

CAUSAS NO INFECCIOSAS DE LA PERDIDA DE LA PREÑEZ EN VACUNOS

Juan E. Romano, DVM, MS, PhD

Diplomate, American College of Theriogenologists Large Animal Clinical Sciences
College of Veterinary Medicine & Biomedical Sciences Texas A&M University

Importancia

La mortalidad del embrión y/o feto es uno de los mas importantes factores de la reducción de la eficiencia reproductiva en vacunos (Ayalon, 1978; Wilmut et al., 1986; Peters, 1996). La importancia de esta pérdida no es solamente técnica sino tambien económica (Thurmond and Picanso, 1993; Romano, 2004). Información de viejas publicaciones estiman que el costo de la pérdida de preñez es de alrededor US\$ 1.4 billiones en USA (Gerrits et al., 1976) y de \$ 250 millions en UK por año (Peter and Ball, 1995). En USA, el costo de un aborto (>46 hasta 260 días) se ha estimado entre U\$ 500 a 800 US\$ 640 (Thurmond et al., 1990; Devries, 2006). El costo para una granja lechera con 600 preñeces por año puede llegar a US\$ 31.200 por año (Thurmond and Picanso, 1990). En el ganado para leche el promedio de preñez por cada inseminación artificial es de 50%, y en grandes lecherías comerciales en USA frecuentemente cercano al 30-40% o aun menor (MacMillan et al., 1996; Lucy, 2001). Recientes publicaciones sugieren que la fertilidad del ganado para leche a declinado significativamente comparado con 30-35 años atras (Lucy, 2001), remarcando, aun mas el valor y la importancia de cada preñez.

Definiciones

- 1- Conceptus. Es el producto de la concepción durante todo el período de la gestación.
- 2- Embrión. Es el conceptus durante el período de diferenciación (período embrionario).
- 3- Periodo embrionico: Desde el día 12 hasta la complesion del estadio de la diferenciación (aproximadamente el día 45).
- 4- Feto. Es el conceptus durante el período de crecimiento luego de la diferenciación hasta el parto.
- 5- Período fetal. Se extiende de la complesion de la diferenciación hasta el parto (desde el día 46).
- 6- Periodo prenatal: Se extiende desde la concepcion hasta justo antes del parto. Incluye los periodos de huevo, embrión y feto.
- 7- Mortalidad embrionaria/nica: Es la muerte o perdida del conceptus durante el período embrionario.
- 8- Mortalidad embrionaria precoz: tambien conocida como mortalidad embrionaria temprana. Es la muerte o pérdida de un conceptus antes del día 15-16 (estro= día 0). La hembra tiene un retorno regular del siguiente estro.
- 9- Mortalidad embrionaria tardía: Es la muerte o pérdida de un conceptus luego de los días 15-16 hasta el día 45. La hembra muestra un retorno extendido del siguiente estro.
- 10- Mortalidad fetal: Es la muerte o pérdida del conceptus despues del día 45 hasta antes de la completa expulsion durante el parto.
- 11- Aborto: expulsión de un feto pretérmino que no es capaz de vida independiente.

12- Feto prematuro: expulsión de un feto pretérmino que es capaz de vida independiente.

13- Nacido muerto: un feto a término muerto.

14- Pérdida de la preñez: es la pérdida de un embrión (período embrionario) o de un feto (período fetal) en una hembra previamente diagnosticada preñada.

15- Mortalidad embrionaria/fetal: es la muerte de un embrión y/o feto.

PREVALENCIA

En USA, de 3,812 abortos solamente un 23.3% a factor causal fue establecido (Hubbert et al., 1973). En otro estudio, de 2,544 abortos el 35.3% la causa fue detectada (Kirkbride et al., 1973). En Australia, de 265 abortos solamente un 37% a definitiva causa fue establecida (Jerrett et al., 1984) mientras que en Cánada, en solamente un 23% de 227 abortos el factor causal fue descubierto (Mitchell, 1960). En Inglaterra, en una alta proporción de los casos el factor causal permanenció desconocido (Johnson, 1983). In suma, todos estos estudios independientes estan de acuerdo que en la mayoría de los casos la causa de aborto la etiología es desconocida (quiza alredeor del 30% de diferentes laboratorios) (Miller, 1986). Es importante descartar, dos aspectos importantes, primero, la mayoría de los estudios de aborto estan basados en perdida de fetos más que de embriones, puesto que por su tamaño son facilmente reconocidos y son los cuales son enviados al laboratorio. Segundo, el aislamiento de un microorganismo en un caso de aborto no implica necesariamente que sea el agente causal del aborto. Por lo tanto, la proporción de la pérdida de la preñez es significativamente mas alta que la reportada y asi como la real etiología es significativamente subestimada.

RECONOCIMIENTO MATERNAL DE LA PREÑEZ

En el vacuno, el reconocimiento maternal de la preñez involucra diferentes mecanismos fisiológicos que resultan en la protección del cuerpo lúteo de la luteolisis por modificar o inhibir la producción de pulsos de prostaglandina F-2 α de la mucosa uterina (Humblot and Dalla Porta, 1984). Grandes cantidades de Interferon-Tau es producido y liberado por las células mononucleares del trofoblasto cuando el blastocysto comienza a alargarse en los días 14-16 del ciclo estral del vacuno. Durante el periodo terminal de la fase luteal, oxitocina estimula la liberación episódica de prostaglandina F-2 α y luteolisis ocurre (Bazer et al., 1997). Interferon-Tau ejerce su efecto anti-luteolítico inhibiendo la expresión endometrial del receptor de oxitocina. Por lo tanto, la producción de progesterona por el cuerpo lúteo asegura el mantenimieto de un endometrio en fase luteal que es adecuado para el desarrollo embrionario. Interferon-Tau es un excelente marcador de la preñez. Desafortunadamente, esta proteína trofoblastica permanece en el lumen uterino y no es detectada en



cantidades medibles en la circulación periférica maternal.

METODOS DE EVALUACION DE LA PERDIDA DE LA PREÑEZ

- 1- Sacrificio de hembras luego del servicio.
- 2- Tasas de no retorno del estro.
- 3- Perfiles hormonales.
- 4- Palpación transrectal.
- 5- Ultrasonografía transrectal.

1-Sacrificio de hembras luego del servicio.

El sacrificio de hembras a diferentes intervalos luego del servicio natural o artificial para inmediatamente lavar el tracto reproductivo y recuperar embriones fue usado para estimar la tasa de fertilización, tasas de mortalidad embrionaria temprana y tasa de mortalizada embrionaria tardía (Hawk et al., 1955b; Diskin and Sreenan, 1980; Maurer and Chenault, 1983). Este método experimental si bien es muy certero, cada animal contribuye solamente con una observación y tiene un costo elevado. Por otro lado, este método no es aplicable en la práctica veterinaria diaria.

2- Tasas de no retorno del estro

En general, se asume que si una vaca o vaquillona no retorna en estro entre los 18 a 24 días luego del servicio probablemente este preñada. Este criterio sin embargo tiene algunos inconvenientes: problemas de fertilización o mortalidad temprana del embrión no son tenidos en cuenta, también asume que la eficiencia y certeza de la detección del estro es de 100% y que además todas las hembras no preñadas tienen regulares ciclos estrales. La tasa de no retorno del estro, en general, sobreestima la tasa de preñez en el vacuno (Kidder et al., 1954) y también esta condicionada por la cantidad y calidad del procedimiento utilizado en la detección del estro (Foote, 1974). La "nueva" vaca lechera aparentemente tiene una diferente performance reproductiva comparada con el "viejo" tipo de vaca lechera (Lucy, 2001). El estro parece reducido en duración así como la intensidad de los signos clínicos del estro comparado el "viejo" tipo de vaca lechera (Lucy, 2001). Recientes investigaciones confirman en una marcada reducción en intensidad de signos clínicos así como en la duración del estro comparado son valores obtenidos muchos años atrás (Dransfield et al., 1998). Mas aun, la actual eficiencia de detección del estros es muy baja, lo que conduce a una alta posibilidad de perder estros (Foote, 1974; Dransfield et al., 1998). Por lo tanto, el uso de las tasas de no retorno del estro que usa solamente dos veces al día detección del estro por observación de signos primarios del estro conducirá invariablemente a un incremento en los errores de la estimación de la preñez.

Las tasas de no retorno del estro, por otro lado, asume que una vaca o vaquillona cuando esta preñada no muestra signos clínicos del estro. Sin embargo, es necesario remarcar que entre un 4 al 15% de las vacas preñadas muestran signos de estro, aceptación a la monta de otra vaca, especialmente durante el primer trimestre de la gestación (Donald, 1943; Donoho and Rickard, 1955; Gilmore, 1952). En suma, la tasa de retorno del estro no

es un estimador confiable de vacas/vaquillonas vacías así como de vacas/vaquillonas preñadas.

3- Perfiles hormonales.

a- Progesterona

Progesterona es una hormona producida principalmente por el cuerpo lúteo (cuerpo Amarillo; CL) del ovario durante los primeros cuatro a cinco meses de la preñez. Su nivel en plasma/suero o en leche aumenta y disminuye en respuesta al desarrollo, maduración y regression de esta estructura ovárica. Progesterona se usa para seleccionar animales probablemente preñados. Sin embargo, altos niveles de progesterona en leche o sangre es considerado un buen marcador de la actividad ovárica mas que del estado de preñez (Britt, 1995). Altas niveles de progesterona estan tambien presentes en otras clinicas condiciones como: inflamación del utero, quistes ováricos luteales, fase luteal normal y durante la presencia de un embrión o feto muerto dentro del utero (Pennington et al., 1976; Kassam et al., 1987; Romano, unpublished observations). Por otro lado, un nivel bajo de progsterona en leche o sangre es un excelente indicador de no preñez, por lo tanto, el nivel de progesterona es un indicador hormonal confiable de animal no preñado (vacío) mas que de preñez (Shemesh et al., 1978; Laing et al., 1980). Progesterona es un excelente test de no preñez (valor de prediccion de 95%) pero no es un marcador confiable de predicción de la preñez (entre un 60 a 80% entre los diferentes articulos publicados) (Shemesh et al., 1978; Laing et al., 1980). Por otro lado, muestras seriadas tomadas al día 0 (día del servicio natural o artificial) y entre los días 21 y 24, mejora la certeza del diagnóstico de no preñez entre un 95 y 100%.

b- Sulfato de Estrona (E1SO4)

El sulfato de estrona, es un estrógeno conjugado, es el producto de la unidad fetoplacentar y ha sido usado para el diagnóstico de preñez en vacunos, ovinos y caprinos (Holdsworth et al., 1982; Mohamed et al., 1987). Desafortunadamente, el sulfato de estrona en sangre maternal permanece a niveles no detectables hasta aproximadamente los días 70-100 de la gestación (dependiendo del laboratorio; Hirako et al., 2002). El sulfato de estrona no solo es un indicador de preñez sino que tambien de viabilidad fetal. Debido a su tardía aparición en sangre maternal no puede ser considerado como un indicador precoz de la preñez. En la práctica veterinaria, estrona sulfato no ofrece ventajas sobre otros métodos de diagnósticos de la preñez, tales como palpación transrectal o ultrasonografía transrectal. Sin embargo, el uso del sulfato de estrona esta indicado en situaciones clínicas especiales en la cual la hembra no es posible examinarla debido a trauma rectal, tamaño corporal pequeño, comportamiento difícil, etc.

c- Proteínas Específicas de la Preñez (PSP)

Las proteínas específicas de la preñez son glicoproteínas sintetizadas por las células binucleadas (gigantes) de la placenta bovina (Butler et al., 1982; Wooding et al., 2005). Las PSP comprende un grupo muy grande de antígenos placentarios agrupados en la familia de las enzimas de la aspartato proteinasa (Wooding et al., 2005). Entre las PSP

bovinas se encuentra la proteína específica de la preñez-B (PSP-B; Butler et al., 1982), y una proteína relacionada conocida como proteína bovina asociada glicoproteína (bPAG; Zoli et al., 1991), la proteína específica de la preñez bovina glicoproteína 1 (bPAG-1; Xie et al., 1991) y la proteína específica de la preñez-60 (PSP-60; Mialon et al., 1993). La PSP-B ha sido detectada en el plasma de vacas preñadas tan temprano como en el día 15 al 22 luego de la inseminación artificial y en forma consistente luego de los días 24 a 28 (Sasser et al., 1986). luego de la inseminación artificial (Butler et al., 1982). Sin embargo, concentraciones variables en sangre periférica de PSP-B han sido detectadas y resultados consistentes han sido obtenidos luego de los 30 días del servicio (Sasser et al., 1987; Humblot, 1988; Humblot et al., 1988; Sasser et al., 1991; Vasques et al., 1995). Se recomienda que el test for PSP-B sea usado luego de los días 70-100 luego del parto (Humblot et al., 1988; Sasser et al., 1987; Skinner et al., 1996; Zoli et al., 1992; Kiracofe et al., 1993) debido a la persistencia de altos niveles en sangre luego del parto. Por otro lado concentraciones elevadas de PSP-B y/o de PAG similar a animales preñados han sido obtenidos en animals que sufrieron pérdida de la preñez (Maurer et al., 1985; Romano, 2004; Humblot et al., 1988; Semambo et al., 1992; Szencic et al., 2003). En investigaciones previas, en la cual PSP-B o PAG-1 fueron evaluadas por radioimmunoassay la máxima sensibilidad y el valor de predicción negativo fue alcanzado entre los días 30 a 35 (Humblot et al., 1988) o entre los días 37 u 38 (Szenci et al., 1998) para la PSP-B y a los días 33 (Skinner et al, 1996) o días 44 u 45 (Szenci et al., 1998) para la PAG-1.

d- Factor temprano de la preñez (EPF; Early pregnancy factor)

El factor temprano de la preñez (EPF; Early pregnancy factor), también conocido como factor temprano de la concepción (ECF; early conception factor), es una glicoproteína de un alto peso molecular (200.000 Daltons). Su aparición en sangre del ratón preñado dentro de las primeras horas luego del servicio pero su origen de producción no está completamente establecido. El EPF es un marcador de la preñez que aparece pocas horas luego de la fertilización y desaparece rápidamente luego de la remoción o muerte del embrión. En el vacuno, EPF puede detectarse en sangre o leche de animales preñados tan temprano como en el día 3 luego de la inseminación artificial, aunque resultados más precisos pueden ser obtenidos si las muestras son colectadas después del día 7 u 8 luego del servicio. Informes iniciales indican que es un método fiable para el diagnóstico de no preñez con predicción del 94.6% para vacas dentro las 24 a 48 horas luego de la inseminación artificial. Sin embargo, recientes publicaciones indican que este test no es lo suficiente certero para ser usado como instrumento de manejo en la reproducción del ganado. En nuestras manos, muchos falsos negativos resultados fueron obtenidos. A pesar, de que un "dipstick" EPF es disponible en el Mercado, este test no es lo suficiente fiable para ser usado en la práctica diaria y refinamiento de este test es requerido con nuevos estudios sobre su valor de predicción en el diagnóstico de la preñez. (DesCôteaux et al., 2000; Gandy et al., 2001;

Romano et al., 2006)

4- Palpación transrectal

El diagnóstico de preñez por palpación transrectal es un método que se basa en la detección de signos positivos de la preñez (membrana alantocoriónica, saco amniótico, placentomas, y/o feto) dentro del útero a través del recto (Zemjanis, 1971). Los signos clínicos de la preñez aparecen a diferentes intervalos luego del servicio (Zemjanis, 1971). Información científica sobre la certeza del diagnóstico de preñez por palpación transrectal están faltando, sin embargo, algunos autores sugieren que es un método certero cuando es realizado por un veterinario entrenado después de los días 35 luego del servicio (Euler, 1930; Goetze, 1942; Roberts, 1971; Zemjanis, 1971; Momont, 1990). La palpación transrectal durante la preñez temprana no provee información sobre la viabilidad del embrión o del feto (Romano and Magee, 2001). Por lo tanto, algunas hembras con un embrión y/o feto muerto o en el inicio del proceso de degeneración presentan signos positivos de la preñez y posteriormente se encontraron vacías, en estro o no pariran en la fecha prevista (Romano et al., 2006; Romano et al., 2007; Romano, unpublished observations). Otro aspecto importante de la palpación transrectal es saber cuán segura es esta técnica para la madre como para el embrión o feto. Un reciente estudio, mostró que la palpación transrectal realizada por un veterinario entrenado entre los días 34 to 41 después del servicio no incrementa la pérdida de preñez comparado contra un grupo control positivo de hembras preñadas no palpadas por recto (Romano et al., 2007).

5- Ultrasonografía transrectal.

En años recientes, la ultrasonografía transrectal es usada para el diagnóstico temprano de preñez y para determinar la muerte embrionaria y/o fetal (Kahn, 1992). Además, informes en medicina veterinaria u humana han mostrado que una técnica segura sin ningún efecto deletéreo para el embrión y/o feto cuando es usada adecuadamente (Reece et al., 1990; Kahn, 1992; Ball and Longue, 1994; Baxter and Ward, 1997; Miller, 2008). La ultrasonografía transrectal para el diagnóstico de preñez ofrece algunas ventajas sobre la palpación transrectal: diagnóstico temprano de preñez, diagnóstico de mellizos, determinación de la viabilidad del embrión y/o feto, reducción de posibles errores en el diagnóstico (falsos negativos, falsos positivos) y reducción de la posible causa iatrogénica de muerte embrionaria/fetal por la palpación transrectal (Romano and Magee, 2001; Romano, 2004;). Otro aspecto interesante de la ultrasonografía es la posibilidad de compartir simultáneamente con otra persona durante el proceso diagnóstico así como recordar toda la información para su posterior uso o análisis. En un estudio reciente, la máxima sensibilidad y valor predictivo de no preñez fue obtenido a partir del día 29 en vacas y del día 26 en vaquillonas (Romano et al., 2006).

CAUSAS DE PERDIDA DE LA PREÑEZ

Es importante y conveniente remarcar el siguiente concepto que cualquier factor que afecta el bienestar de la vaca/



vaquillona preñada tiene la capacidad potencial de afectar directamente o indirectamente al embrión y/o feto. Diferentes factores han sido reportados que afectan la mortalidad embrionaria y/o fetal tales como: defectos cromosómicos y genéticos (Mylrea, 1963; Bishop, 1964; King, 1990; Kawarsky et al., 1996), nutrición (Dunne et al., 1999; Laven and Drew, 1999), edad maternal (Erb and Holtz, 1958; Ball, 1978), factores del medio ambiente (Wise et al., 1988; Ryan et al., 1993), efecto del macho (Hawk et al., 1955a; Bishop, 1964), momento de la inseminación artificial (Pursley et al., 1998), desbalances hormonales (Ayalon, 1978; Lafrance et al., 1989), enfermedades infecciosas (Drost and Thatcher, 1994), ambiente uterino (Ayalon, 1978; Wiebold, 1988), causas iatrogénicas: palpación transrectal (Abbitt et al., 1978), inseminación artificial de hembras preñadas (Weaver et al., 1989), administración de prostaglandina F-2 α (Cavestany and Foote, 1985).

TIPOS DE MORTALIDAD EMBRIONARIA Y/O FETAL

Basado en el comportamiento sexual, palpación transrectal, ultrasonografía y perfiles hormonales (progesterona y pregnant specific protein-B) dos diferentes formas clínicas de mortalidad embrionaria y/o fetal (EFM) fueron descriptas: Tipo I y Tipo II the EFM (Romano, 2004). Tipo I of EFM fue observada primeramente y esta caracteriza por la presencia de signos positivo del pellizcamiento/deslizamiento de la membrana alantocoriónica por palpación transrectal, presencia de un embrión y/o feto en proceso de degeneración y la presencia de un cuerpo lúteo funcional. Por otro lado, persistencia de niveles elevados de las hormonas progesterona y PSP-B en sangre periférica fueron detectados (Romano, 2004). El Tipo II de EFM fue caracterizado clínicamente por la ausencia de un embrión y/o feto dentro del útero, signo negativo del pellizcamiento/deslizamiento de la membrana alantocoriónica y la ausencia de un cuerpo lúteo funcional. El nivel de progesterona en sangre periférica fue bajo. La hormona PSP-B permaneció elevada pero su persistencia en sangre periférica fue significativamente menor que con respecto al Tipo I de EFM (Romano, 2004).

FACTORES ASOCIADOS CON LA PERDIDA DE LA PREÑEZ.

1-Periodo de la Preñez

La pérdida de la preñez disminuye como el intervalo entre el servicio y el diagnóstico de preñez incrementa. En general, por cada cinco vacas para producción de leche diagnosticadas preñadas alrededor del día 30 de la gestación solamente cuatro tendrán un feto viable al día 120 de la preñez (Romano, 2004). Por otro lado, el tamaño de la granja influencia la frecuencia de la visita y por lo tanto afecta la edad media en cual la preñez es diagnosticada. Como la frecuencia de la visita aumenta, el promedio de la edad en cual los diagnósticos de preñez son realizados disminuye (Lemire et al., 1993). Por lo tanto, la probabilidad de encontrar una pérdida de la preñez es mayor en grandes rodeos lecheros comparado con pequeños rodeos. Vacas diagnosticadas preñadas al día

41 o más temprano fueron significativamente menos probables de tener un ternero al parto comparado con vacas diagnosticadas posteriormente (White et al., 1989). Otro estudio mostró que la pérdida de la preñez fue alta cuando las vacas fueron diagnosticadas preñadas al día 48 o menor de la preñez (Lemire et al., 1993). Estudios recientes, que incluyen vacas para leche durante la lactancia informaron un incremento en el porcentaje de pérdida de la preñez por el uso de la ultrasonografía transrectal. La causa de esta reducción puede ser debido a que la edad del diagnóstico de preñez es menor comparado con la palpación transrectal, como fue mencionado anteriormente. En California, un estudio reportó una mortalidad embrionaria y/o fetal del 19% cuando el diagnóstico de preñez fue realizado entre los días 28 y 90 (Santos et al., 2001). En Texas, un reciente estudio obtuvo los mismos resultados de una pérdida de la preñez de un 19,2% cuando el diagnóstico de la preñez fue realizado alrededor del día 30 y la reevaluación se realizó al día 120 de la preñez (Romano, 2004). Finalmente, ganado lechero de central Utah y de California, que usaron inseminación artificial a tiempo fijo reportó un 24% de la pérdida de la preñez entre los días 28 y 98 de la preñez (Vasconcelos et al., 1997).

2-Lactación

La pérdida de la preñez parece ser reducida en vaquillonas comparada con vacas. En Israel, similares tendencias fueron observadas en vacas y vaquillonas Hostein (Markusfeld, 1997). Por otro lado, la edad de la vaca no fue un factor de riesgo en la pérdida de la preñez en otro estudio realizado en California (Thurmond et al., 1990). Ball (1978), informó un gradual incremento de la pérdida de la preñez, estimada por niveles de progesterona en leche, especialmente luego de la cuarta lactación. En general, vaquillonas son criadas en la misma unidad lechera, pero permanecen separadas hasta que a los siete meses de preñez cuando son juntadas con vacas en periodo de secado. En vacas lecheras en lactación, el riesgo de pérdida de la preñez fue similar para todas las paridades y en acuerdo con otros resultados reportados en vacas Holstein en Israel (Markusfeld, 1997). Altas tasas de mortalidad embrionaria y/o fetal en animales viejos comparado con animales jóvenes ha sido reportado en diferentes especies (Donaldson, 1984; Brinsko et al., 1994; Ball et al., 1989). Las causas de una reducida capacidad de fertilización del ovocito o una incapacidad del útero de asegurar un adecuado medio ambiente como la edad incrementa ha sido sugeridos como algunos de los factores causales (Donaldson, 1984; Brinsko et al., 1994).

3-Número de embriones y/o fetos

El número de embriones/fetos es un importante factor de riesgo que afecta la tasa de mortalidad embrionaria y/o fetal. Animales preñados con mellizos tienen más del doble riesgo de abortar comparado con animales preñados con solo un embrión. En un reciente estudio, en el cual más de 550 preñeces en ganado Hostein (vacas y vaquillonas) detectadas alrededor del día 30 de preñez y luego fueron evaluadas a intervalos regulares (días 45, 60, 75 y 120) se observó que las preñeces con mellizos tuvieron entre 2-5 to 3 veces más alto riesgo de pérdida de la preñez comparado con preñeces de únicos (Romano, 2004). En

ganado lechero, preñeces con mellizos fraternales son mas frecuentes (originadas por dos independientes ovulaciones) que la de mellizos idénticos. Por otro lado, el tipo de mortalidad embrionaria y/o fetal en preñeces con mellizos fue the Tipo I. Tipo I de EFM esta caracterizada por un signo positivo del pellizcamiento del saco alantocorionico detectado por palpación transrectal, presencia de un embrión y/o feto en proceso de degeneración, presencia de un cuerpo lúteo funcional y por prolongado intervalo entre la muerte del embrión/feto y su expulsión desde el utero (Romano, 2004). Por otro lado, los niveles hormonales de progesterona y PSP-B se encuentran elevados (Romano, 2004). Competición entre embriones/fetos por nutrición, espacio de ambos factores pueden ser considerados como potenciales factores causas de dicha pérdida.

4-Condición corporal

Animales preñados con un score de condición corporal bajo al momento del diagnóstico de preñez (2,5 puntos) tienen un riesgo aumentado de pérdida de la preñez que animales with alto score the condición corporal en el mismo periodo de examinación (Romano, unpublished observations).

5-Intervalo desde el parto al servicio

Hembras preñadas dentro de los primeros 100 días del parto tienen un riesgo incrementado de ser encontradas vacías en una subsecuente examinación (Romano, unpublished observations). La causa de ésto es desconocida y parece ser independiente del valor de la condición corporal.

MANTENIMIENTO DE LA PREÑEZ

Cuando el veterinario esta en frente de un caso de pérdida de la preñez en vacunos, la detallada y pormenorizada investigación de todas las posibles causas deben ser consideradas y evaluadas, para poder aconsejar una específica recomendación. Revisión de la información con respecto a los siguientes puntos es requerida: método de diagnóstico de preñez utilizado, edad media del diagnóstico de preñez, manejo de la nutrición, información de salud (que incluye vacunaciones, antiparasitarios, momento de aplicación, dosis, etc), introducción de nuevos animales. También es importante conocer si cambios fueron realizados en las siguientes areas: nuevos alimentos (nuevas partidas de alimentos, cambio de la fuente de agua, etc), salud (nuevos productos: vacunas, antiparasitarios), reproducción (nuevos programas de AI, nuevos toros, nueva raza, etc), así como cambios en el manejo.

a- Nutrición

El ganado lechero debe ser secado con un score de condición corporal de alrededor 3/3,25 y alimentarse durante el periodo de seco deben mantener esta condición corporal hasta el momento del parto. Exceso de alimentación durante el *period seco* debe evitarse, puesto que conducen a la posibilidad de producir el síndrome de hígado graso. Los animales deben ser mantenidos en una condición corporal igual o superior a 2,5 al momento del diagnóstico de preñez. Cualquier potencial causa de stress nutritivo debe evitarse o eliminarse. Los animales deben tener libre acceso a sales minerales y agua.

b- Salud

Adecuada evaluación de la información con respecto a tratamientos durante la gestación así como durante el secado son necesarios. Los protocolos de vacunación utilizados durante el pre y post-servicio contra Leptospirosis, IBR, BVD, PI-3, BSV, Clostridium, Campilobacter, etc deben ser evaluados. La información debe contener todos los productos utilizados, dosis, tipo de vacunas (virus vivo modificado, productos inactivados), número de vacunaciones aplicadas simultaneamente. Administración de drogas contra los parasitos tambien deben revisarse. Una adecuada evaluación de la información sobre mastitis, resultados de los cultivos, protocolos de secado, tratamientos de los cuartos debe realizarse. Evaluación de previos problemas podales así como de tratamientos podales preventivos (recortes, antibioticos, desinfectantes).

c- Registros reproductivos

La colección y análisis de certera información es capital. Cada animal diagnosticado como preñado que muestra signos de estro, aceptación a la monta y/o presencia de mucus vaginal, necesita una reevaluación de preñez. El uso de test para progesterona en sangre y/o leche pueden ayudar en el diagnóstico casi inmediatamente. Un nivel alto de progesterona es sugestivo de que el animal mantiene la preñez. Por otro lado, un nivel bajo de progesterona es indicación de que la hembra no esta preñada. La inseminación artificial de una hembra preñada puede provocar un aborto iatrogénico. Es necesario remarcar que niveles altos de progesterona se encuentran cuando la hembra sufre un tipo de mortalidad embrionaria/fetal (Tipo I) así como con embriones/fetos ya muertos, por lo tanto, el uso de la ultrasonografía transrectal permitira un inmediato diagnóstico de esta condición clínica. Es conveniente que cada animal diagnosticado preñado debe ser diferenciado en animales con preñez simple o con mellizos. Animales preñados con mellizos tienen un elevado riesgo de pérdida de la preñez comparado con animales preñados con un solo embrión/feto. La mayoría de la preñeces en el vacuno son debidas a doble ovulación (en el mismo o diferentes ovarios). El siguiente método es usado en nuestra práctica: si un animal es diagnosticado como preñado, luego el número de cuerpos lúteos es determinado, si hay mas de uno, la proxima etapa es buscar por mas de un embrión o feto. En vacunos, el número de mellizos idénticos es de alrededor 5% de todos los mellizos, por lo tanto la posibilidad de un error diagnóstico es bajo (mellizos idénticos se originan de un solo ovocito, por lo tanto un solo cuerpo lúteo es observado).

d- Instalaciones

El movimiento de animales de un grupo a un diferente grupo de animales es causa de un gran social stress. Es conveniente, que nuevas adiciones de animales sean realizadas de a grupo en vez de realizar adiciones individuales. Por otro lado, el espacio individual debe ser respetado y el número de espacios (pesebres, camas) debe ser igual or menor que el número de animales en el area (corral, pastura). El número de camas/pesebres debe ser igual o menor que el número de animales. El tamaño de la cama debe ser designado adecuadamente para la raza,



categoría y tamaño de las hembras. El tamaño del pesebre/cama deber permitir el libre movimiento del animal. Los corrales deberan ser diseñados para permitir libre acceso de las vacas hacia y desde las areas de alimentación, de agua, a la sala de ordeño y de las areas de recreo entre otras. Los animales deben ser manejados de una manera tranquila, sin gritos, reduciendo o eliminando innecesarios cauas de estres en una manera calma y compasionada.

TRATAMIENTO HORMONAL PARA EL MANTENIMIENTO DE LA PREÑEZ

En general, cuando el diagnóstico de pérdida de la preñez es realizado el daño ya fue hecho. Por lo tanto, medidas preventivas para evitar futuros casos de pérdida de embriones y/o fetos deben ser tomadas. Un correcto tratamiento requiere de un correcto diagnóstico. Como fue expresado al inicio de esta presentación la mayoría de los casos de pérdida de la preñez permanecen indeterminados. Si la causa de pérdida de la preñez es de origen infeccioso, medidas de prevencion, tratamiento y vacunación deben ser introducidas. Si la causa es nutricional, medidas tendientes a corregir deficiencias, excesos así como un adecuado balance deben implementarse. Numerosos intentos han sido realizados para prevenir la mortalidad embrionaria y/o fetal en ruminantes con el uso de hormonas exogenas, que incluyen (Wiltbank et al., 1956; Robinson et al., 1989), interferones (Nephew et al., 1990), hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH; MacMillan et al., 1986) y gonadotropina corionica humana (hCG; Breuel et al., 1989; Nishigai et al., 2002). Todos estas hormonas utilizadas han producido variables resultados (Lewis et al., 1990; Jubb et al., 1990; Van Cleeff et al., 1991; Humblot et al., 1993).

Referencias

- Abbitt B, Ball L, Kitto GP, Sitzman CG, Wilgenburg B, Raim LW, Seidel GE. Effect of three methods of palpation for pregnancy diagnosis per rectum on embryonic and fetal attrition in cows. *J Amer Vet Med Assoc* 1978;73:973-977.
- Ayalon N. A review of embryonic mortality in cattle. *J Reprod Fert* 1978;54:483-493.
- Ball BA, Little TV, Weber JA, Woods GL. Survival of day-4 embryos from young, normal mares and aged, subfertile mares after transfer to normal recipient mares. *J Reprod Fert* 1989;85:187-194.
- Ball PJH. The relationship of age and stage of gestation to the incidence of embryo death in dairy cattle. *Res Vet Sci* 1978;25:120-124.
- Ball PJH, Logue DDN. Ultrasound diagnosis of pregnancy in cattle. *Vet Rec* 1994;34:532.
- Baxter SJ, Ward WR. Incidence of fetal loss in dairy cattle after pregnancy diagnosis using a ultrasound scanner. *Vet Rec* 1997;140:287-288.
- Bazer F, Spencer TE, Ott TL. Interferon Tau: A novel pregnancy recognition signal. *AJRI* 1997;37:412-420.
- Bishop MWH. Paternal contribution to embryonic death. *J Reprod. Fert. (Supplement)* 1964;7:383-396.
- Breuel KF, Spitzer JC, Henricks DM. Systemic progesterone concentration following human chorionic gonadotropin administration at various time during the estrous cycle in beef heifers. *J Anim Sci* 1989;67:1564-1572.
- Brinsko SP, Ball BA, Miller PG, Thomas PGA, Ellington JE. In vitro development of day-2 embryos obtained from young, fertile mares and aged, subfertile mares. *J Reprod Fert* 1994;102:371-378.
- Britt JH. The relationship between postpartum estrous cycles, estrous cycle length, and early embryonic death. *Cattle Prac* 1995;9:85-88.
- Butler JE, Hamilton WC, Sasser RG, Ruder CA, Hass GM, Williams RJ. Detection and partial characterization of two pregnancy-specific proteins. *Biol Reprod* 1982;26:925-33.
- Cavestany D, Foote RH. Prostaglandin F-2? induced estrus in open cows and presumed abortion in pregnant cows with unobserved estrus in a herd monitored by milk progesterone assay. *Cornell Vet* 1985;75:393-397.
- DesCôteaux L, Carrière, Bigras-Poulin M. Evaluation of the Early Conception Factor (ECFTM) Dip stick test in dairy cows between days 11 and 15 post-breeding. *Bov Pract* 2000;34:87-91.
- De Vries A. Economic value of pregnancy in Dairy Cattle. *J Dairy Sci* 2006;89:3876-3885.
- Diskin MG, Sreenan JM. Fertilization and embryonic mortality rates in beef heifers after artificial insemination. *J Reprod Fert* 1980;59:463-468.
- Donald HP. Heat during pregnancy in dairy cows. *Vet Rec* 1943;55:297-298.
- Donaldson LE. Effect of age of donor cows on embryo production. *Theriogenology* 1984;21:963-967.
- Donoho HR, Rickard HE. The occurrence of estrus during pregnancy in several Holstein herds. *J Dairy Sci* 1955;38:602 (Abstract)
- Dransfield MBG, Nebel RL, Pearson RE, Warnick LD. Timing of insemination for dairy cows identified in estrus by radiotelemetric estrus detection system. *J Dairy Sci* 1998;81:1874-1882.
- Drost M, Thatcher WW. Reducing embryonic death in cattle *Theriogenology Handout B-13*. 1994. Available from Society for Theriogenology.
- Dunne LD, Diskin MG, Boland MP, O'Farrell KJ, Sreenan JM. The effect of pre- and post-insemination plane of nutrition on embryo survival in beef heifers. *Anim Sci* 1999;69:411-417.
- Erb RE, Holtz EW. Factors associated with estimated fertilization and service efficiency of cows. *J Dairy Sci* 1958;41:1541-1552.
- Euler V. Die klinischen Erkennungsmerkmale der Frühgraviditat beim Rind und ihre Verwertbarkeit für die Praxis. *Berl Tierärztl Wschr* 1930;30: 477-481
- Foote RH. Estrus detection and estrus detection and estrus detection aids. *J Dairy Sci* 1974;58:248-256
- Gandy B, Tucker W, Williams A, Tucker A, Moore A, Godfrey R, Willard S. Evaluation of the early conception factor (ECFTM) test for the detection of nonpregnancy in dairy cattle. *Theriogenology* 2001;56:637-647.
- Gerrits RJ, Blosser TH, Purchase HG, Terrill CE, Warwick EJ. Economics of improving reproductive efficiency in farm animals. In: *Beltsville Symposia in Agricultural Research*, H Hawk (Ed). New York: J. Wiley and Sons. 1976, pp 413-421.



- Gilmore LO. Reproduction In: Dairy Cattle Breeding, edn 1, LO Gilmore (Ed). New York: JB Lippincott Company. 1952, pp 113-138.
- Götze R. Die Feststellung der Schwangerschaft beim Rinde. Dtsch Tierarztl Wschr 1940;48:183-185
- Hawk HW, Wiltbank JN, Kidder HE, Casida LE. Embryonic mortality between 16 and 34 days post-breeding in cows of low fertility. J Dairy Sci 1955a;38:673-676.
- Hawk HW, Tyler WJ, Casida LE. Effect of sire and system of mating on estimated embryonic loss. J Dairy Sci 1955b;38:420-427.
- Hirako M, Takahashi T, Domeki I. Peripheral changes in estrone sulfate concentration during the first trimester of gestation in cattle: comparison with unconjugated estrogens and relationship to fetal number. Theriogenology 2002;57:1939-1947.
- Holdsworth RJ, Heap RB, Booth JM, Hamon M. A rapid direct radioimmunoassay for the measurement of oestrone sulphate in the milk of dairy cows and its use in pregnancy diagnosis. J Endocr. 1982;95:7-12.
- Hubbert WT, Booth GD, Bolton WD, Dunne HW, McEntee K, Smith RE, Tourtellotte ME. Bovine abortions in five northeastern states, 1960-1970: Evaluation of diagnostic laboratory data. Cornell Vet. 1973;63:291-316
- Humblot P. 1988. Protéins specific de la gestation chez les ruminants. Reprod Nutr Dévelop 1988;28:1753-62.
- Humblot P, Camous S, Martal J, Charlery J, Jeanguyot N, Thibier M, Sasser G. Diagnosis of pregnancy by radioimmunoassay of a pregnancy-specific protein in the plasma of dairy cows. Theriogenology 1988a;30:257-267.
- Humblot P, Camous S, Martal J, Charlery J, Jeanguyot N, Thibier M, Sasser RG. Pregnancy-specific protein B, progesterone concentrations and embryonic mortality during early pregnancy in dairy cows. J Reprod Fert 1988b;83:215-223.
- Humblot P, Dalla Porta MA. Effect of conceptus removal and intrauterine administration of conceptus tissue on luteal function in the cow. Reprod Nutr Develop 1984;24:529-541.
- Humblot P, Marquant-Le Guienne B, Guyader-Joly C, Senlis Y, Jeanguyot N, Germain S, Steffan J, Thibier M. Absence d'effect d'injections d'interferon alpha-1 sur les taux de gestation après transfert d'embryons produits in vitro chez les bovines Ele & Ins 1993;253:1-10
- Jerrett IV, McOrist S, Waddington J, Browning JW, Malecki JC, McCausland IP. Diagnostic studies of the fetus, placenta and maternal blood from 265 bovine abortions. Cornell Vet 1984;74:8-20.
- Johnson FWA. Chlamydiosis. Brit Vet J 1983; 139:93-101.
- Jubb TF, Abhayaratne D, Malmo J, Anderson GA. Failure of an intramuscular injection of an analogue of gonadotrophin releasing hormone Busereline at days 11-13 days post insemination to increase pregnancy rates in dairy cattle. Aust Vet J 1990;67:359-371.
- Kahn W. Ultrasonography as a diagnostic tool in female animal reproduction. Anim Reprod Sci 1992;28:1-10.
- Kassam A, BonDurant RH, Basu S, Kindahal H, Stabenfeldt GH. Clinical and endocrine responses to embryonic and fetal death induced by manual rupture of the amniotic vesicle during early pregnancy in cows. J Amer Vet Med Assoc 1987;191:417-420.
- Kawarski SJ, Basur PK, Stubbings RB, Hansen PJ, King WA. Chromosomal abnormalities in bovine embryos and their influence on development. Biol Reprod 1996;54:53-59.
- Kidder HE, Black WG, Wiltbank JN, Ulberg LC, Casida LE. Fertilization rates and embryonic death in cows bred to bulls of different levels of fertility. J Dairy Sci 1954;37:691-697.
- King WA. Chromosome abnormalities and pregnancy failure in domestic animals Adv Vet Sci & Comp Med 1990;34:229-250.
- Kirkbride CA, Bicknell EJ, Reed DE, Robl MG, Knudtson WV, Wohlgemuth K. A diagnostic survey of bovine abortion and stillbirth in the Northern Plains States. J Amer Vet Med Assoc 1973;62:556-560.
- Kiracofe GH, Wright JM, Schalles RR, Ruder CA, Parish S, Sasser RG. Pregnancy-specific Protein B in serum of postpartum beef cows. J Anim Sci 1993;71:2199-2205.
- Lafrance M, Goff AK, Guay P, Harvey D. Failure to maintain luteal function: A possible cause of early embryonic loss in a cow. Can J Vet Res 1989;53:279-284.
- Laing JA, Gibbs HA, Eastman SAK. A herd test for pregnancy in cattle based on progesterone levels in milk. Brit Vet J 1976;132:204-209.
- Laven RA, Drew SB. Dietary protein and the reproductive performance of cows. Vet Rec 1999;145:687-695
- Lemire GE, Stalheim PS, Lemire MR, Tiemann M, Verdon L. Monitoring pregnancy loss in small dairy herds. Can Vet J 1993;34:33-35.
- Lewis GS, Caldwell DW, Rexroad CE Jr, Dowlen HH, Owen JR. Effects of gonadotrophin-releasing hormone and human chorionic gonadotrophin on pregnancy rate in dairy cattle. J Dairy Sci 1990;73:66-72.
- Lucy MC. Reproductive loss in high-producing dairy cattle: Where will it end? J Dairy Sci 2001;84:1277-1293
- MacMillan KL, Lean IJ, Westwood CT. The effects of lactation on the fertility of dairy cows. Aust Vet J 1996;73:141-147
- MacMillan KL, Taufa VK, Day AM. Effects of an agonist of gonadotrophin releasing hormone Busereline in cattle. III. Pregnancy rates after a post-insemination injection during metoestrus or dioestrus. Anim Reprod Sci 1986;11:1-10.
- Markusfeld-Nir O. Epidemiology of bovine abortions in Israeli dairy herds. Prev Vet Med 1997;1:245-255.
- Maurer RR, Chenault JR. Fertilization failure and embryonic mortality in parous and non-parous beef cattle. J Anim Sci 1983;56:1186-1189.
- Maurer RR, Ruder CA, Sasser RG. Effectiveness of the protein B radioimmunoassay to diagnose pregnancy in beef cattle. J Anim Sci [suppl 1] 1985;61:90 [abstract].
- Mialon MM, Camous S, Renand G, Martal J, Menissier F. Peripheral concentrations of a 60-kDa pregnancy serum protein during gestation and after claving and in relationship to embryonic mortality in cattle. Reprod Nutr Dévelop 1993;33: 269-82.
- Miller DL. Safety assurance in obstetrical ultrasound. Semin Ultrasound CTMR 2008; 29:156-64.
- Miller RB. Bovine abortion In: Current Therapy in Theriogenology: Diagnosis, Treatment and Prevention of Reproductive Diseases in Small and Large Animals, (2nd Ed), Ed DA Morrow. Philadelphia: WB Sanders Company. 1986, pp 291-300.



- Mitchell D. Bovine abortion an analysis of 227 cases. *Can Vet J* 1960;1:337-343.
- Mohamed AR, Noakes DE, Booth JM, Chaplin V. Plasma oestrone sulphate and progesterone concentrations in cows and ewes associated with fetal death and abortion. *Br Vet J* 1987;143: 238-245.
- Momont H. Rectal Palpation: safety Issues. *Bov Pract* 1990;25:122-123.
- Mylrea PJ. A suspected genetic cause of abortion in cattle. *Aust Vet J* 1963; 39:35-36
- Nephew KP, McClure KE, Day ML, Xie S, Roberts RM, Pope WF. Effects of intramuscular administration of recombinant bovine interferon-alpha 1 during the period of maternal recognition of pregnancy. *J Anim Sci* 1990;68:2766-2770.
- Nishigai M, Kamomae H, Tanaka T, Kaneda Y. Improvement of pregnancy rate in Japanese black cows by administration of hCG to recipients of transferred frozen-thawed embryos. *Theriogenology* 2002;8:1597-1606
- Pennington JA, Spahr SL, Lodge JR. Factors affecting progesterone in milk for pregnancy diagnosis in dairy cattle. *Brit Vet J* 1976;132:487-495.
- Peters AR and Ball PJH. *Reproduction in Cattle*, (2nd Ed). Oxford: Blackwell Science, 1995.
- Peters AR. Embryo mortality in the cow. *Anim Breed Abst* 1996;64:587-598
- Pursley JR, Silcox RW and Wiltbank MC. Effect of time of artificial insemination on pregnancy rates, calving rates, pregnancy loss, and gender ratio after synchronization of ovulation in lactating dairy cows. *J Dairy Sci* 1998;81: 2139-2144.
- Reece EA, Assimakopoulos E, Zheng XZ, Hagay Z, Hobbins JC. The safety of obstetric ultrasonography: concern for the fetus. *Obstet. Gynecol.* 1990;76:139-46.
- Roberts SJ. *Veterinary Obstetrics and Genital Diseases*. Published by the author, Ithaca, NY, 1971, pp 1-776.
- Robinson NA, Leslie KE, Walton JS. Effect of treatment with progesterone on pregnancy rate and plasma concentrations of progesterone in Holstein cow. *J Dairy Sci* 1989;72:202-207.
- Romano JE, Magee D. Applications of trans-rectal ultrasonography in cow/heifer reproduction. In: Annual Food Conference. Conception to Parturition: Fertility in Texas Beef Cattle. College of Veterinary Medicine. June 2-3. Texas A & M University. 2001, pp 99-104
- Romano JE. Early pregnancy diagnosis and embryo/fetal mortality in cattle. PhD thesis. Physiology of Reproduction. College of Agricultural and Life Sciences. Texas A&M University, 2004, pp 1-120.
- Romano JE, Thompson JA, Forrest DW, Westhusin ME, Tomaszewski MA, Kraemer DC. Early pregnancy diagnosis by transrectal ultrasonography in dairy cattle. *Theriogenology* 2006;66:1034-41.
- Romano, J.E., Thompson J.A. and Kraemer D.C. Title: Early Conception Factor test for determination of pregnancy/non pregnancy status in virgin Holstein heifers. *Proc Annl Conf Soc Theriogenology. Theriogenology* 2006;66:680.
- Romano JE, Thompson JA, Kraemer DC, Forrest DW, Westhusin ME, Tomaszewski MA. Early pregnancy diagnosis by palpation per rectum: influence on embryo/fetal viability in dairy cattle. *Theriogenology* 2007;67:486-93.
- Romano JE, Thompson JA, Kraemer DC. Early Pregnancy diagnosis by palpation per rectum: effect of number of fetal membrane slips on pregnancy loss in dairy cattle. . *Proc Annl Conf Soc Theriogenology. Theriogenology* 2007;68:494.
- Romano JE, Larson JE. Accuracy of Pregnancy Specific Protein-B for early pregnancy diagnosis in dairy cattle. *Theriogenology*
- Ryan DP, Prichard JF, Kopel E, Godke RA. Comparing early embryo mortality in dairy cows during hot and cool seasons of the year. *Theriogenology* 1993;39:719-737.
- Santos JEP, Thatcher WW, Pool L, Overton MW. Effect of human chorionic gonadotropin on luteal function and reproductive performance of high-producing lactating Holstein dairy cows. *J Anim Sci* 2001;79:2881-2894.
- Sasser RG, Ruder CA, Ivani A, Butler JE, Hamilton WC. Detection of pregnancy by radioimmunoassay of a novel pregnancy-specific protein in serum of cows and a profile of serum concentrations during gestation. *Biol Reprod* 1986;35:936-942.
- Sasser RG, Ruder CA. Detection of early pregnancy in domestic ruminants. *J Reprod Fert (Suppl)* 1987;34:261-71.
- Semambo DKN, Eckersall PD, Sasser RG, Ayliffe TR. Pregnancy-specific protein B and progesterone in monitoring viability of the embryo in early pregnancy in the cow after experimental infection with *Actinomyces Pyogenes*. *Theriogenology* 1992;37:741-8.
- Shemesh M, Ayalon N, Shalev E, Nerya A, Schindler H, Milgur F. Milk progesterone measurement in dairy cows: correlation with estrus and pregnancy determination. *Theriogenology* 1978;9:343-353.
- Skinner JG, Gray D, Gebbie FE, Beckers JF, Sulon J. Field evaluation of pregnancy diagnosis using bovine pregnancy associated glycoprotein (bPAG). *Cattle Prac* 1996;3:281-4.
- Szenci O, Beckers JF, Humblot P, Sulon J, Sasser G, Taverne MAM, Varga J, Baltusen R, Shekk G. Comparison of ultrasonography, bovine pregnancy-specific protein B, and bovine pregnancy-associated glycoprotein 1 tests for pregnancy detection in dairy cows. *Theriogenology* 1998;50:77-88.
- Szenci O, Beckers JF, Sulon J, Bevers MM, Börzsönyi, Fodor L, Kovács, Taverne MAM. Effect of induction of late embryonic mortality on plasma profiles of pregnancy associated glycoprotein 1 in heifers. *Vet J* 2003;165:307-313.
- Thurmond MC, Picanso JP, Jameson CM. Considerations for use of descriptive epidemiology to investigate fetal loss in dairy cows. *J Amer Vet Med Assoc* 1990;197:1305-1312
- Thurmond MC, Picanso JP. A surveillance system for bovine abortion. *Prev Vet Med* 1990; 8:41-53
- Thurmond MC, Picanso JP. Fetal loss associated with palpation per rectum to diagnose pregnancy in cows. *J Amer Vet Med Assoc* 1993;203:432-435
- Van Cleeff J, Drost M, Thatcher WW. Effects of postinsemination progesterone supplementation on fertility and subsequent estrous responses of dairy heifers. *Theriogenology* 1991;6:795-807.
- Vasconcelos JLM, Silcox RW, Lacerda JA, Pursley JR and



Wiltbank MC. Pregnancy rate, pregnancy loss, and response to heat stress after AI at 2 different times from ovulation in dairy cows *Biol Reprod* (Supplement 1) 1997;230 (Abstract)

Vasques MI, Horta MEM, Marques CC, Sasser RG, Humblot P. Levels of bPSPB throughout singles and twins pregnancies after AI or transfer of IVM/IVF cattle embryos. *Anim Reprod Sci* 1995;38:279-89.

Weaver LD, Daley CA, Borelli CL. Effect on pregnancy rate of nonestrus insemination in previously inseminated dairy cows. *Theriogenology* 1989;32:603-606.

White ME, LaFaunce N and Mohammed HO. Calving outcomes for cows diagnosed pregnant or nonpregnant by per rectum examination at various intervals after insemination. *Can Vet J* 1989;30: 867-870.

Wiebold JL. Embryonic mortality and the uterine environment in first-service lactating dairy cows. *J Reprod. Fert* 1988;84:393-399.

Wilmot I, Sales DI, Asworth CJ. Maternal and embryonic factors associated with prenatal loss in mammals. *J Reprod. Fert* 1986;76:851-864.

Wiltbank JN, Hawk HW, Kidder HE, Black WG, Ulberg LC, Casida LE (1956) Effect of progesterone therapy on embryo survival in cows of lowered fertility. *J Dairy Sci* 1956;39:456-461.

Wise ME, Rodriguez RE, Armstrong DV, Huber JT, Wiersma F, Hunter R. Fertility and hormonal responses to temporary relief of heat stress in lactating dairy cows. *Theriogenology* 1988;29:1027-1035.

Wooding FBP, Roberts RM, Green JA. Light and electron microscope immunocytochemical studies of the distribution of pregnancy associated glycoproteins (PAGs) throughout pregnancy in the cow: possible functional implications. *Placenta* 2005;26:807-27.

Xie S, Low BG, Nagel RJ, Kramer KK, Anthony RV, Zoli AP, Beckers JF, Roberts M. Identification of the major pregnancy-specific antigens of cattle and sheep as inactive members of the aspartic proteinase family. *Proc Natl Acad Sci* 1991;88:10247-51.

Zemjanis R. *Diagnostic and Therapeutic Techniques in Animal Reproduction* 1st Ed. Baltimore, The Williams and Wilkins Co, 1962, pp 1-238

Zoli AP, Beckers JF, Wouters-Ballman P, Closset J, Falmagne P, Ectors F. Purification and characterization of a Bovine Pregnancy-associated glycoprotein. *Biol Reprod* 1991;45:1-10.

Zoli AP, Guilbault LA, Delahaut P, Ortiz WB, Beckers JF. Radioimmunoassay of a bovine pregnancy-associated glycoprotein in serum: Its application for pregnancy diagnosis. *Biol Reprod* 1992;46: 83-92.