

DOSIFICACION DE PROGESTERONA EN LECHE POR RADIO
INMUNOANALISIS. SUS APLICACIONES EN VETERINARIA
Y PERSPECTIVAS DE SU APLICACION EN URUGUAY

Daniel Cavestany¹

RESUMEN

Se realiza una breve descripción de la técnica de radioinmunoanálisis (RIA). Se hace una revisión de la historia de la técnica de medición de progesterona en leche y sus aplicaciones en veterinaria. En ella se describe la aplicación de este método para evaluar la performance reproductiva, principalmente la reiniciación de la actividad ovárica postparto. Se describen los perfiles de progesterona en el ciclo estral. Se exponen las ventajas y limitaciones de la técnica en programas de detección de celo, como diagnóstico precoz de gestación y como estudio de la mortalidad embrionaria temprana. Se hace una comparación entre esta técnica y el índice de no retorno como métodos de estimación del porcentaje de preñez del rodeo. Se describen las ventajas de la técnica como control de tratamientos y experimentos en ganado de leche. Se resumen las perspectivas de su empleo en Uruguay.

A. RADIOINMUNOANALISIS (RIA)

El RIA es una técnica de laboratorio que permite medir cantidades extremadamente pequeñas de una sustancia, siendo además altamente específico en la identificación de la misma.

Teóricamente el RIA es un híbrido. Como su nombre lo indica, es una combinación de radioquímica e inmunología. La técnica radioquímica empleada es cuantitativa, altamente sensitiva y es una variante de la técnica de dilución isotópica. La técnica inmunológica es simplemente una reacción antígeno-anticuerpo.

En términos generales, el proceso de RIA comprende:

- . Una reacción química especial.
- . Separación y medida del producto de esa reacción.
- . Comparación de la muestra medida con una conocida (standard).

¹ Profesor Adjunto del Depto. de Reproducción
Facultad de Veterinaria
Montevideo

Definición de términos: 1. Antígeno (AG). Sustancia capaz de inducir una respuesta inmunológica y de reaccionar con el anticuerpo inducido.

En esta discusión: AG = Hormona (radiactiva o no)

Hormona: Marcada = radiactiva = caliente (H°).

No marcada = fría, standard = hormona a medir (H).

2. Anticuerpo (AB). Una proteína que reacciona y se une específicamente con el antígeno que indujo su formación.

Teoría del análisis

Es una reacción antígeno-anticuerpo que utiliza anticuerpos específicos contra la hormona (H, AG) que se desea medir.

Utiliza también hormona marcada (H°).

En RIA, la compleción de la reacción significa en realidad un equilibrio. En equilibrio, la actividad química a nivel molecular continúa, dado que las moléculas de AG en estado libre cambian de lugar constantemente con aquellas moléculas unidas al AB. Por lo tanto, la reacción se mueve en ambas direcciones.

Se asume que todos los AG (H y H°) tienen igual oportunidad de unirse ("competir") sitios de unión con el AB presente.

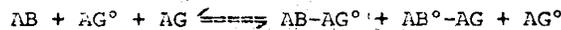
Este es el denominado principio de "unión competitiva".

En resumen, entonces, el RIA usa 3 reactivos (Fig. 1):

- AB
- AG° (H°)
- AG (H) (muestras y standard).

El standard es una cantidad conocida de hormona que sirve para formar una curva, de la cual se interpolan los valores de las muestras.

El AG° siempre está en exceso en la mezcla:



El AG°, agregado en exceso, puede llenar todos los sitios de unión del AB. Si el AG está presente, compete con el material radiactivo por los sitios de unión en el AB y por lo tanto menos AG° se une al AB (y viceversa).

Todos los cálculos se hacen en base a la relación de AG° en solución (F) con el AG° ligado al AB (B):

$$\frac{\text{AG}^\circ \text{ ligado al AB}}{\text{AG}^\circ \text{ libre en solución}} = \frac{B}{F}$$

Para el análisis, se busca emplear concentraciones (o diluciones) de AB y concentraciones de AG° que resulten en unión de 50% de AG° en ausencia de AG.

El procedimiento del RIA envuelve varios pasos:

1. AB específico para una hormona. Se obtiene por inyección repetida de esa hormona a un animal (cobayo, conejo, oveja, etc.)
Estos AB (antihormonas) se acumulan en la sangre del animal del cual se obtiene y prepara el suero (antisuero).
2. Hormona radiactiva (AG°). Se une la hormona a un isótopo radiactivo (H³, I¹²⁵, I¹³¹, etc.).
3. Para el análisis, todos los tubos tienen la misma cantidad de AB y el mismo exceso de AG°. Es decir, el número de sitios de unión es fijo, con suficientes AG° como para ocuparlos todos.
4. Algunos tubos contienen cantidades conocidas de la hormona a medir (AG), ordenados en forma creciente, a los efectos de formar una curva standard.
5. Otros tubos contienen la muestra con la hormona a determinar, la cual se compara con los standard.

6. Los tubos se dejan equilibrar. Durante este período, AG y AG° llenan todos - los sitios de unión. Al final de este período, la hormona marcada (AG°) liga da al AB debe ser separada de la AG° libre en solución.
7. Interpretación de los resultados en base a interpolaciones de la curva stan-- dard previamente formada.

B. PROGESTERONA EN LECHE (MP4)

La primera demostración que progesterona podía ser obtenida en leche fue realiza da por Williams en 1962 (59). Laing y Heap (34) fueron los primeros en visuali zar esto como una ayuda potencial en programas de manejo reproductivo, al notar que los valores de progesterona en leche que obtenían eran muy similares a valo res previamente reportados en plasma. Posteriormente, otros autores han demos-- trado una alta relación entre las concentraciones de progesterona en leche y en plasma, con correlaciones de 0,91 y 0,96 (19,45).

Al medir progesterona en leche, el tipo de leche empleado tiene un efecto consi-- derable en las concentraciones de progesterona. El 75% de la progesterona pre-- sente en leche está asociada a la fracción grasa (24) y la leche obtenida al fi-- nal del ordeño tiene un contenido en grasa más alto que aquella colectada al --- principio del mismo (19). La correlación entre el porcentaje de grasa de la le-- che y su contenido en progesterona es 0,98, por lo que los niveles de progestero na pueden aumentar en dos y hasta tres veces entre muestras obtenidas pre y post ordeño (19,52) (fig. 2)

Por otra parte, diversos tipos de RIA que emplean distintas fracciones de leche-- como punto de partida, reportan diferentes concentraciones de progesterona. La interacción entre estas dos variables parece ser mayor cuando se utiliza leche - entera para el análisis. Aún cuando muchos investigadores utilizan leche obteni da del "tarro" luego del ordeño, la leche extraída directamente de la vaca luego del ordeño debería ser preferentemente utilizada (15). La variación entre el mo-- mento de obtención de la leche y la cantidad de progesterona medida se evita --- cuando se usan métodos de análisis que emplean solamente la fracción grasa o le-- che descremada (3,36), por lo que en este caso un procedimiento standarizado pa-- ra la obtención de las muestras se hace innecesario (39) (tabla 1)

MP4 y performance reproductiva

Las metas de un buen programa de manejo reproductivo, se pueden resumir en los - siguientes puntos:

1. Brindar a las vacas atención y cuidado adecuado, de modo que estén ciclando - normalmente hacia los 40 días postparto.
2. Detectar 90% de las vacas en celo entre los 50 y 60 días postparto.
3. Obtener un 60% de preñez al primer servicio.
4. Tener 85% de las vacas preñadas a los 90 días postparto.
5. Eliminar no más de un 10% de las vacas por problemas reproductivos.
6. Promediar un intervalo inter-partos cercano a los 12 meses.

Entre los problemas más importantes que contribuyen a bajar la performance repro-- ductiva de animales -clínicamente sanos y con un aceptable nivel de alimenta-- ción- se encuentran:

1. Vacas con ciclos estrales irregulares.
2. Vacas ciclando normalmente, pero con signos débiles de celo.
3. Fallas en la observación y/o correcta interpretación de los síntomas de celo.
4. Mortalidad embrionaria temprana.

El análisis de progesterona en leche es uno de los métodos modernos de evaluar - la performance reproductiva del rodeo. La mayor ventaja de MP4 es la facilidad-

con que un gran número de muestras pueden ser obtenidas (15). Aunque al principio fue pensado solamente como un método de diagnóstico precóz de gestación (22), rápidamente se ha convertido en una valiosa ayuda para controlar otros componentes de la performance reproductiva, tales como:

1. Actividad ovárica postparto.
2. Confirmación de estro.
3. Detección de mortalidad embrionaria temprana.
4. Ayuda al veterinario en el diagnóstico de algunos tipos de patología ovárica.
5. Control y evaluación de experimentos, pruebas de campo o manipulaciones biotécnicas.

Este método puede ser también útil para diferenciar entre causas biológicas y ambientales responsables de problemas de fertilidad y para mejorar la eficiencia reproductiva, al eliminar factores de manejo que los pueden afectar (16,20).

MP4 y evaluación de la actividad ovárica postparto

Muestras de leche obtenidas a intervalos regulares luego del parto, pueden ser usadas para estudiar la actividad ovárica en ese período y para identificar animales con actividad cíclica irregular, basada en perfiles anómalos de progesterona (8,35). Estudios realizados de esta manera, han permitido clasificar las vacas en el primer período postparto en 5 categorías (6):

1. Actividad ovárica normal.
2. Demoras en el comienzo de la actividad ovárica.
3. Cese de los ciclos estrales.
4. Fase luteal prolongada.
5. Celos silenciosos.

La información así obtenida puede ser empleada como base para instaurar tratamientos adecuados en aquellos animales con perfiles anómalos de progesterona (6) (figs. 3 y 4).

Muchos investigadores han empleado perfiles de progesterona en leche para detectar el comienzo de la actividad ovárica post-parto (4,5,16,29,30,35,56). Los resultados reportados son muy parecidos a aquellos realizados en trabajos previos sobre la base de palpaciones rectales.

La información más importante que se puede obtener de estos perfiles de progesterona es el porcentaje de vacas con actividad ovárica normal, en un período dado luego del parto. De esta manera, se pueden diagnosticar problemas en la reiniciación de los ciclos ováricos y ayudar a instaurar tratamientos lo suficientemente temprano en vacas "problema", de modo que no afecten el intervalo interparto del rodeo (35). En rodeos sin problemas reproductivos serios, 98% de las vacas suelen estar ciclando normalmente a los 50 días postparto (16).

Estudios realizados en base a la colección de muestras de leche desde el parto hasta el establecimiento de la preñez, han encontrado que irregularidades en los perfiles de progesterona están asociados a bajos porcentajes de concepción (4).

Una manera relativamente barata y segura de controlar la actividad ovárica postparto, detectar vacas con actividad cíclica irregular y determinar la tasa de detección de celo, puede conseguirse tomando muestras de leche cada 10 días, desde los 25 días postparto hasta el establecimiento de la preñez (5).

MP4 y control del ciclo estral

Las concentraciones de progesterona en leche permanecen bajas desde el día 0 (estro) hasta el día 4, cuando comienzan a elevarse hasta el día 9, permaneciendo altas hasta el día 16 y alcanzando valores máximos entre los días 13 y 14. Hacia el día 16 comienzan a declinar, primero gradualmente y luego abruptamente 2 días antes del siguiente celo (2,18,37,45,52). Siguen el mismo padrón que las concentraciones en plasma (21,50,58), según puede apreciarse en la figura 5.

Los perfiles de progesterona en leche son también similares a través de los distintos tipos de radioinmunoanálisis (18,52), como puede apreciarse en la figura-6, donde a pesar de los diferentes valores obtenidos por los dos grupos, las curvas se ven prácticamente superpuestas.

MP4 y detección de celo

Dado que los niveles de progesterona permanecen bajos durante varios días alrededor del momento de ovulación, MP4 no es un método seguro de detección de celo -- (39). El momento correcto para el servicio es muy difícil de predecir por perfiles de progesterona y, por lo tanto, no es un sustituto de la observación visual u otras ayudas para la detección de celo (13). Sin embargo, puede ser una útil ayuda para evaluar la precisión en la detección de celo en rodeos con pobre manejo reproductivo. Por otra parte, dado que la progesterona declina rápidamente 2 días antes del estro -si los resultados están disponibles pronto- este método -- puede ser usado para predecir el celo entrante (18,52).

En un interesante experimento (10), se trató de predecir el momento de inseminación por valores de progesterona. Cinco días antes del celo esperado, se comenzó a tomar muestras de leche, las cuales eran analizadas el mismo día. Vacas -- sin síntomas de celo fueron inseminadas 2 ó 3 días luego de la primer caída en las concentraciones de progesterona. El porcentaje de concepción de las vacas -inseminadas en ese "celo determinado" no fue diferente al de las inseminadas luego de un celo visible.

Las muestras de leche tomadas al tiempo del servicio pueden ser muy útiles para evaluar -retrospectivamente- la precisión en la detección de celo y servicios -realizados en el "momento adecuado".

Usando este procedimiento, se realizó un experimento (54) en que se comparó la -precisión de la detección de celo por: a) MP4, b) el productor y c) un inseminador diestro. De las vacas confirmadas en celo por el inseminador, 93% fueron -- así confirmadas por MP4. Se concluyó que la precisión de MP4 en la detección de vacas en celo fue 96% (dos vacas con valores bajos de progesterona no fueron inseminadas a juicio del inseminador). Solamente 84% de las vacas separadas por -el productor tenían valores bajos de progesterona.

En un programa de MP4 como servicio a los productores en Alemania Occidental -- (20), se encontró que solamente 78%, de casi 5.000 muestras de leche, tomadas al tiempo del servicio tenían valores bajos de progesterona. Se atribuyó esto a -- una tendencia de los productores a mandar muestras de leche principalmente de vacas con signos dudosos de celo. De manera similar, otros investigadores han reportado porcentajes entre 7 y 28% de vacas servidas con valores altos de MP4 (7, 8, 9, 17, 25, 39, 44). Estos altos valores son debidos en general a vacas servidas -durante la fase luteal, aunque hay también un número de animales inseminados estando preñados (7,8). La tasa de concepción para vacas servidas con niveles altos de progesterona es prácticamente 0, según lo reportado por varios investigadores (8, 16, 17, 25, 53), y de ahí la importancia de detectar estos animales temprano para observarlos más cuidadosamente para un próximo, y posiblemente más pronto, período de celo.

MP4 y diagnóstico precóz de gestación

Robertson y Sarda (47) fueron los primeros en describir un método de diagnóstico de gestación midiendo concentraciones plasmáticas de progesterona, entre los -- días 17 y 24 luego del servicio.

Postularon que, para ser un método útil, un test de preñez debía ser seguro --- (90%), simple, económico y dar resultados temprano en el período de gestación. - Aunque ellos clasificaron su método como simple, la obtención diaria de muestras de sangre no es fácil ni económico para ser utilizado por productores o en grandes pruebas de campo. No fue sino hasta que Heap y col. (22) describieron un método similar, pero usando leche en vez de sangre, que esta idea comenzó a ser ampliamente considerada. Estos investigadores sugirieron entonces, que la base para esta prueba era tomar muestras de leche durante un tiempo en que las diferencias en las concentraciones de progesterona entre vacas preñadas y vacías fuera-

máxima, y que cubriera asimismo variaciones individuales en la longitud del ciclo estral (fig. 7)

Sugirieron muestras en días alternados, entre los 20 y 28 días luego del servicio, con una muestra más el día 60. Este primer trabajo desató una verdadera avalancha en la investigación de este tema en los años subsiguientes, y Hoffmann y col (26) clamaron ser los primeros en aplicar este método en pruebas de campo.

En términos generales, la precisión de este método para detectar vacas no preñadas oscila entre el 95 y 100%, mientras que la detección de animales preñados raramente supera el 80%. Esto fue reconocido por varios autores (10,23,25,32), -- quienes concluyeron que el principal uso de este test era identificar vacas no preñadas lo suficientemente temprano, de modo que el tiempo de producción perdido como resultado de infertilidad pudiera ser reducido con la aplicación de tratamientos apropiados. Finalmente, otros investigadores (29) han cuestionado el término "diagnóstico de preñez" dado que, en definitiva, este método es en realidad una evaluación de presencia o ausencia de cuerpo lúteo funcionante.

La tabla 2 resume algunos de los trabajos de estimación de preñez realizados en base a MP4. Como puede apreciarse, la mayoría de los investigadores tomaron -- muestras entre los 20 y 24 días luego del servicio, y la precisión de la estimación de "no preñez" es mucho más alta que la estimación de preñez. La principal razón de esto es la incidencia de mortalidad embrionaria, que es más alta durante las primeras etapas de gestación, aunque también persistencia del cuerpo lúteo debido a infecciones uterinas o celos anormalmente largos o cortos pueden -- ser responsables de éstos resultados falso positivos (45) (fig. 8)

En cuanto al mejor momento para tomar las muestras a los efectos de obtener mejores resultados, además de precisión, aspectos prácticos y económicos deben ser -- considerados. A este respecto, muestras alrededor del día 24 luego del servicio ofrecen probablemente la mejor opción (8,16,41,45). Algunos investigadores, en un intento de aumentar la precisión del método, han propuesto diferentes esquemas de muestreo. Se ha sugerido así, que una muestra más tomada al día 50 (32) superaría los falsos positivos a causa de mortalidad embrionaria. Sin embargo, -- este sistema debe ser considerado con cautela, dado que en este tiempo no es posible diferenciar gestación de fase luteal del ciclo estral. Otros (54) proponen muestras al día 24, más dos muestras a los días 40 y 44, mientras que un grupo (60) postula que una muestra al día 21 o 22, seguida de otra al día 27 o 28 -- aumentaría la precisión del método en más de 15%. A pesar de esto, dado que el diagnóstico de preñez por palpación rectal puede ser realizado con considerable precisión a partir de los 35 días de gestación, cualquier esquema de muestreo -- luego de este tiempo debe ser tomado con reservas en término de beneficios prácticos y económicos. En un interesante trabajo, (60), la comparación de preñez -- por MP4 y tacto rectal a los días 21 o 22 luego del servicio, demostró que mientras la precisión de MP4 en general era de 89%, la de palpación rectal (basada -- en la presencia o ausencia de un cuerpo lúteo) era de solo 77%.

En conclusión, MP4 es un método temprano y seguro de indicar el estado de preñez de un rodeo, pero no es un reemplazo de un programa sanitario reproductivo. Exámenes del aparato genital por vía rectal a los 21 a 40 días postparto y diagnóstico de gestación por palpación rectal entre los 35 y 60 días luego del servicio deben incluirse en cualquier programa de manejo reproductivo.

MP4 vs. Índice de no retorno como estimación de preñez

El índice de no retorno se calcula como el porcentaje de vacas inseminadas que no sean presentadas nuevamente para el servicio en un período determinado de tiempo (49). Este método fue introducido en 1943 (48) y ha sido ampliamente empleado -- como barómetro de fertilidad, como una manera rápida y económica de obtener información sobre vacas inseminadas artificialmente, cuando datos de preñez o parto son difíciles o imposibles de obtener (38).

Organizaciones de inseminación artificial generalmente utilizan un no retorno de 60-90 días y los porcentajes reportados oscilan en un 70%. Esto es generalmente más alto que el porcentaje real de preñez, debido a vacas vacías que son vendidas, mueren, son repasadas con toros o simplemente no son presentadas nuevamente para la inseminación. Estos animales serían considerados preñados en una estimación de no retorno (40,49,55).

Es interesante la comparación de este método con el de MP4 en la estimación de preñez, lo que se muestra en la tabla 3.

Como puede apreciarse, la predicción de preñez por noretorno a los 21, 23 y 25 días del servicio es más alta que la predicción hecha por MP4. La estimación de noretorno a los 21 días luego del servicio es extremadamente alta, debido principalmente a variaciones en la longitud del ciclo estral. La estimación del noretorno disminuye drásticamente a los 23 días del servicio. A los 42 días, el índice de noretorno disminuye aún más, debido posiblemente al hecho que en este momento ha pasado el período de mayor incidencia de mortalidad embrionaria. La estimación a los 60 días es similar al porcentaje de preñez diagnosticado por palpación rectal.

De estos resultados, se puede concluir que a los 21 a 25 días post servicio, MP4 es más seguro como estimador de preñez que noretorno y a los 60, el índice de no retorno da una muy buena estimación de la verdadera tasa de preñez del rodeo.

MP4 como control de experimentos o tratamientos

Al ofrecer una manera fácil y segura de controlar la función ovárica, MP4 es un práctico y confiable método de evaluar tratamientos o experiencias que modifiquen o alteren el ciclo estral.

Es así que ha sido ampliamente utilizada para medir la respuesta a tratamientos que intentan acelerar y/o normalizar la actividad ovárica postparto (8,16,28,35,57) (fig.9). Más aún, la técnica ha sido empleada como base para instaurar tratamientos en aquellos animales que no reinician la actividad ovárica luego del parto.

Animales con quistes ováricos, alteración común en vacas buenas productoras de leche en los primeros tiempos postparto, pueden ser identificados por medio de la medición de progesterona en leche, y tratados adecuadamente. La respuesta al tratamiento puede asimismo ser evaluada por el método. (31) (fig.10)

Tratamientos en base a prostaglandinas también pueden ser controlados por MP4, de manera de poder predecir una respuesta adecuada en base a perfiles de progesterona antes, durante y después del tratamiento. Se puede estudiar de esta manera la efectividad de programas de sincronización del ciclo estral (43) (figs.11 y 12).

Cuando se administran prostaglandinas sin un adecuado control previo del estado reproductivo de la hembra, los efectos en algunos casos pueden ser adversos. Tal como se muestra en la figura 13, donde se ve un aborto causado por la administración de prostaglandinas a animales preñados (8).

PERSPECTIVAS DEL EMPLEO DE PROGESTERONA EN LECHE EN URUGUAY

En nuestro país, se está desarrollando un programa para dosificar progesterona por medio de radioinmunoanálisis. Dicho programa es parte de un convenio existente entre la Facultad de Veterinaria y la Agencia Internacional de Energía Atómica (AIEA).

Este convenio tiene como objetivos el desarrollar un laboratorio para el empleo de técnicas nucleares en veterinaria, trabajando en los campos de reproducción, parasitología y -en un futuro- nutrición. En el campo de la reproducción, el primer paso es desarrollar la técnica de radioinmunoanálisis para progesterona. Esto permitirá el estudio de la performance reproductiva de los rodeos de leche, estudio de alteraciones del ciclo estral y diagnóstico precoz de gestación. Para el desarrollo de este programa, la facultad está instalando un laboratorio adecuado, mientras que la AIEA está proporcionando el equipamiento del mismo. Como parte de este convenio, ya han estado en nuestro país expertos de reconocimiento mundial como el Dr. Robertson, que han volcado su experiencia y conocimientos en la materia. En el correr del presente año, se contará con la visita del Dr. Carr, experto del Reino Unido en la instalación y funcionamiento de este tipo de laboratorio. Con la ayuda de dicho experto, se comenzarán a realizar los primeros pasos tendientes a poner a punto la técnica. Los objetivos futuros

del laboratorio son, además de la realización de trabajos de investigación en la materia, un servicio a veterinarios y productores. Se planea asimismo la extensión de la técnica a la dosificación de otras hormonas.

SUMMARY

A brief description of the technique of radioimmunoassay (RIA) is made. The story of the development of the technique of progesterone in milk is reviewed and its applications in Veterinary Medicine are commented. There is a description of the method in the evaluation of the reproductive performance of dairy cows, the resumption of the ovarian cyclic activity postpartum and the progesterone profiles during the estrous cycle. The advantages and limitations of the method in estrus detection programs and as an early pregnancy diagnosis method are discussed. A comparison between this technique and non-return rates to estimate pregnancy rate is made. The advantages of the method as a monitor of treatments and experiments in dairy cattle. The future of its application in Uruguay is summarized.

BIBLIOGRAFIA

1. BALL, P.J.H. and N.W. Jackson. 1979. The fertility of dairy cows inseminated on the basis of milk progesterone measurements. *Brit. Vet. J.* 135:537.
2. BATRA, S.K., G.S. Pahwa, A.K. Suri and R.S. Pandey. 1980. Diurnal variation of progesterone levels in milk and milk fat of crossbred cows during the oestrus cycle and early pregnancy. *Anim. Prod.* 31:127.
3. BULMAN, D.C. 1979. The measurement of progesterone in milk. *Brit. Vet. J.* 135:460.
4. BULMAN, D.C. and G.E. Lamming. 1978. Milk progesterone levels in relation to conception, repeat breeding and factors influencing acyclicity in dairy cows. *J. Reprod. Fertil.* 54:447.
5. BULMAN, D.C. and G.E. Lamming. 1979. The use of milk progesterone analysis in the study of oestrus detection, herd fertility and embryonic mortality in dairy cows. *Brit. Vet. J.* 134:559.
6. BULMAN, D.C. and P.D.P. WOOD. 1980. Abnormal patterns of ovarian activity in dairy cows and their relationships with reproductive performance. *Anim. Prpd.* 30:177.
7. CAUDLE, ABB., T. Clekis, F.N. Thompson and S.D. Van Camp. 1980. Progesterone in bovine milk fat. *Theriogenology* 14:329.
8. CAVESTANY, D. 1982. Reproductive performance of Holstein cows administered a GnRH analog (HOE 766) 26 to 34 days postpartum. M.S. Thesis. Cornell University.
9. CHAVAZ, J., C. Gaillard, P., Summermatter und R. Thun. 1980. Ergebnisse eines Versuches mit dem Milchprogesterontest zur Fruchtbarkeitsüberwachung in Milchvieherden. *Schweiz. Arch. Tierheilk.* 122:471.
10. DOBSON, H. and R.J. Fitzpatrick. 1976. Clinical application of progesterone-in-milk test. *Brit. Vet. J.* 132:538.
11. EASTMAN, S.A.K. 1979. Methods of improving the accuracy of positive results from milk progesterone pregnancy tests. *Brit. Vet. J.* 135:489.

12. ECHTERNKAMP, S.E. and W. Hansel. 1973. Concurrent changes in bovine plasma-hormone levels prior to and during the first postpartum estrous cycle. *J. Anim. Sc.* 37:1362.
13. FOOTE, R.H. 1975. Estrus detection and estrus detection aids. *J. Dairy Sc.* - 58:248.
14. FOOTE, R.H. 1978. Reproductive performance and problems in New York dairy -- herds. *Cornell Univ. Agri. Exp. Sta. Search* 8:1.
15. FOOTE, R.H. 1979. Hormones in milk that may reflect reproductive changes. - *Anim. Reprod. BARC, Symp.* 3:111.
16. FOOTE, R.H., E.A.B. Oltenacu, H.L. Kummerfeld, R.D. Smith, P.M. Riek and R.K. Braun. 1979. Milk progesterone as a diagnostic aid. *Brit. Vet. J.* -- 135:550.
17. FOOTE, R.H., R.D. Semith, E.A.B. Oltenacu, R.K. Braun and T.J. Reimers. 1980. Milk progesterone assays as part of a reproductive management program for dairy cattle. 9th. *Int. Congr. Anim. Reprod. & A.I., Madrid,* -- Spain.
18. GARTLAND, P., J. Schiavo, C.E. Hall, R.H. Foote and N.R. Scott. 1976. Detection of estrus in dairy cows in dairy cows by electrical measure---ments of vaginal tucus and by milk progesterone. *J. Dairy Sc.* 59:-- 982.
19. GINTHER, O.J., L.C. Nuti, M.C. García, B.C. Wentworth and W.T. Tyler. 1976.-- Factors affecting progesterone concentration in cow's milk and dairy products. *J. Anim. Sc.* 42:155.
20. GUNZLER, O., E. Rattenberg, A. Gorlach, R. Hahn, P. Hocke, R. Claus and H. - Karg. 1979. Milk progesterone determination as applied to the confirmation of oestrus, the detection of cycling and as an aid to veterinary and biotechnical measurements. in cows. *Brit. Vet. J.* 135: 541.
21. HANSEL, W. and S.E. Echternkamp. 1972. Control of ovarian function in domestic animals. *Am. Zoologist.* 12:225.
22. HEAP, R.B., M. Gwyn, J.A. Laing, and D.E. Walters. 1973. Pregnancy diagnosis in cows: changes in milk progesterone concentration during the oestrus cycle and pregnancy measured by a rapid radioimmunoassay. *J. Agric. -- Sci.* 81: 151.
23. HEAP, R.B., R.J. Holdsworth, J.E. Gadsby, J.A. LAING and D.E. Walters. 1976. Pregnancy diagnosis in the cow from milk progesterone concentrations.- *Brit. Vet. J.* 132:445.
24. HEAP, R.B., J.L. Linzell and J.A. Laing. 1974. Pregnancy diagnosis in cows:- use of progesterone concentrations in milk. *Vet. Rec.* 94:160.
25. HOFFMANN, B., O. Gunzler, R. Hamburger and W. Schmidt. 1976. Milk progesterone as a parameter for fertility control in cattle: methodological approaches and present status of application in Germany. *Brit. Vet. J.* 132:469.
26. HOFFMANN, B., R. Hamburger, O. Gunzler, L. Korndorfer and H. Lohoff. 1974.-- Determination of progesterone in milk applied for pregnancy diagnosis in the cow. *Theriogenology* 2:21.
27. HOLDSWORTH, R.J., J.M. Booth, G.A.M. Sharman and E.A.S. Tattray. 1980. Measurement of progesterone levels in whole and fore-milk from dairy-cows. *Brit. Vet. J.* 136:546.
28. HUMBLLOT, P. and M. Thibier. 1980. Progesterone monitoring of anoestrus dairy cows and a subsequent treatment with prostaglandin F_{2a} analog. or gonadotropin-releasing hormone. *Amer. J. Vet. Res.* 41:1762.
29. KARG, H., R. Claus, O. Gunzler, E. Rattermerger, R. Hahn and P. Hocke. 1980. Milk progesterone assay for assessing cyclicity and ovarian dysfunction in cattle. 9th. *Internat. Congr. of Anim. Reprod. & A.I. Madrid,* - Spain.

30. KING, G.J., J.F. Hurnik and H.A. Robertson, 1976. Ovarian function and estrus in dairy cows during early lactation. *J. Anim. Sc.* 42:688.
31. KUMMERFELD, H.L., E.A.B. Oltenacu and R.H. Foote. 1978. Embryonic mortality in dairy cows estimated by nonreturns to service, estrus and cyclic milk progesterone patterns, *J. Dairy Sc.* 61:1773.
32. LAING, J.A. 1976. Progesterone assays of milk and the control of infertility. *Brit. Vet. J.* 132:534.
33. LAING, J.A., S.A.K. Eastman and J.C. Boutflower. 1979. The use of progesterone concentrations in milk and plasma for pregnancy diagnosis in cattle. *Brit. Vet. J.* 135:204.
34. LAING, J.A., and R.B. Heap, 1971. The concentration of progesterone in milk of cows during the reproductive cycle. *Brit. Vet. J.* 127:xix.
35. LAMMING, G.E. and D.C. Bulman. 1976. The use of milk progesterone radioimmunoassay in the diagnosis and treatment of subfertility in dairy cows. *Brit. Vet. J.* 132:507.
36. Mc.CAUGHEY, W.J. and F.J. Gordon. 1979. Milk progesterone assay: a comparison of inter-quarter and sampling time variation. *Brit. Vet. J.* 135:512.
37. NARENDHAN, R., R.R. Hacher, V.G. Smith and A. Lun. 1979. Estrogen and progesterone concentrations in bovine milk during the estrous cycle. *Theriogenology* 12:20.
38. OLTENACU, E.A.B. and R.H. Foote. 1976. Monitoring fertility of A.I. programs: Can non-returns rate do the job? *Proc. 6th. Tech. Conf. A.I. Reprod., Nat. Assoc. Anim. Breeders., NAAB* pp 61.
39. OLTNER, R. and L.E. Edqvist. 1981. Progesterone in defatted milk; its relation to insemination and pregnant in normal cows as compared with cows on problem farms and individual problem animals. *Brit. Vet. J.* 137:78.
40. PELISSIER, C.L. 1972. Herd breeding problems and their consequences. *J. Dairy Sc.* 55:385.
41. PENNINGTON, J.A., S.L. Spahr and J.R. Lodge. 1976. Factors affecting progesterone concentration in milk for pregnancy diagnosis in dairy cattle. *Brit. Vet. J.* 132:487.
42. PENNINGTON, J.A., S.L. Spar and J.R. Lodge. 1981. Influences of progesterone concentration in bovine milk. *J. Dairy Sc.* 64:259.
43. PETERS, A.R. 1980. Milk progesterone profiles and the double injection of cloprostenol in post partum beef cows. *Vet. Rec.* 107:174.
44. PIETERSE, M.C. and D.F.M. van de Wiel. 1981. Use of milk progesterone test to check the detection of oestrus in cattle on a state farm in Tunicia. *Vet. Quart.* 3:206.
45. POPE, G.S., I. Majzlik. P.J. Ball and J.D. Leaver. 1976. Use of progesterone concentrations in plasma and milk in the diagnosis of pregnancy in domestic cattle, *Brit. Vet. J.* 132:497.
46. ROBERTSON, H.A. 1972. Sequential changes in plasma progesterone in the cow during the estrous cycle, pregnancy, at parturition and postpartum. *Can. J. Anim. Sc.* 52:645.
47. ROBERTSON, H.A. and I.R. Sarda. 1971. A very early pregnancy test for mammals: its application to the cow, ewe and sow. *J. Endocr.* 49:407.
48. SALISBURY, G.W., G.H. Beck, P.T. Cupps and I. Elliott. 1943. The effect of dilution rate on the livability and the fertility of bull spermatozoa used for artificial insemination. *J. Dairy Sc.* 26:1057.
49. SALISBURY, G.W., N.L. VanDemark and J.R. Lodge. 1978. *Physiology of reproduction and artificial insemination in dairy cattle.* 2nd. ed. W.H. Freeman & Co. San Francisco.

50. SCHAMS, D., E. Schallenberger, B. Hoffmann and H. Karg. 1977. The oestrus - cycle of the cow: Hormonal parameters and time relationships concerning oestrus, ovulation and electricla resistance of the vaginal mucus. *Acta Endocrinol.* 86:180.
51. SCHAMS, D., E. Schallenberger, C. Menzer, J. Stangl, K. Zottmeier, B. Hoffmann and H. Karg. 1978. Profiles of LH, FSH and progesterone in --- postpartum dairy cows and their relationship to the commencement of cyclic functions. *Theriogenology* 10:453.
52. SCHIAVO, J.J., R.L. Matuszczak, E.A.B. Oltenacu and R.H. Foote. 1975. Milk - progesterone in postpartum and pregnant cows as a monitor of reproductive status. *J. Dairy Sc.* 58:1713.
53. SCIPIONE, R.L. 1982. Use of milk progesterone and a vaginal probe to evaluate dairy herd reproductive performance. M.S. Thesis. Cornell University.
54. SHEMESH, M., N. Ayalon, E. Shalev, A. Nerya, H. Schindler and F. Milguir. -- 1978. Milk progesterone measurement in dairy cows: correlation with estrus and pregnancy determination. *Theriogenology.* 9:343.
55. SPALDING, R.W., R.W. Everett and R.H. Foote. 1975. Fertility in New York artificially inseminated Holstein herds in dairy herd improvement. - *J. Dairy Sc.* 58:718.
56. STEVENSON, J.S. and J.H. Britt, 1979. Relationships among luteinizing hormone, estradiol, progesterone, glucocorticoids, milk yield, body -- weight and postpartum ovarian activity in Holstein cows. *J. Anim. Sc.* 48:570.
57. VAN DE WIEL, D.F.M., C.H.J. Kalis and S. Nasir Hussain Shah. 1979. Combined-use of milk progesterone profiles, clinical examination and oesBrit. Vet. J. 135:568.
58. WEBB, R., G.E. Lamming, N.B. Haynes and G.R. Foxcroft. 1980. Plasma progesterone and gonadotrophin concentrations and ovarian activity in post-partum dairy cows. *J. Reprod. Fert.* 59:133.
59. WILLIAMS, W.F. 1962. Excretion of progesterone and its metabolites in milk, - urine and feces. *J. Dairy Sc.* 45:1541.
60. ZAIED, A.A., C.J. Bierschwal, R.G. Elmore, R.S. Youngquist, A.J. Sharp and - H.A. Garverick. 1979. Concentrations of progesterone in milk as a monitor of early pregnancy diagnosis in dairy cows. *Theriogenology* 12:3

TABLA 3 : Comparación entre la precisión de progesterona en leche, Índice de no retorno (NRR) y palpación rectal (PR) en la predicción de preñez. 6/

66

Días post servicio b	Estimación de preñez por				Diferencia %
	NRR		MP4 o PR		
	No.	%	No.	%	
21	349 ^c	82	177 ^c	41	41
23	295	69	166	48	21
25	268	63	156	50	13
42	207	48	---	--	--
60	169	40	143	33	7

- a. Estimación hecha solamente para porcentaje de preñez al primer servicio
 b. Días 21, 23 y 25 = MP4; Día 60 = PR
 c. Número de vacas estimadas preñadas para cada parametro.

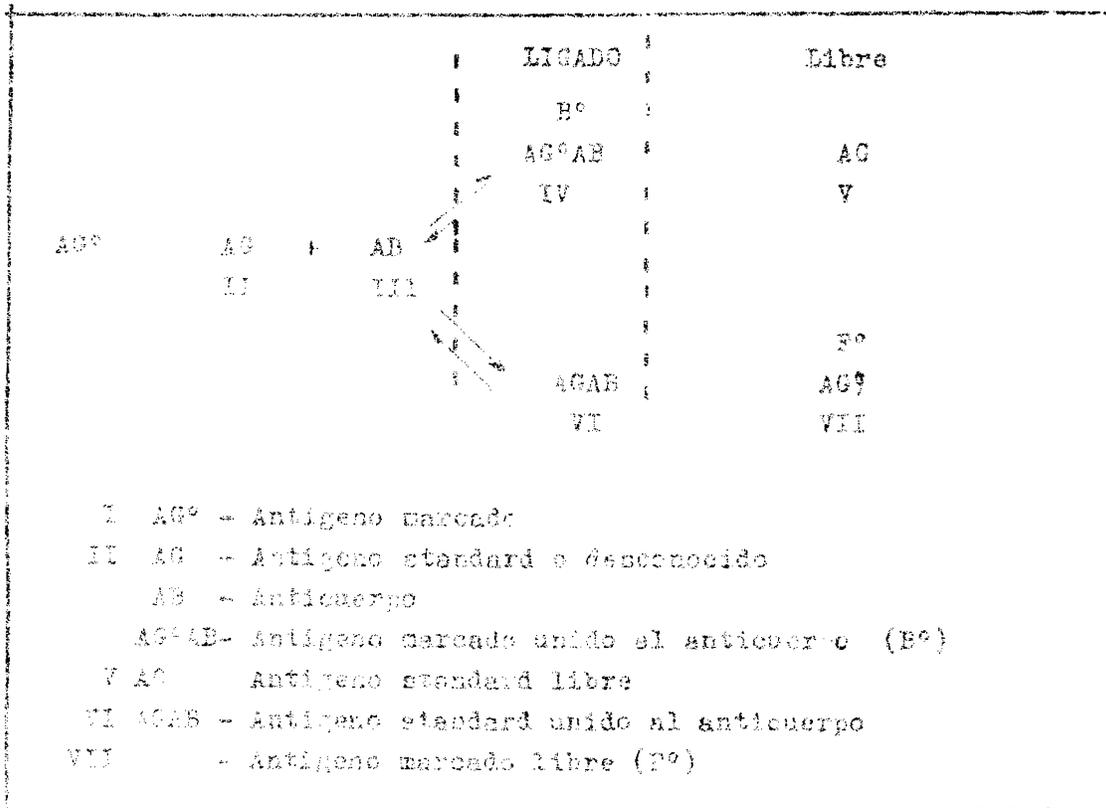


FIGURA Diagrama de los varas componentes del RIA.

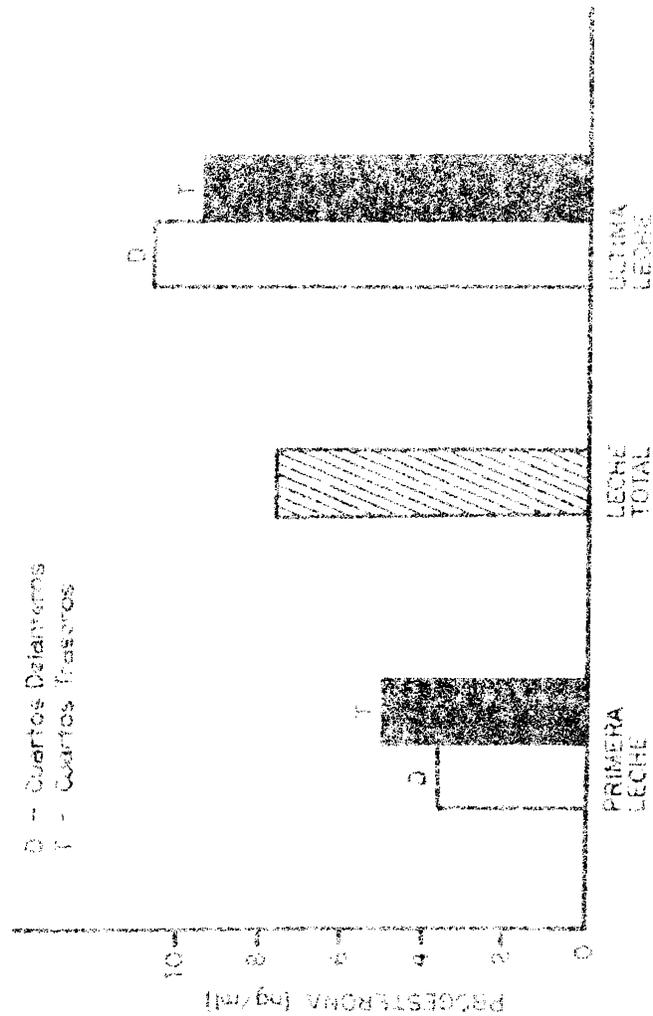


FIGURA 2 : Relación entre el nivel durante el ordeño en las muestras tomadas en cuartos delanteros (D) o traseros (T) con la concentración de progesterona (19)

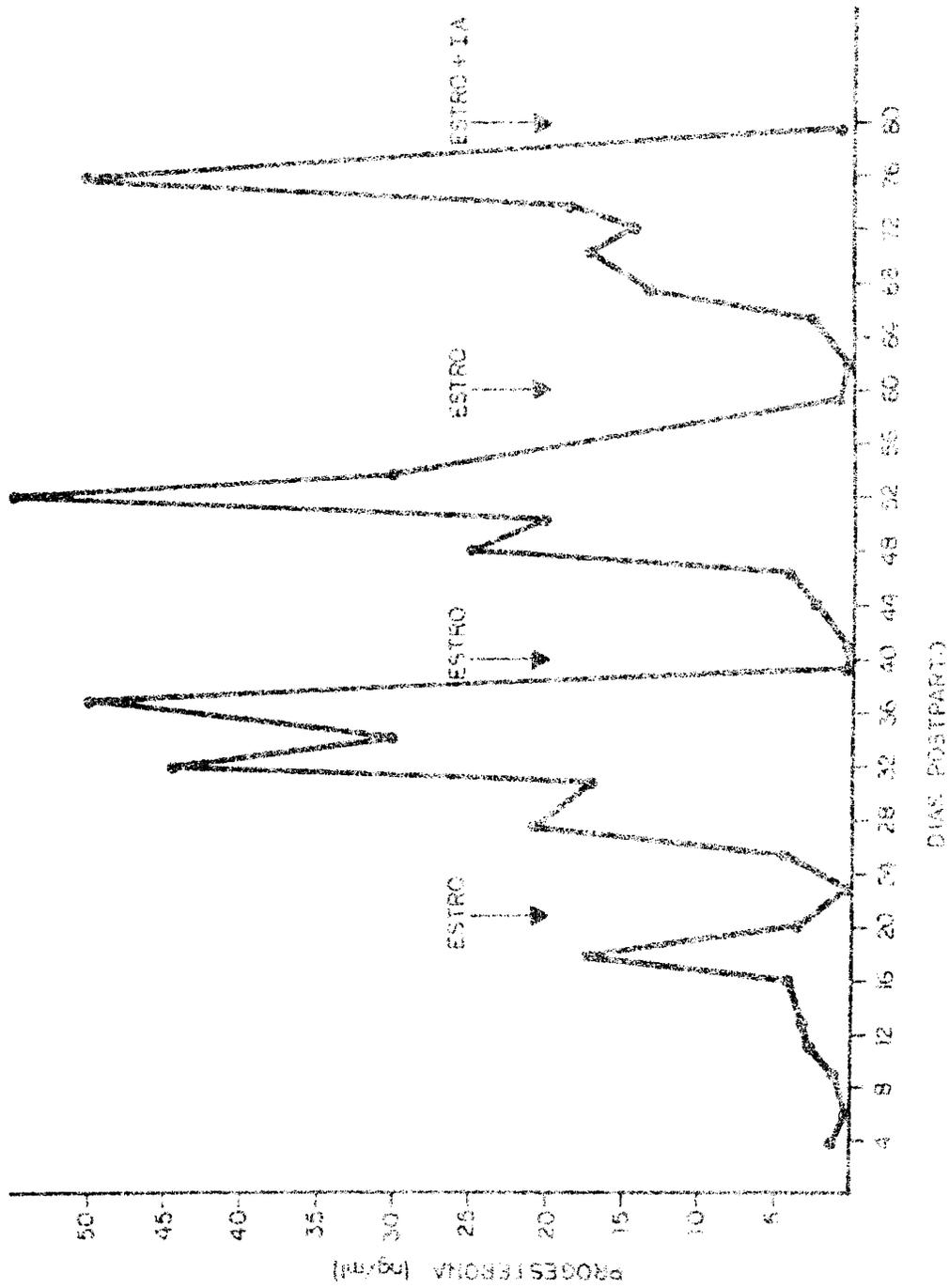


FIGURA 3 - Nivel de progesterona de un perfil normal de progesterona durante los primeros 80 días postparto (37).

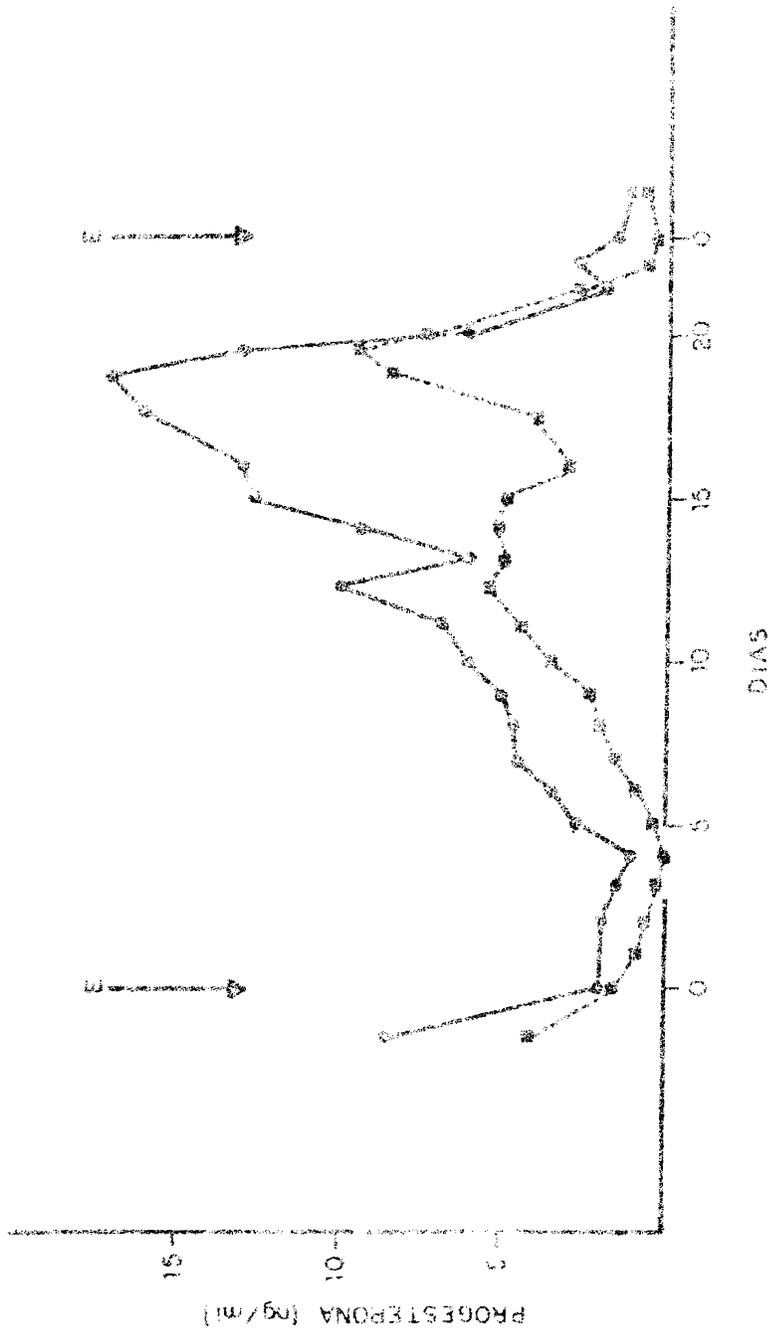


FIGURA 5 : Variaciones de la concentración de progesterona en plasma y leche durante un ciclo normal.

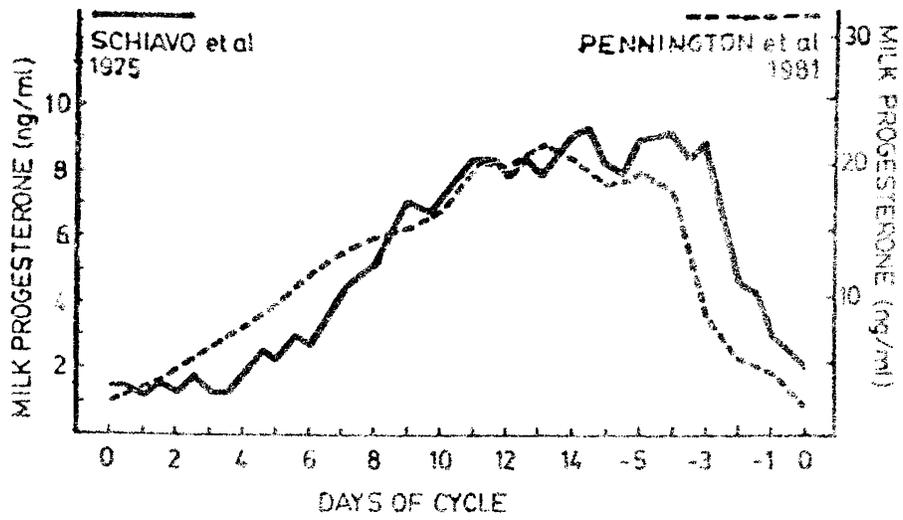


FIGURA 6 : Concentraciones de progesterona en leche obtenidas por dos métodos diferentes de RIA (42 y 52).

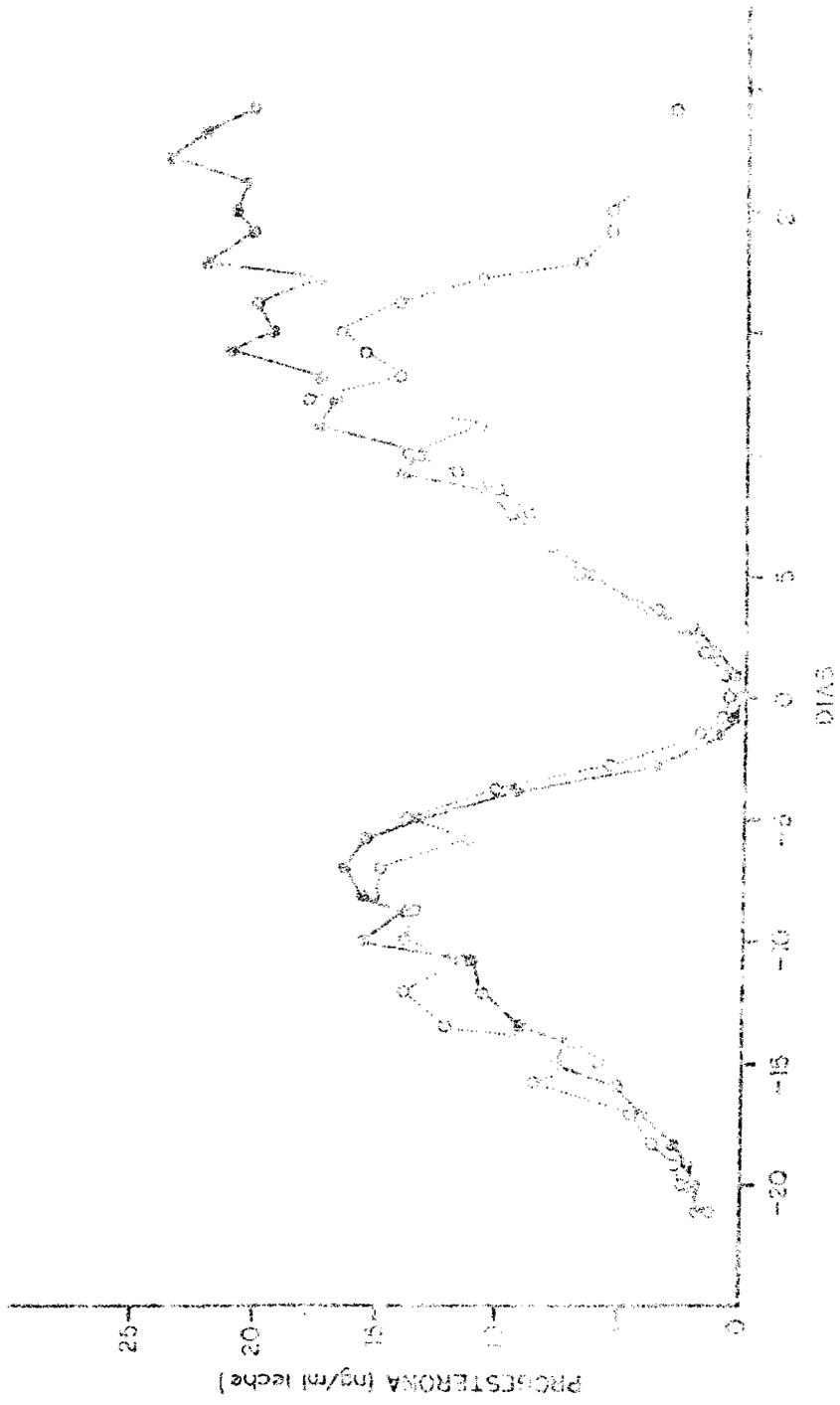


FIGURA 7 : Niveles de progesterona antes y después de la inseminación (días en vacas que concibieron (●—●) o no concibieron (□...□) (1)."

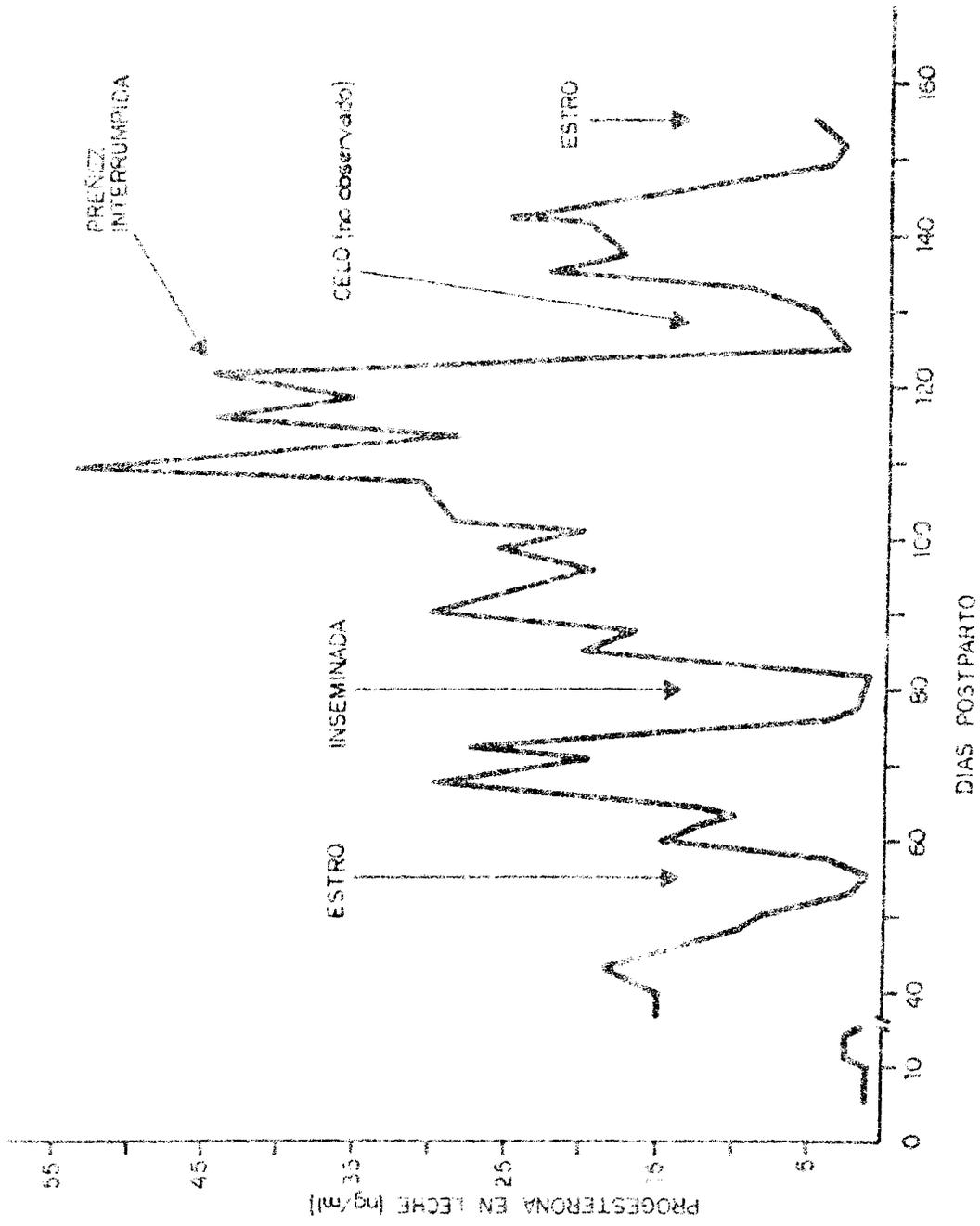


FIGURA 5 : Concentraciones de progesterona en leche indicando mortaliada d
 embriouctio temprano (31).

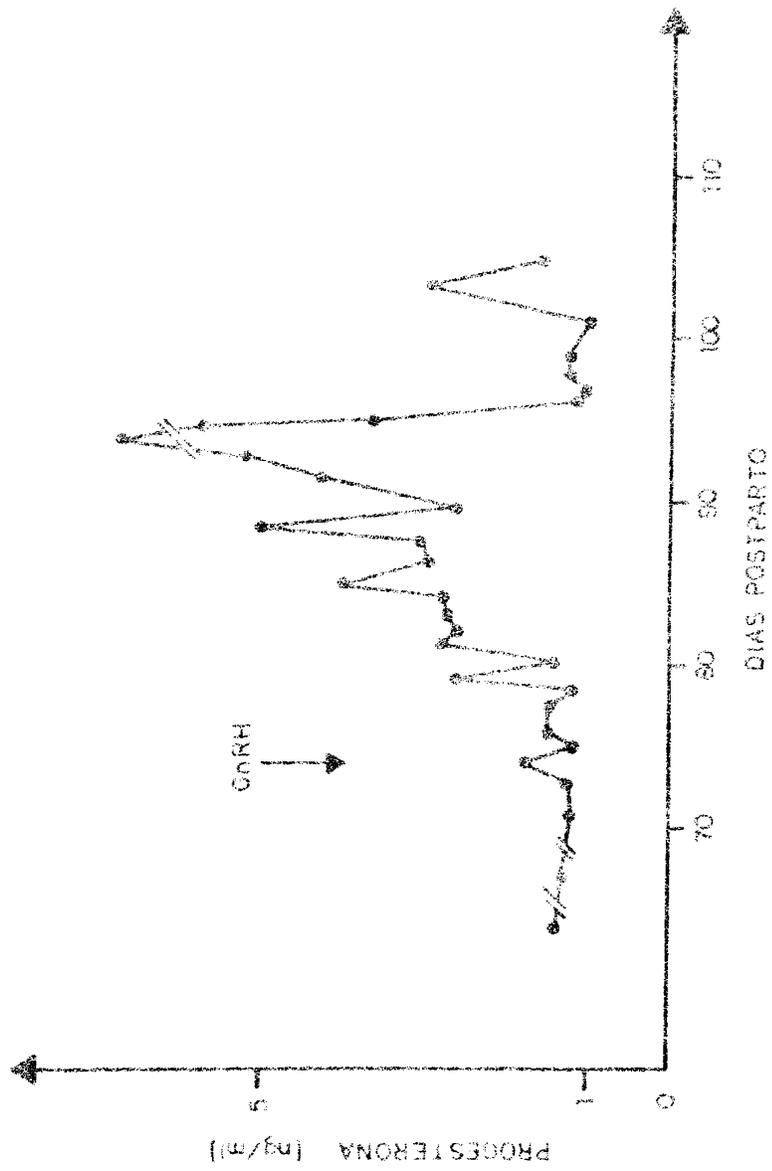


FIGURA 9 : Tratamiento con hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH) en vacas en anestro, controladas or progesterona (09).-

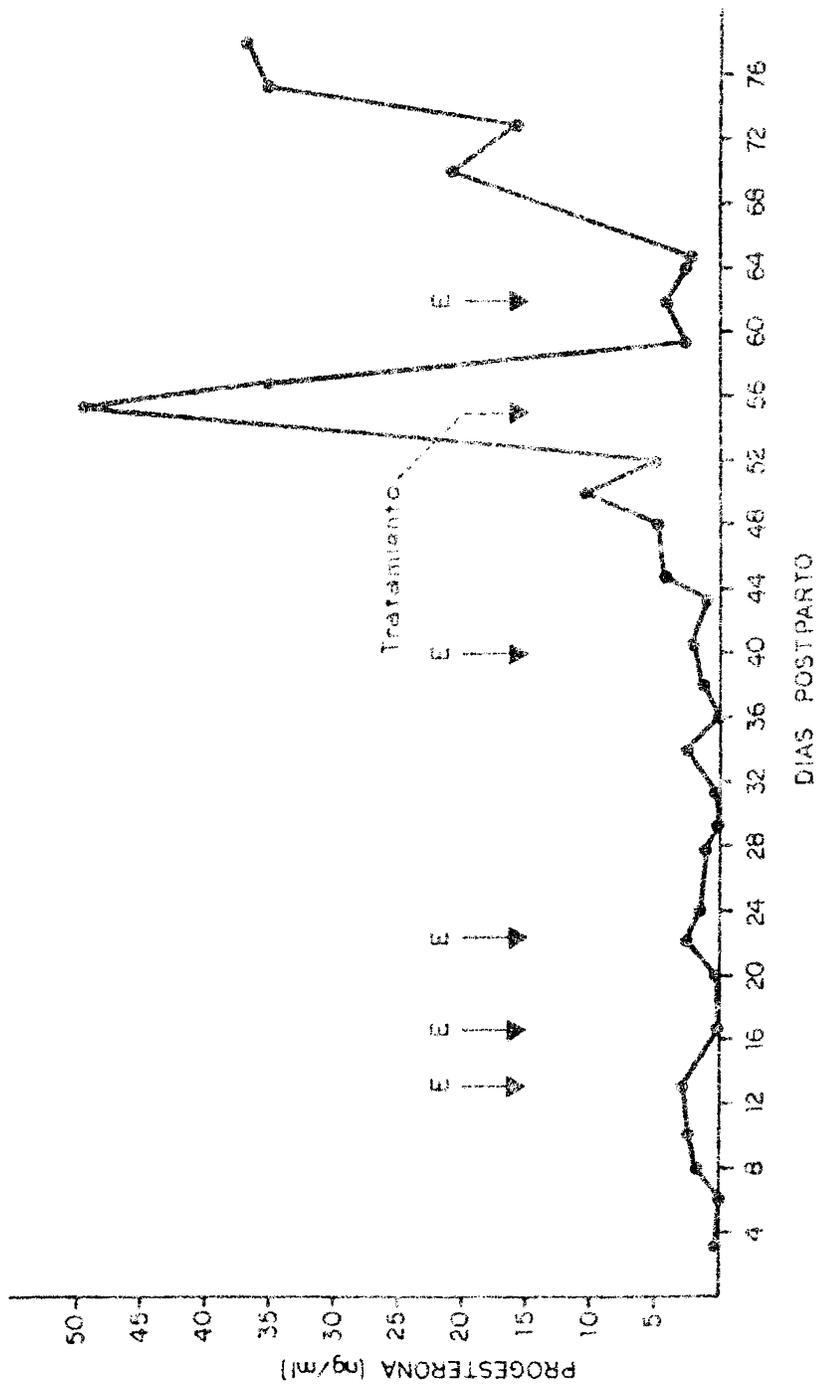


FIGURA 10: Perfil anormal de progesterona, mostrando una demora en el comienzo de la actividad luteal, asociada a quistes foliculares en el ovario (14).

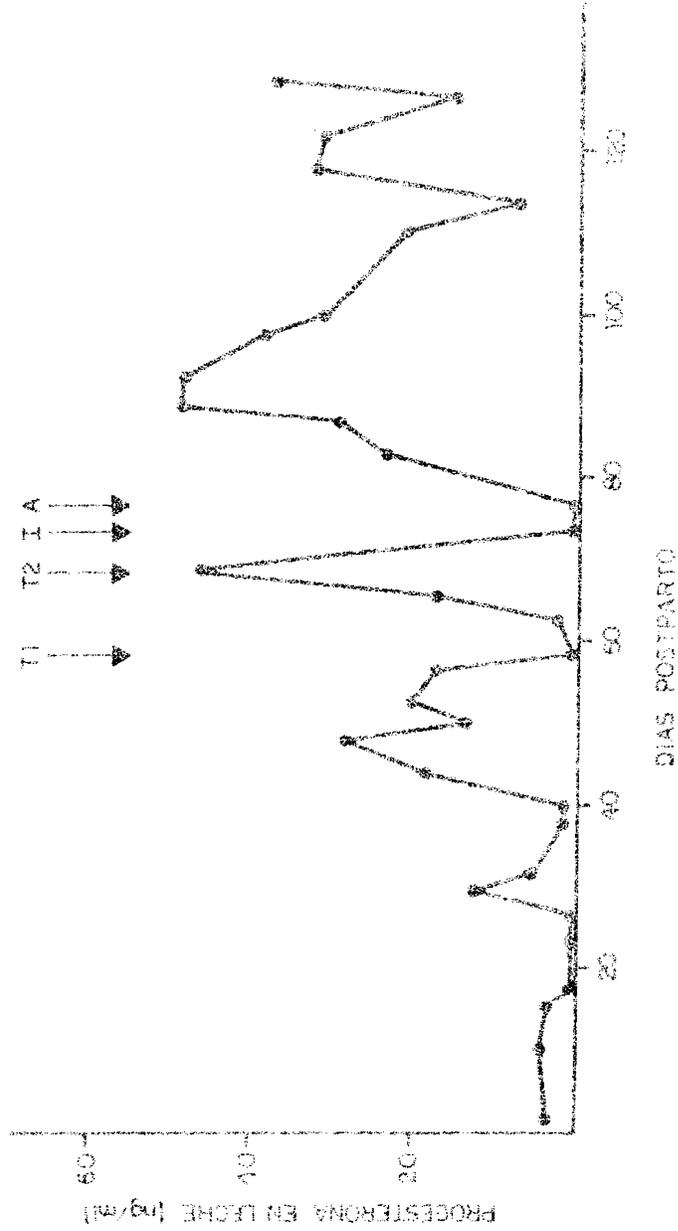


FIGURA 11: Progesterona en leche como control de un tratamiento de la
 orquidea de celo con prostaglandinas (40)."

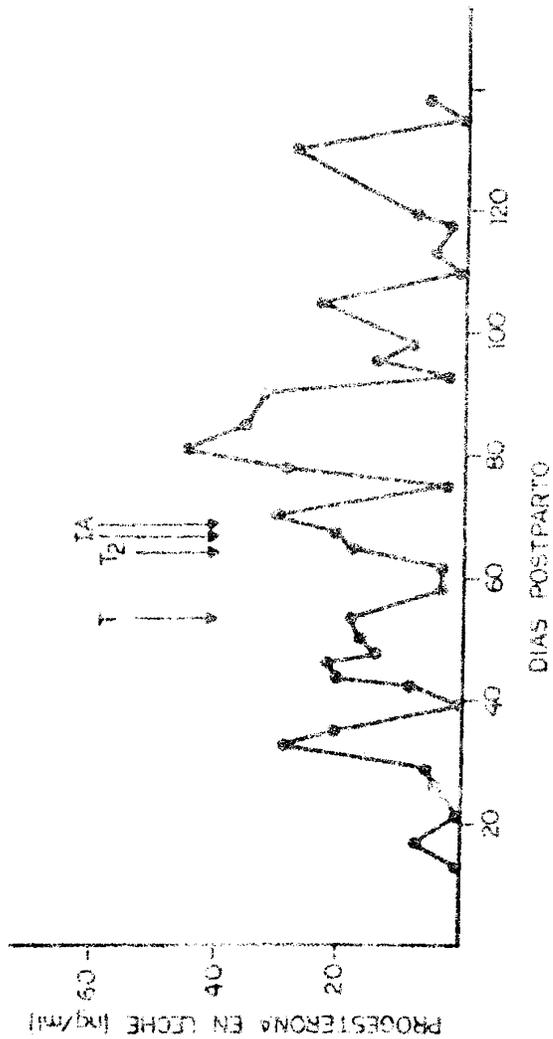
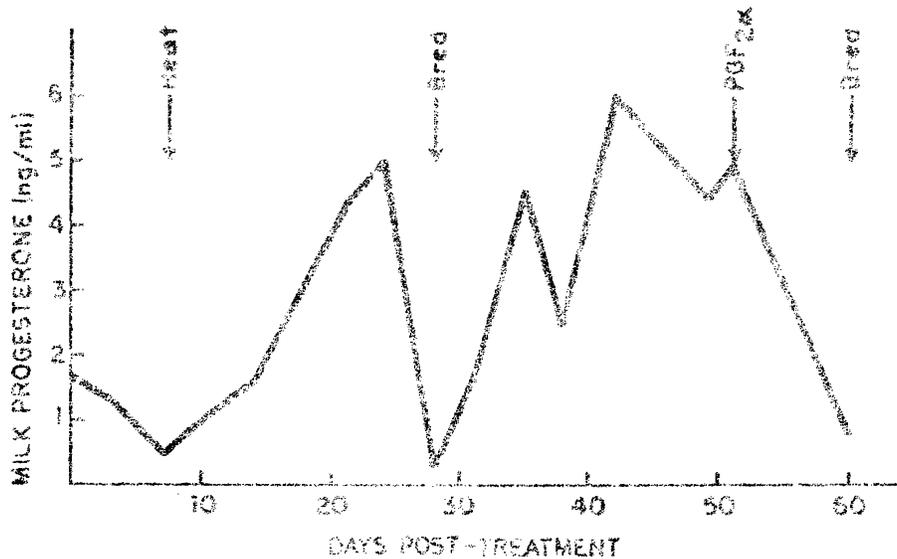


FIGURA 12 : Progesterona en leche como control de un tratam_iento de sincronización de celo con prostaglandinas (43).--

COW No 1241



COW No 902

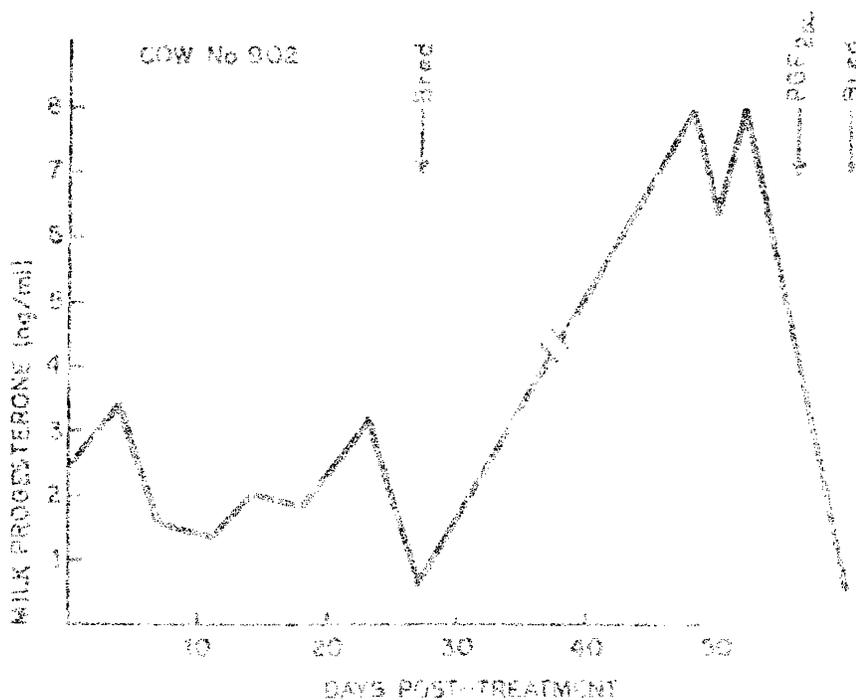


FIGURE 10: Abortus inducidos administraci3n
antigonadotropica u antioestrogena pro (8)