordancias de 0.833 y 1.00 para los días 28 y 35. A la prueba de MacNemar los diagnósticos serológico y ecográfico efectuados a los 28 y 35 días post servicio no han variado significativamente. Los valores de sensibilidad a los 28 y 35 días para ambos métodos fueron 92.9% y 100.0%, y de especificidad para el método inmunológico 87.5% y 91.7%, y con el ultrasonógrafo 91.7% y 100.0%, a los 28 y 35 días respectivamente. Los valores predictivos positivos (VPP) para el método serológico fueron 81.3% y 81.25%, y con el ultrasonógrafo 95.65% y 100%, a los 28 y 35 días. Un 5.3 % de casos se interpretó como casos de aborto embrionario tardío, lo cual requiere de mayor investigación, pues también debemos considerar el error experimental. Ambos métodos de diagnóstico de preñez son muy confiables y precisos, a partir del día 28 post servicio, siendo el método de inmunodiagnóstico con la detección de proteínas PAG en el suero más versátil desde el punto de vista práctico.

**Palabras clave:** inmunodiagnóstico, ultrasonografía, diagnóstico gestación, sensibilidad, especificidad, VPP, VPN

## INTRODUCCION

Una preocupación latente para todos los productores de ganado bovino lechero es alcanzar y mantener los niveles de rentabilidad en función a sus inversiones realizadas. Para ello, es vital que la vaca responda a la exigencia ideal de una lactancia por año. De la Torre et al. (2006) indican que indica que intervalos parto-preñez (IPP) prolongados ocasionan menor número de nacimientos, gastos de semen y servicios veterinarios y mortalidad embrionaria; ello se va a traducir en una disminución en los nacimientos de terneros y productos lácteos por año, reduciendo la rentabilidad y la estabilidad de la unidad de producción Torres-Aburto et al. (2020). Un diagnóstico temprano de la preñez podría evitar esos problemas, corregir u optimizar la eficiencia reproductiva del ható lechero, permitiendo que vacas vacías queden preñadas tempranamente (Bekele et al., 2016; Momont 1990). En adición, como entre 14 a 16% de las vacas experimentan pérdida de gestación antes de los 56 días de preñez, es vital confirmar esta gestación a los 60 días (López, 2011; Fricke et al., 1998; Mee et al., 1994; Wiltbank et al., 2016).

La recto palpación es el método más empleado (30-35 días post servicio), dado a su alta precisión, bajo costo y no requerir equipos especiales (Bekele et al., 2016; Broadus 2005; Oltenacu y Lednor 1990, Jaśkowski et al., 2019; Boryczko, et al., 2010; Momont, 1990). No obstante, este método es inadecuado para diagnosticar embarazo precoz y la viabilidad fetal, y evaluar el sexo. Si este método es aplicado de manera incorrecta o en periodos de tiempo temprano, puede generar riesgo sobre el feto o pérdida de preñez (Day et al., 1995; Jaśkowski et al., 2019).

Técnicas como la ultrasonografía transrectal y la identificación de glicoproteínas séricas (proteínas asociadas a la gestación o PAG - Pregnancy-Associated Glycoprotein) son técnicas novedosas que ayudan a diagnosticar la preñez precoz, detectan muerte embrionaria tempranamente, actúa como indicador de aborto precoz, permite hacer seguimiento de la reproducción, y explican la problemática de la baja eficiencia reproductiva de un ható lechero (Meziane et al., 2021).

Meziane et al. (2021) evaluaron y compararon dos métodos de diagnóstico de preñez detectando las proteínas séricas asociadas a la preñez (PAGs) y la ultrasonografía transrectal, aplicadas a 41 vacas de 3 a 6 años, evaluadas a los 28 días post inseminación, y a la ultrasonografía se determinó que 60,98% estaban preñadas y 39,02% no lo estaban, con una mortalidad embrionaria de 2,43%; la detección de PAG

mostró una sensibilidad y especificidad del 100 % y 93.75 %, respectivamente.

Actualmente, hay escasa información sobre la validación de estos nuevos métodos de diagnóstico de gestación precoz (entre 28 y 35 días post servicio) bajo las condiciones de sistemas productivos semi intensivos como los de la ganadería lechera bovina de la sierra y de qué manera podrían impactar en la eficiencia reproductiva de los hatos. Así, el objetivo de este trabajo fue comparar ambos métodos: glicoproteínas séricas asociadas con la preñez (PAGs) y la técnica de ultrasonografía transrectal, en vacas y vaquillas de la Estación Experimental Agropecuaria El Mantaro de la Región Junín, Perú.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Código de ética

El presente estudio fue realizado en función del Código de ética para experimentar con animales, como presentado en la siguiente normativa: [http://ec.europa.eu/environment/chemicals/lab\\_animals/legislation\\_en.htm](http://ec.europa.eu/environment/chemicals/lab_animals/legislation_en.htm)

### Lugar de ejecución

Este trabajo fue llevado a cabo en la Estación Experimental Agropecuaria (EEA) "El Mantaro", de la Universidad Nacional del Centro del Perú (UNCP), Provincia de Jauja, Región Junín, Perú (75° 16' 33" O; 12° 03' 19 S). Este lugar es un centro de producción e investigación dado que cuenta con diversos laboratorios relacionado a las ciencias agrarias. Asimismo, los análisis de laboratorio fueron realizados en el laboratorio de Microbiología de la UNCP, ubicado en la Ciudad Universitaria - El Tambo, Huancayo.

### De los animales

Se trabajo con lotes de vaquillonas y vacas de raza Brown Swiss que ingresaron a los programas de Inseminación Artificial a tiempo fijo (IATF) (Agromeat 2015) programados por la Coordinación del Programa de Ganadería de la EEA El Mantaro en el año 2021. Se seleccionaron 46 animales de buen estado de salud general (14 vaquillonas y 32 vacas), vacías y sin antecedentes recientes de problemas reproductivos, vacas entre 1 a 6 partos, con un rango de peso vivo desde los 480 a 580 kg, promedio de días postparto de  $142.7 \pm 89$ , número de lactancias  $1.9 \pm 1.0$ , condición corporal de  $3 \pm 0.5$  y producción diaria de leche promedio de  $16 \pm 4.0$  L. Los animales fueron manejados en un sistema semi-

intensivo sometidas a dos ordeños diarios, alimentados con una dieta basada en rye grass y trébol y concentrado, más agua ad libitum.

### Procedimiento

A todos los animales se les realizó un examen reproductivo por palpación rectal más ecografía transrectal para excluir vacas con patologías ováricas o uterinas. La unidad ganadera aplicó un programa de inseminación artificial a tiempo fijo (IATF) con el protocolo Ovsynch empleando 15 ug de busarelina (análogo de GnRH natural) y 0,53 mg de cloprostenol sódico (análogo sintético de la PGF2 $\alpha$ ); luego de 2 días, se aplicó una segunda dosis de busarelina y después de esta última aplicación se realizó la inseminación artificial a las 20 horas.

A los 28 días y 35 días post servicio, se aplicó el ultrasonógrafo vía transrectal para el diagnóstico de gestación (ecógrafo digital veterinario portátil Esaote Mod. Tringa, con transductor lineal rectal de 7.5 Mhz). El diagnóstico de gestación por ultrasonografía se basa en la presencia de líquido uterino intraluminal, el cual se muestra a través de imágenes no ecogénicas (como de los folículos), y ecogénicas (como el embrión); un miembro del equipo de investigación especializado en el uso del ecógrafo se encargó de realizar esta prueba.

Para el método de inmunodiagnóstico se utilizó el kit IDEXX Rapid Visual Pregnancy Test, para lo cual se colectaron muestras de sangre de la vena coxígea de acuerdo con el protocolo recomendado por la normatividad de bienestar animal, utilizando tubos vacutainer de 10 ml sin anticoagulante, adecuadamente rotulados y trasladados al laboratorio para la obtención del suero y su almacenamiento en congelación para los análisis correspondientes. El inmunodiagnóstico para detectar glicoproteínas asociadas a la preñez (Pregnancy Associated Glycoproteins - PAGs) en el suero sanguíneo, es el fundamento de la prueba visual rápida de preñez IDEXX y, de acuerdo con el fabricante, el momento óptimo de prueba es después de al menos 28 días post servicio; esta prueba se realizó en el Laboratorio a cargo de otro miembro del equipo de investigación. A los 60 días post servicio se realizó la palpación rectal para evaluar el estado de preñez o no de los animales.

### Análisis de la data

La data colectada en campo y laboratorio fueron organizadas en un Excel y transferidos al software estadístico SPSS vs. 26. La prueba no paramétrica del coeficiente de Kappa de cohen fue usada para contrastar los resultados del diagnóstico ultrasonográfico y el kit IDEXX Rapid Visual Pregnancy Test. Este método permite determinar el grado de concordancia entre dos mediciones categóricas, realizados por ambos métodos al mismo animal. Landis y Koch (1977) clasifican esta concordancia como: Muy Buena: 0.81-1.00, Buena: 0.61-0.80, Moderada: 0,41-0.60 y Pobre o Débil: < 0.40.

Para identificar si hubo modificaciones en los resultados de preñez tomados a los 35 días con respecto al día 28 con ambos métodos, fue empleado la prueba no paramétrica de McNemar.

Los parámetros de sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y valor predictivo negativo fueron obtenidos en base a los resultados del diagnóstico de preñez, siguiendo lo

recomendado por Vizcaino-Salazar (2017): i) verdadero positivo (VP) si el animal está preñado y es diagnosticado como tal; ii) falso positivo (FP) si el animal no está preñado, pero la prueba sale positiva; iii) verdadero negativo (VN) si la preñez no está presente y se le diagnostica vacía, y, iv) falso negativo (FN) si el animal está preñado pero se le diagnostica vacía.

La sensibilidad es el porcentaje de acierto para detectar como positivos a los animales preñados, y va de 0 % (nunca acierta) a 100 % (nunca se equivoca). El porcentaje de acuerdo con el gold standar al descartar la enfermedad se conoce como especificidad, que también va de 0 a 100 % (Díaz-García et al., 2019). En este estudio se compararon los resultados (positivos o negativos a la preñez) con el diagnóstico de gestación por palpación rectal realizado por el especialista de la unidad ganadera a los 60 días post inseminación, corroborado por la ecografía transrectal.

La sensibilidad y la especificidad miden la exactitud diagnóstica de una prueba, pero no logran estimar la probabilidad de enfermedad en un paciente individual. Para ello, se determinaron los valores predictivos positivos (VPP) y negativos (VPN) que ofrecen estimaciones de probabilidad de preñez. Un VPP corresponde a la probabilidad condicional de que el animal esté preñado, dado que la prueba resultó positiva, y un VPN corresponde a la probabilidad condicional de que el paciente no esté preñado, dado que la prueba diagnóstica resultó negativa (Bravo-Grau y Cruz, 2015).

## RESULTADOS

### Resultados del programa de IATF

La Tabla 1 muestra los resultados obtenidos de implementar el Programa IATF durante los periodos (28 y 35 días) de estudio. De la Tabla 1, es observado que del total de animales (n=46), el 6.5% (n=3) retornaron al celo antes del día 28 post inseminación, y el 10.9% (n=5) retornaron antes de los 35 días. Asimismo, el 82.6% (n=38) pasaron al diagnóstico por recto palpación a los 60 días post servicio, siendo 30.4% (n=14) y 52.2% (n=24), fueron diagnosticados como preñados y vacías, respectivamente.

**Tabla 1. Resultados del Programa de IATF durante el periodo del estudio**

N° animales que ingresaron al Programa IATF	N° animales con retorno al celo antes de 28 días	N° animales con retorno al celo antes de 35 días
46 (100%)	3 (6.5%)	5 (10.9%)

Vaq = vaquillona; V = vacas

El estatus reproductivo de los animales evaluados a los 60 días post servicio, es presentado en la Tabla 2, donde se puede apreciar que, porcentualmente, en el grupo de vaquillonas hubo un mayor número de preñadas (37.5%) y vacías (57.1%) con relación al grupo de las vacas; pero en contraste, el mayor retorno a celo fue presentado en las vacas (21.90%).

**Tabla 2.** Estado reproductivo a los 60 días post servicio.

Animal	Preñadas	Vacías	Retorno a celo
Vaquillona (n=14)	35.7 % (n=5)	57.1% (n=8)	7.20% (n=1)
Vaca (n=32)	28.1% (n=9)	50.00% (n=16)	21.90% (n=7)
Total (n=46)	30.40% (n=14)	52.20% (n=24)	17.40% (n=8)

### Evaluación de la concordancia entre los métodos de diagnóstico

**Tabla 3.** Resultados de los métodos de diagnóstico de preñez

Condición	Diagnóstico Ultrasonografía		Inmunodiagnóstico		Diagnóstico Recto-palpación
	28 días	35 días	28 días	35 días	60 días
<b>Preñada</b>	15	14	16	16	14
<b>Vacía</b>	28	24	27	22	24
<b>Total</b>	43	38	43	38	38

Tomando en cuenta los resultados obtenidos (Tabla 3), se ha elaborado el análisis de concordancia entre los métodos inmunodiagnóstico y ultrasonografía por categoría (Tabla 4). Basado a los valores reportado por el índice de Kappa (rango de 0.86 a 0.99) ambos métodos indican muy buena (0.81 a 1.00) concordancia basada en su categoría (vaquillonas y vacas) y días de post inseminación (28 y 35 días).

**Tabla 5.** Valores de Concordancia de los métodos de Inmunodiagnóstico y Ultrasonografía con la Recto palpación

Método diagnóstico	Inmunodiagnóstico		p-valor	Ultrasonografía		p-valor
	28	35		28	35	
Días post inseminación	28	35		28	35	
Índice de Kappa ( $\kappa$ )	0.78	0.89	0.07	0.83	1.00	0.06
Sig. aproximada	0.00	0.00		0.00	0.00	

### Determinación de la Sensibilidad, Especificidad, Valor Predictivo Positivo y Valor Predictivo Negativo

La Tabla 6 presenta los resultados de la sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo (VPP) y valor predictivo negativo (VPN) de ambos métodos y periodos. De la Tabla 5 el método de ultrasonografía con 35 días de post servicio presento un 100% para todas las variables evaluadas. En contraste, el método de inmunodiagnóstico únicamente mostro un 100% para dos variables (sensibilidad y VPN) con 35 días de post servicio. Ambos métodos con 28 días de post servicio mostraron valores menores al 100% en todas las variables evaluadas.

### Detección de abortos precoces

Al momento de hacer la primera evaluación, 5 animales fueron diagnosticados como vacíos por ambos métodos, a pesar de que no habían registrado retorno al celo. Sin embargo, antes de realizar la segunda evaluación a los 35 días post servicio,

**Tabla 4.** Valores de Concordancia entre los métodos de Inmunodiagnóstico y Ultrasonografía por Categoría

Categoría	Vaquillonas		Vacas	
	28	35	28	35
Días post inseminación	28	35	28	35
Índice Kappa ( $\kappa$ )	0.99	0.99	0.92	0.86
Sig. aproximada	0.00	0.00	0.00	0.00

### Evaluación de la concordancia y variación de los métodos de diagnóstico y la Recto palpación para los 28 y 35 días post servicio.

En la Tabla 5 se presenta los valores de concordancia entre los métodos de Inmunodiagnóstico y Ultrasonografía con la Recto palpación en los dos periodos de post servicio (28 y 35 días). De la Tabla 5 es notado que hay concordancia buena entre el método de inmunodiagnóstico con la recto palpación, mientras muy buena para los 35 días; para el método de ultrasonografía, es muy buena la concordancia a los 28 y 35 días post servicio. Asimismo, entre el método de ultrasonografía y la recto palpación fue encontrado una muy buena concordancia para ambos periodos (258 y 35 días).

Ambos métodos no mostraron diferencia significativa ( $p > 0.05$ , prueba McNemar) en función del resultado de diagnósticos, indicando que el número de individuos que dejaron de presentar la característica evaluada (preñez) es el mismo que el número de individuos que han realizado el cambio inverso. En pocas palabras, el estado reproductivo de los animales (preñada o vacía) no ha variado a los 28 y 35 días post servicio.

retornaron al celo entre los 30-33 días post servicio, lo cual podría atribuirse a un aborto precoz.

**Tabla 6.** Sensibilidad y especificidad y valores predictivos del inmunodiagnóstico y la ultrasonografía.

Método de diagnóstico	Periodo	Sensibilidad %	Especificidad %	VPP %	VPN %
Ultrasonografía	28 d	92.9	91.7	86.6	95.65
	35 d	100.0	100.0	100.0	100.0
Inmunodiagnóstico	28 d	92.9	87.5	81.3	95.45
	35 d	100.0	91.7	81.25	100.0

## DISCUSIÓN

El programa de IATF aplicado en la EEA El Mantaro y que ha permitido evaluar los métodos de Ultrasonografía y de Inmunodiagnóstico, han tenido un 30.4% de tasa de preñez y un 69.6% de no éxito (retorno al celo precoz y tardío, o animales diagnosticados como no preñados a la palpación rectal efectuada a los 60 días post servicio). La literatura existente da resultados muy variados en cuanto al éxito de los programas de IATF, en base a los productos utilizados para la sincronización de los celos. Toro (2020) reporta 36% utilizando benzoato de estradiol y 54% con cipionato de estradiol, mientras que Vela (2017) obtuvo un 66.7 % de preñez con buserelina y cloprostenol. Erbiti et al., (2018) reporta tasas de preñez de 38.1% (Co-Synch DIP por 5 días), 55.5% (con J-Synch) y 61% (con DIP por 7 días). Pérez et al., (2019) reporta tasas de preñez de 44.4, 33.3 y 66.7% para vacas en producción (<120 días), vacas en producción (>260 días) y vaquillas, respectivamente. Mendoza et al., (2013) obtuvo tasas de preñez de 37.6, 44.7 y 55.2% de preñez en hembras Holstein, Brown Swiss y criollas sincronizadas con progestágenos y eCG en zonas de 3500-3700 m de altitud. Gutiérrez-Reinoso et al., (2016) reportaron 40- 60% de preñez en 40 vacas Holstein a una altitud de 3173 m, sincronizadas con dispositivos intravaginales con progestágenos.

La tasa de preñez baja obtenida se puede explicar por el elevado número de hembras que a los 60 días post servicio estaban como vacías, pero sin presentar retorno al celo (52.2%). El no retorno al celo, luego de unos 21 días post servicio puede considerarse como un primer indicio de que el animal ha logrado concebir. Sin embargo, una vaca puede no retornar al celo debido a otras causas como presencia de un quiste ovárico o simplemente ha habido fallas en la detección de su celo.

Otro aspecto para considerar es que hasta que se complete la implantación, el riesgo de muerte embrionaria suele ser alto; se estima que de 10 a 20% de todas las preñeces terminan en muerte embrionaria. Si la muerte del embrión se presenta los primeros 17 a 18 días luego de la fertilización, la vaca retornar al celo en un programa regular y el productor puede no llegar a saber que el animal estuvo preñado. Una muerte embrionaria más tardía resultará en un retorno al celo demorado. En este caso, la vaca posee un ciclo estral "aparente" de 30 a 35 días. Por lo tanto, la muerte embrionaria puede ser fácilmente confundida como una falla de la vaca en concebir o entrar en celo (Wattiaux, 2016).

Pugliesi et al. (2017) mencionaron que la ultrasonografía puede constituirse como herramienta para complementar los programas de IATF en el ganado bovino, pues permite reducir a 24 días (diagnostica preñez de 20 a 22 días) el intervalo entre dos campañas de IATF, pues pueden programarse resincronizaciones a partir de los 14 días post servicio. Este método también permite caracterizar la perfusión vascular, evaluar la función del cuerpo lúteo, y seleccionar los embriones receptores con mayor receptividad en programas de transferencia de embriones a tiempo fijo.

Los valores del índice de Kappa de 0.95 y 0.89 a los 28 y 35 días post servicio, obtenidos al analizar la concordancia para los métodos de Inmunodiagnóstico y Ultrasonografía mostraron

"muy buena" concordancia (Landis y Koch 1977). Esto indica que se podría obtener resultados similares cuando se aplique cualquier método. Sin embargo, debe tenerse en cuenta que el coeficiente kappa no aporta información alguna sobre la cualidad del diagnóstico determinado por ambos métodos, pues está diseñado únicamente para estimar la magnitud de la concordancia entre ambos procedimientos. Por ejemplo, dos métodos diagnósticos pueden presentar una concordancia diagnóstica "casi perfecta" ( $k \neq 0,80-1,00$ ), no en tanto, ambos pueden estar "concordantemente equivocados" respecto al diagnóstico real (Cerdeira y Villarroel, 2008).

Considerando la categoría de los animales evaluados, para las vaquillonas la concordancia de ambos métodos fue la máxima ( $k=1.00$ ), para ambos, 28 y 35 días post servicio, y para las vacas fue algo menor, aunque dentro del nivel "muy bueno": 0.923 a los 28 días y 0.834 a los 35 días. En conclusión, se podría afirmar que cualquier método otorgará resultados concordantes, si es aplicado en vaquillonas o vacas. Usando el método estándar recto palpación (gold estándar) los 60 días post servicio, se evaluó la concordancia de ambos métodos de diagnóstico precoz de la preñez, obteniendo valores de kappa en el nivel "bueno (078) para el inmunodiagnóstico a los 28 días post servicio y "muy bueno" a los 35 días. Para el método de Ultrasonografía, la concordancia fue "muy buena" a los 28 y 35 días post servicio. Estos resultados nos demuestran que los resultados del diagnóstico de preñez con la Ultrasonografía son muy concordantes con la palpación rectal, con la ventaja adicional de un diagnóstico mucho más precoz que con el método convencional de la recto palpación. El inmunodiagnóstico también es muy concordante en sus resultados de diagnóstico a los 35 días, y un poco menos concordante a los 28 días.

Para ver si los dos métodos de diagnóstico son iguales o si, por el contrario, se produce algún cambio significativo, en los dos momentos de evaluación, se aplicó la prueba de McNemar con el fin de contrastar si el número de individuos que han dejado de presentar la característica evaluada (preñez) es el mismo que el número de individuos que han realizado el cambio inverso. Aquí se consideró un "Antes" (28 días post servicio) y un "Después" (35 días post servicio). Como el "p valor" para ambos métodos fue mayor a 0.05, indica que la ultrasonografía, aplicada a los 28 y 35 días post servicio, no variaron significativamente, haciendo consistente los resultados obtenidos dentro del intervalo de tiempo analizado. Palhão et al., (2019) refiere que a partir del día 25 post servicio, los resultados con ambos métodos son muy similares, pero a los 20 días post servicio los resultados con el ultrasonógrafo no tuvieron concordancia con el método serológico ( $k= -0,08$ ,  $P< 0,46$ ).

La validez es el grado en que una prueba diagnóstica mide lo que se supone que debe medir y es aquí donde entran en juego los conceptos de sensibilidad y especificidad (Burgos y Manterola, 2010). Aquí la sensibilidad del método serológico y de ultrasonografía en detectar animales preñados fueron similares en ambos y a los 28 y 35 días post servicio (92.9% y 100%, respectivamente). En la especificidad (capacidad de detectar como vacías a hembras que realmente no estaban preñadas), el método ultrasonográfico resultó mejor que el inmunológico, pues se obtuvieron valores de 91.7% a los 28 días y 100% a los 35 días post servicio, comparado al método

serológico quien mostro 87.5% a los 28 días y 91.7% a los 35 días post servicio.

Antelo e Ibáñez (2015) analizando bovinos de carne, reportó una sensibilidad de la prueba IDEXX Bovine Pregnancy Test de 98.14% y una especificidad del 90.74% a los 28 días después del servicio. Moussafir et al., (2018) indicaron que el método serológico de detección de preñez (proteína PAG) aplicado entre los días 30-40 post servicio, mostró una sensibilidad para el diagnóstico de preñez en bovinos de 100 %, y una especificidad de 81,3 %. para diagnosticar animales no preñados. Northrop et al., (2019), mostró 93% de sensibilidad y 87% de especificidad, cuando uso el kit IDEXX Rapid Visual Pregnancy Test (RVPT) y la ultrasonografía transrectal, entre los 28-40 días post servicio.

Alonso-Alanusa, et al, (2012) logró una mayor exactitud a través del diagnóstico por ultrasonografía aplicado sobre el embrión al día 27, encontrándose una sensibilidad y especificidad de 93.2% y 95.1%, respectivamente. Tamayo (sf) demostró que aplicando el ultrasonógrafo entre 26 y 33 días posterior a la inseminación artificial, se alcanzó una sensibilidad del 97.7% y 87.8% de especificidad de 87,8%, siendo considerado método fiable para el diagnóstico de inclusive hembras no gestantes. Palhão et al., (2019) aplicando la ecografía Doppler al día 20 post servicio reportó alta sensibilidad (100%), pero moderada especificidad (53.3%), No en tanto, el diagnóstico serológico no tuvo concordancia con el gold estándar (muy baja sensibilidad – 6.3%). Sin embargo, la sensibilidad del examen serológico aumentó drásticamente (del 6.3 al 100%) al día 25 post servicio, y contribuyó además a detectar falsos negativos del diagnóstico por ultrasonido, mejorando la precisión general del 90 % al 96.7 %.

En el contexto práctico, una prueba con alta sensibilidad va a ser especialmente útil en aquellos casos en los que, al diagnosticar un estado de preñez, el ganadero va a estar seguro del evento y podrá continuar con su programa reproductivo en el hato; si, por el contrario, hubiese muchos casos de falsos positivos (FP), esto puede resultar muy perjudicial, como es el caso de vacas diagnosticadas como positivas estando realmente vacías. Con perjuicio económico para el ganadero. En, en general, las pruebas de tamizaje deben ser de alta sensibilidad, para poder detectar, en lo posible, a todos los individuos positivos al evento evaluado. (Burgos y Manterola, 2010).

En la práctica clínica, en general, las pruebas que se utilizan para confirmar un diagnóstico deben ser de alta especificidad, para evitar los falsos positivos. Por lo tanto, una prueba diagnóstica que tiene una alta especificidad es necesaria ante eventos importantes o determinantes, cuando exista gran interés por conocer la ausencia de dicho evento, o cuando, por el hecho de diagnosticar a un sujeto con el evento de interés que realmente no posee, esto pudiera conllevar consecuencias físicas, económicas, reproductivas, etc. (Burgos y Manterola (2010).

Existe una estrecha relación entre sensibilidad y especificidad, sin embargo, ambas son una propiedad intrínseca de una prueba diagnóstica, cuyos resultados son independientes de la prevalencia del evento a evaluar y en el contexto práctico, pueden no tener utilidad. Tanto la sensibilidad como la especificidad entregan información acerca de la probabilidad de obtener un resultado positivo o negativo en función de la

verdadera condición del sujeto determinada por el estándar de referencia (gold estándar). No obstante, cuando a un individuo se le aplica una prueba diagnóstica, en general el especialista carece de una información a priori acerca del diagnóstico y lo que realmente le interesa es, ante una prueba diagnóstica con resultado positivo o negativo, ¿cuál es la probabilidad de que el sujeto tenga o no el evento de interés en estudio? Es aquí donde entran en juego los valores predictivos, que son los que van a complementar la información obtenida de la sensibilidad y especificidad (Burgos y Manterola 2010). El valor predictivo positivo (VPP), es la probabilidad de tener el evento de interés si se obtiene un resultado positivo en la prueba diagnóstica aplicada. Dicho de otra manera, es la proporción de individuos con resultado positivo para la prueba diagnóstica que verdaderamente presentan el evento de interés (Altman y Bland 1994).

Los Valores Predictivos Positivos (VPP) obtenidos en el presente trabajo, nos indican que, para el método de Inmunodiagnóstico, a los 28 días post servicio, existe un 81.3% de probabilidad de que el animal esté preñado si es que al realizar la prueba ésta saliera como preñada; si la prueba se realizara a los 35 días post servicio, la probabilidad sería de 81.25%; el VPP obtenido para el método de Ultrasonografía, nos indica que, a los 28 días post servicio, hay un 86.6% de probabilidad de que el animal esté preñado si es que la prueba sale como preñada, y de 100% a los 35 días post servicio. Por otro lado, los Valores Predictivos Negativos (VPN) obtenidos nos están indicando, para el método de Inmunodiagnóstico, que hay un 95.45% de probabilidad de que el animal no está preñado si es que la prueba sale negativa si ésta se efectuase a los 28 días post servicio, y 100% a los 35 días. Para el método de Ultrasonografía, la probabilidad de que esté vacía si es que la prueba sale negativa es 95.65% a los 28 días y 100% a los 35 días post servicio.

Alonso-Alanusa et al. (2012) haciendo uso del ultrasonógrafo al día 27 post servicio, se obtuvo un valor predictivo positivo de 97,8% y un valor predictivo negativo de 84,8%. Northrop et al., (2019) obtuvo un VPP de 97% y un VPN de 95%, empleando el kit Rapid Visual Pregnancy Test (RVPT) de Idexx y la ultrasonografía transrectal, entre los 28-40 días post servicio.

Como dos de los 38 animales que fueron evaluados con ambos métodos de diagnóstico y fueron diagnosticados como preñados, han sido detectados como no preñados a la palpación rectal, pudiera interpretarse como que un 5.3% pudiesen ser considerados como casos de aborto embrionario tardío.

Reese et al., (2018) sostiene que la mortalidad embrionaria tardía (LEM) en vacas lecheras lactantes es de aproximadamente un 12%. Sin embargo, existe variación entre las granjas, el método de mejoramiento, la paridad y la estacionalidad con rangos informados que varían del 10 al 25%. Se puede combinar el potencial de los PAG como una herramienta de diagnóstico temprano de la preñez y su uso para predecir la mortalidad embrionaria tardía (LEM) entre los días 30 y 60 post servicio. Asimismo, Holton et al., (2022) manifiestan que el uso de la ultrasonografía y la detección de PAG pueden funcionar como predictores potenciales de mortalidad embrionaria tardía/fetal temprana (LEM) el uso de

la, ya que las concentraciones circulantes de PAG se redujeron en las vacas que experimentaron LEM; sin embargo, también manifiestan que se requiere de más investigación para utilizar a las PAG como predictores de mortalidad embrionaria tardía de manera rutinaria.

## CONCLUSIONES

Ambos métodos de diagnóstico de preñez son muy confiables y precisos, a partir del día 28 post servicio, sin diferencia significativa en función del resultado de diagnósticos. La ultrasonografía a los 35 días de post servicio presentó una sensibilidad, especificidad, VPP y VPN del 100%, mientras que el inmunodiagnóstico mostró 100% de sensibilidad y VPN, a los 35 días de post servicio; a los 28 días de post servicio ambos métodos mostraron valores menores al 100% en las variables evaluadas. En aquellos hatos donde existan problemas reproductivos compatibles con abortos embrionarios y considerando que puede existir una tasa normal de reabsorción embrionaria, sería necesario realizar un examen comprobatorio a los 60 días post servicio, ya sea mediante ultrasonografía o recto palpación. La contribución del presente trabajo es proporcionar una información sobre los métodos precoces de diagnóstico de preñez en el gabado bovino, para la mejor toma de decisiones, sobre todo bajo las condiciones de crianza en la sierra de nuestro país.

## AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al Programa de Ganadería de la EEA El Mantaro por las facilidades brindadas para realizar el presente trabajo, y al Laboratorio de Biotecnología Reproductiva de la Facultad de Zootecnia de la UNCP por proporcionar el equipo de ultrasonografía.

## CONFLICTOS DE INTERESES

Los autores declaran no tener ningún conflicto de interés

## CONTRIBUCIONES DE LOS AUTORES

Preparación y ejecución del proyecto: FAV, NMS, IUP; desarrollo de la metodología: CQE, RDH; concepción y diseño: IPU, ARHDL; edición del artículo: FAV, ARHDL, CQE; supervisión del estudio: FAV, IUP.

## REFERENCES

- Alonso-Alanusa L, Galina-Hidalgo C, Romero-Zúñiga JJ, Estrada-König S, Galindo-Badilla J. Utilidad de la palpación rectal y la ecografía transrectal en el diagnóstico de gestación del ganado cebú en el trópico húmedo de Costa Rica. *Revista Científica*, 2012. XXII (1), 09-16 ISSN: 0798-2259. Recuperado de: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=95921743002>
- Altman DG, Bland JM. Diagnostic tests 3: receiver operating characteristic plots. *British Medical Journal (BMJ)*. 1994 Jul 16;309(6948):188. doi: 10.1136/bmj.309.6948.188. PMID: 8044101; PMCID: PMC2540706
- Antelo BVA, Ibáñez del RLA. Detección temprana de preñez utilizando el kit IDEXX Bovine Pregnancy® en vacas de carne. *Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano. Honduras*. 2015. Recuperado de: <https://bdigital.zamorano.edu/bitstream/11036/4535/1/CPA-2015-005.pdf>
- Bekele N, Addis M, Abdela N, Ahmed WM. Pregnancy diagnosis in cattle for fertility management: a review. *Global Veterinaria* 2016, 16, 355-364.
- Boryczko Z, Pawlak M, Witkowski M, Zajac S. Early pregnancy diagnosis as a constituent of reproduction regulation in cattle. *Życie Wet.* 2010, 85, 928-932.
- Bravo-Grau S, Cruz JPQ. Estudios de exactitud diagnóstica: Herramientas para su Interpretación. *Revista Chilena de Radiología*. 2015; 21(4): 158-164.
- Broadbent B, de Vries A. Comparison of methods for early pregnancy diagnosis. *Proceedings 2nd. Florida Dairy Road Show 2005*, 22-29.
- Burgos DME, Manterola DC. Cómo interpretar un artículo sobre pruebas diagnósticas. *Revista chilena de cirugía*. 2010. 62(3), 301-308. <https://dx.doi.org/10.4067/S0718-40262010000300018>
- Cerda J, Villarroel del PL. Evaluación de la concordancia inter-observador en investigación pediátrica: Coeficiente de Kappa. *Rev Chil Pediatr* 2008; 79 (1): 54-58. Recuperado de: <https://www.scielo.cl/pdf/rcp/v79n1/art08.pdf>
- Day JD, Weaver LD, Franti CE. Twin pregnancy diagnosis in Holstein cows: discriminatory powers and accuracy of diagnosis by transrectal palpation and outcome of twin pregnancies. *Can. Vet. J.* 1995, 36, 93-97.
- de la Torre Cánovas R, Bertot Valdés JA, Collantes Cánovas M, Vázquez Montes de Oca R. Análisis integral de la relación reproducción-producción-economía, en rebaños bovinos lecheros en las condiciones de Camagüey. Estimación de las pérdidas económicas. *Rev. Prod. An.* 2006. 18(1), NA. <https://link.gale.com/apps/doc/A466298060/AONE?u=anon~5fcb7510&sid=googleScholar&xid=ac1fb947>
- Díaz-García L, Medina-Vera I, García-de la Puente S, González-Garay A, Murata Ch. Estudios de exactitud diagnóstica. *Acta Pediatr Mex.* 2019; 40(6):342-357. <https://ojs.actapediatrica.org.mx/index.php/APM/article/download/1933/1164>
- Erbiti F, Lissarrague C, Cabodevila J, Callejas SS. Efecto de algunas variables sobre la preñez de vaquillonas post-inseminación artificial a tiempo fijo. *Revista veterinaria*. 2018; 29(1), 35-39. <https://dx.doi.org/10.30972/vet.2912788>
- Fricke PM, Guenther JN, Wiltbank MC. Efficacy of decreasing the dose of GnRH used in a protocol for synchronization of ovulation and timed AI in lactating dairy cows. *Theriogenol.* 1998; 50: 1275-84.
- Gutiérrez-Reinoso MA, Collaguazo-Gómez VM, García-Herreros M. Aplicación de GnRH exógena post IATF y su efecto en los niveles séricos de progesterona y tasa de gestación en vacas lechera primíparas en ambientes de altitud elevada. *Spermova* 2016 (6): 148-152. Recuperado de: [http://spermova.pe/site2/files/Revistas/Rev.%206%20Vol.%202/13-m2Gutierrez-Reinoso\\_2016-2.pdf](http://spermova.pe/site2/files/Revistas/Rev.%206%20Vol.%202/13-m2Gutierrez-Reinoso_2016-2.pdf)

- Holton MP, Oosthuizen N, Melo GD, et al. Luteal color doppler ultrasonography and pregnancy-associated glycoproteins as early pregnancy diagnostic tools and predictors of pregnancy loss in *Bos taurus* postpartum beef cows. *J Anim Sci.* 2022;100(2):skac018. <https://doi.org/10.1093/jas/skac018>
- Jaśkowski JM, Kaczmarowski M, Kulus J, Jaśkowski BM, Herudzińska M, Gehrke M. Rectal palpation for pregnancy in cows: A relic or an alternative to modern diagnostic methods. *Medycyna Weterynaryjna* 2019, 75 (5), 259-264. Poland. <https://doi.org/10.21521/mw.6156>.
- Landis JR, Koch GG. The measurement of observer agreement for categorical data. *Biometrics* 1977 Mar;33:159-74.
- López, H. Diagnóstico temprano y confirmación de la gestación... estrategias fundamentales para asegurar el éxito reproductivo. *Art. Téc. Portal Engormix.* 2011. Disponible en: <https://www.engormix.com/ganaderia-leche/articulos/diagnostico-temprano-confirmacion-gestacion-t28787.htm>
- McKay, E, Funston, R. Choosing a Method for Pregnancy Diagnosis. *UNL BeefWatch.* SUN. OCT. 01, 2017. University of Nebraska–Lincoln. Recuperado de <https://newsroom.unl.edu/announce/beef/6982/40017>
- Mendoza J, Lanatta R, López J, Narvaez O, Sangay F, Rodríguez A, Cerquín G, et al. Eficacia de un protocolo de sincronización de celo en vacas criadas sobre los 3200 msnm en las provincias de Cajamarca, Celendín y Hualgayoc. *Spermova.* 2013 (3):49-50. Recuperado de: <http://spermova.pe/site/index.php/revistas/revista-spermova-nro-3-vol-1-2013>
- Meziane R, Boughris F, Benhadid M, Niar A, Mamache B, Meziane T. Comparative evaluation of two methods of pregnancy diagnosis in dairy cattle in the East of Algeria: proteins associated with pregnancy and ultrasonography, *Biological Rhythm Research.* 2021; 52:2, 237- 245, <https://doi.org/10.1080/09291016.2019.1592348>
- Momont H. Rectal palpation: Safety issues. *The Bovine Practitioner.* 1990; (25), 122-123. <https://doi.org/10.21423/bovine-vol0no25p122-123>
- Moussafir Z, Allai L, El Khalila K, Essamadi A, El Amiri B. Could a bovine pregnancy rapid test be an alternative to a commercial pregnancy-associated glycoprotein ELISA test in dairy cattle?. *Animal Reproduction Science.* 2018; 192: 78-83. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2018.02.016>
- Northrop EJ, Rich JJJ, Rhoades JR, Perry GA. Comparison of two bovine serum pregnancy tests in detection of artificial insemination pregnancies and pregnancy loss in beef cattle. *PLOS ONE.* 2019; 14(1): e0211179. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0211179>
- Oltenucu P, Lednor J. Economic evaluation of pregnancy diagnosis in dairy cattle: A decision analysis approach. *J. Dairy Sci.* 1990, 73, 2826-2831.
- Palhão MP, Guimarães CRB, Lima JFM, Mendonça MR, Fernandes CAC, Neves JP, Garcia JAD, Gioso MM, Miglino MA, Viana JHM. Efficacy and limitations of different approaches to anticipate the diagnosis of pregnancy in cattle. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* 2019; v.71, n. 6, p.1909-1916. <https://doi.org/10.1590/1678-4162-10698>
- Pérez U, Quispe BY, Luque MN, Rojas ER, Condori CE, Delgado CA, Pérez DM. Evaluación ultrasonográfica en ganado Brown Swiss sometido a un protocolo de sincronización de celo en el altiplano peruano. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú.* 2019; 30(1), 489-494. <https://dx.doi.org/10.15381/rivep.v30i1.15688>
- Pugliesi G, Germano RR, Barboza da Silva JC, Lopes E, Kan Nishimura T, Sampaio BP., Hoffmann Madureira E, Binelli M. Uso da ultrasonografia Doppler em programas de IATF e TETF em bovinos. *Rev. Bras. Reprod. Anim., Belo Horizonte,* 41(1):140-150, jan./mar. 2017. Recuperado de: <https://www.researchgate.net/publication/317279416>
- Reese ST, Pereira MHC, Edwards JL, Vasconcelos JLM, Pohler KG. Pregnancy diagnosis in cattle using pregnancy-associated glycoprotein concentration in circulation at day 24 of gestation, *Theriogenology.* 2006; 28(106):178-185, ISSN 0093-691X, <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2017.10.020>.
- Rendón-Macías ME, Valenzuela M, Villasis-Keever MA. Sesgos en los estudios de pruebas de diagnóstico: implicación en la estimación de la sensibilidad y especificidad. *Revista alergía México.* 2020; 67(2), 165-173. Recuperado a partir de [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S2448-91902020000200165&script=sci\\_arttext](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S2448-91902020000200165&script=sci_arttext)
- Serrano PB. Contribución al estudio de las proteínas asociadas a la gestación (PAG) en rumiantes domésticos. Tesis doctoral. Universidad de Zaragoza (2008). Recuperado a partir de <https://dialnet.unirioja.es/servlet/tesis?codigo=206097>
- Tamayo TM. (sf) La ecografía como medio diagnóstico y evaluación de los procesos reproductivos en el bovino. Monografía N° 36. 12 pp. Ecografía y Ultrasonografía. Producción Bovina de Leche. Sitio Argentino de Producción Animal. Repositorio Digital de Acceso Abierto. <https://www.produccion-animal.com.ar/>
- Torres-Aburto VF, Domínguez-Mancera B, Vázquez-Luna D, Espinosa Ortiz VE. Costo del intervalo interparto en la producción bovina tropical del sureste de México: Cost of the calving interval in tropical bovine production in southeastern Mexico. *Agro Productividad.* 2020; 13(7). <https://doi.org/10.32854/agrop.vi.1651>
- Toro GDC. Comparación de dos inductores de la ovulación en un programa de IATF con semen sexado en ganadería de ceba. Trabajo de grado. Medicina Veterinaria. Repositorio Universidad de Santander. 2020. <https://repositorio.udes.edu.co/handle/001/5121>
- Vela HEM. Efecto de los análogos de las hormonas liberadoras de gonadotropinas (buserelina) y de la prostaglandina F2α (cloprostenol), en la activación del celo y la fertilidad en vacas lecheras - provincia de Lamas - San Martín. Tesis Fac. Med. Vet. Univ. Nac. San Martín. 2017. <http://hdl.handle.net/11458/860>
- Vizcaíno-Salazar GJ. Importancia del cálculo de la sensibilidad, la especificidad y otros parámetros



estadísticos en el uso de las pruebas de diagnóstico clínico y de laboratorio. *Medicina & Laboratorio*. 2017; 23:365-386. Módulo 28 (Artículos de Reflexión), número 4. Ed. Médica Colombiana.

- Wattiaux MA. Preñez y parto. Instituto Babcock para la Investigación y Desarrollo Internacional de la Industria Lechera. Universidad de Wisconsin-Madison. 2016. Recuperado de: <https://ganaderiasos.files.wordpress.com/2014/10/prec3b1ez-y-parto.pdf>
- Wiltbank MC, Baez GM, García-Guerra A, Toledo MZ, Monteiro PLJ, Melo LF, Ochoa JC, Santos JEP, Sartori R. Pivotal periods for pregnancy loss during the first trimester of gestation in lactating dairy cows. *Theriogenology*, 2016. 86(1):239-253. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2016.04.037>