DIAGNÓSTICO DE GESTACIÓN EN LA CABRA POR DETERMINACIÓN DE LAS CONCENTRACIONES DE PROTEÍNAS ASOCIADAS A LA GESTACIÓN (PAG)

F.González,[1a] J.Sulon,[2] J.M.Garbayo,[2] M.Batista,[1] F.Cabrera,[1] P.O. Calero,[1] A.Gracia[1] and J.F.Beckers[2]

[1] Reproducción y Obstetricia, Facultad de Veterinaria, Las Palmas de Gran Canaria

[2] Physiologie de la Reproduction, Faculté de Médecine Vétérinaire, Liège, Belgique

INTRODUCCIÓN

En 1998, Garbayo y col. (7) purificaron 3 PAGs caprinas, con diferente secuencia de aminoácidos y peso molecular (62, 59 y 55 kDa). Posteriormente generaron anticuerpos anti-caPAG$_{55+62}$ y anti-caPAG$_{55+59}$. Utilizando estos reactivos, en este trabajo se desarrollaron 2 RIAs homólogos y 2 RIAs semi-heterólogos para el diagnóstico de gestación en la cabra, y se compararon los resultados con el RIA heterólogo anteriormente disponible (6, 11).

MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron 20 cabras Canarias con 28 ± 4.3 kg (media ± DE), que fueron inseminadas (día 0). Se recogieron muestras de sangre (10 ml) los días 0, 7, 14, 21, 22, 23 y 28. Se realizó diagnóstico de gestación por ecografía el día 35. Las concentraciones plasmáticas de PAG se determinaron con 2 RIAs heterólogos, utilizando boPAG-1 como estándar y trácer con anticuerpos anti-caPAG$_{55+62}$ (1:80,000) (RIA 1), anti-caPAG$_{55+59}$ (1:80,000) (RIA 2), y con 2 RIAs homólogos: RIA 3, con caPAG$_{55+62}$ y anticuerpos anti-caPAG$_{55+62}$ (1:100,000); RIA 4 con caPAG$_{55+59}$ y anticuerpos anti-caPAG$_{55+59}$ (1:250,000). Las determinaciones de PAG se realizaron con el método de Zoli y col (12).Las diferencias en las concentraciones de PAG entre las cabras gestantes y no gestantes se analizaron con la *t* de Student. Para la discriminación entre las poblaciones de cabras gestantes y no gestantes, se estableció el punto de corte que diera el mayor valor del índice de Youden (1) con la ecuación 100–[(100–sensibilidad)+(100–especificidad)]. La sensibilidad y especificidad se calcularon como la probabilidad de la distribución normal $f(x; \mu, \sigma)$ donde x, μ y σ son el punto de corte, la media y la DE de las concentraciones de PAG en las cabras gestantes y no gestantes, respectivamente. La exactitud es el índice de Youden.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La ecografía mostró 10 cabras gestantes y 10 cabras vacías. La duración de la gestación fue de 148 ± 2.3 días. Una cabra abortó un feto el día 84. La concentración media de PAGs fue significativamente mayor ($P<0.01$) en las cabras gestantes, independientemente del sistema de RIA usado y del día de gestación considerado (Tabla 1). La capacidad para distinguir entre las cabras gestantes y vacías fue mayor a medida que avanza la gestación, ya que en las cabras gestantes los niveles de PAGs aumentan progresivamente, mientras que en las vacías permanecen basales. La sensibilidad, especificidad y exactitud del test en cada sitema de RIA y día estudiados se muestran en la Tabla 2. La sensibilidad fue mayor del 90 % el día 21 para los RIAs 2, 3, 4 y 5, mientras que el RIA 1 no alcanzó una sensibilidad

Tabla 1. Concentrationes (media ± DE) de PAG (ng/ml) en cabras gestantes y vacías

	Day 21		Day 22		Day 23		Day 28	
Sistema	Gestantes	Vacías	Gestantes	Vacías	Gestantes	Vacías	Gestantes	Vacías
RIA 1	3.0 ± 1.3 [a]	1.4 ± 0.9 [b]	3.6 ± 2.0 [a]	0.7 ± 0.5 [b]	6.3 ± 4.1 [a]	0.8 ± 0.6 [b]	20.9 ± 12.8 [a]	0.7 ± 0.7 [b]
RIA 2	3.7 ± 1.4 [a]	0.6 ± 0.3 [b]	5.4 ± 2.5 [a]	0.5 ± 0.2 [b]	7.2 ± 3.0 [a]	0.5 ± 0.2 [b]	35.7 ± 14.2 [a]	0.5 ± 0.1 [b]
RIA 3	2.8 ± 0.8 [a]	0.2 ± 0.2 [b]	3.6 ± 1.4 [a]	0.3 ± 0.3 [b]	4.4 ± 1.6 [a]	0.3 ± 0.2 [b]	24.5 ± 8.4 [a]	0.2 ± 0.2 [b]
RIA 4	3.1 ± 1.1 [a]	0.5 ± 0.3 [b]	4.4 ± 1.3 [a]	0.4 ± 0.0 [b]	7.1 ± 2.5 [a]	0.5 ± 0.3 [b]	35.1 ± 14.3 [a]	0.4 ± 0.0 [b]
RIA 5	1.2 ± 0.5 [a]	0.2 ± 0.1 [b]	1.6 ± 0.5 [a]	0.2 ± 0.0 [b]	2.1 ± 0.7 [a]	0.3 ± 0.2 [b]	13.9 ± 5.3 [a]	0.2 ± 0.0 [b]

[ab] En cada día y sistema de RIA, diferentes superíndices en cabras gestantes y vacías indican diferencias significativas (P<0.01)

Tabla 2. Sensibilidad, especificidad y exactitud para cada día y sistema de RIA

	Día 21				Día 22				Día 23				Día 28			
Sistema	PC	SB	EP	EX	PC	SB	EP	EX	PC	SB	EP	EX	PC	SB	EP	EX
RIA 1	2.3	69.7	86.0	55.7	1.6	85.0	97.6	82.6	2.2	84.5	98.6	83.1	2.6	92.4	99.8	92.2
RIA 2	1.3	96.5	99.4	95.9	1.0	96.2	99.8	96.0	1.2	97.9	99.9	97.8	1.0	99.3	100	99.3
RIA 3	0.9	99.0	99.8	98.8	0.9	97.4	99.6	97.0	0.9	98.3	99.8	98.1	1.0	99.8	100	99.8
RIA 4	1.1	96.1	99.2	95.3	0.4	99.9	100	99.9	1.4	98.8	99.9	98.7	0.4	99.3	100	99.3
RIA 5	0.5	91.1	98.7	89.8	0.2	99.8	100	99.8	0.7	97.2	99.4	96.6	0.2	99.5	100	99.5

PC = punto de corte (ng/ml) SB = sensibilidad (%) EP = especificidad (%) EX= exactitud (%)

equiparable hasta el día 28. La especificidad de los RIAs 2, 3, 4 y 5 fue alrededor del 99 % el día 21 y el RIA 1 alcanzó ese porcentaje sólo 2 días más tarde (día 23). La exactitud del test fue mayor del 95 % para los RIAs 2, 3 y 4 el día 21 y para el RIA 5 el día 22, mientras que en el RIA 1 fue menor de 95 % incluso el día 28. En estudios previos de determinación de PAG en cabra por RIA heterólogo, proporcionaron un diagnóstico eficaz el día 24 de gestación utilizando anticuerpos anti-ovPAG (11) o anti-ovPSP-B (8). Los resultados de este trabajo indican que el uso de anticuerpos anti-caPAG$_{55+59}$ o anti-caPAG$_{55+62}$ proporciona un sistema más precoz de diagnóstico de gestación. La determinación de progesterona en plasma o leche mediante RIA o ELISA constituye en la cabra un diagnóstico seguro de no-gestación (4, 10), pero genera falsos positivos cuando existe persistencia luteal por razones diferentes a la gestación (2, 3, 5). La ultrasonografía transrectal hace posible diagnósticos de gestación en la cabra muy precoces, pero sólo es completamente seguro cuando se puede detectar el feto y su latido cardíaco alrededor del día 23 (9). La ecografía transrectal exige una mayor experiencia y representa algún riesgo para el animal, por lo que no siempre será posible en condiciones de campo. El diagnósticio de gestación por PAG podría ser utilizado para confirmar la gestación de las cabras que no han retornado al celo o presentan niveles elevados de progesterona el día 21. También puede utilizarse como complemento de la ecografía, cuando aún no se pueda distinguir claramente la presencia de los embriones.

REFERENCIAS

1. Abramson JH. Survey Methods in Community Medicine. Harlow: Longman Group Ltd, 1984.
2. Braun WF, Solorzano NM, Bierschawal CJ. Characterization of the caprine estrous cycle using enzymeimmunoassay for the determination of whole blood progesterone concentration. Theriogenology 1988;29:1155-1162.
3. Bretzlaff K. The milk progesterone test. Dairy Goat J 1981;59:652-653.
4. De Montigny G, Millerioux P, Jeanguyot N, Humblot P, Thibier M. Milk fat progesterone concentrations in goats and early pregnancy diagnosis. Theriogenology 1982;17:423-431.
5. Fleming SA, Van Camp SD, Chapin HM. Serum progesterone determination as an aid for pregnancy diagnosis in goats bred out of season. Can Vet J 1990;31:104-107.
6. Folch J, Benítez W, Alabart JL, Beckers JF. Determinación de la concentración plasmática de PAG (pregnancy-associated glycoprotein) en cabras Blanca Celtibérica y su utilización como diagnóstico de gestación. ITEA 1993;12:364-366.
7. Garbayo JM, Remy B, Alabart JL, Folch J, Wattiez R, Falmagne P, Beckers JF. Isolation and partial characterization of a pregnancy-associated glycoprotein (PAG) family from the goat placenta. Biol Reprod 1998;58:109-115.
8. Humblot P, De Montigny G, Jeanguyot N, Tetedoie F, Payen B, Thibier M, Sasser RG. Pregnancy-specific protein B and progesterone concentrations in French Alpine goats throughout gestation. J Reprod Fert 1990;89:205-212.
9. Martínez MF, Bosch P, Bosch RA. Determination of early pregnancy and embryonic growth in goats by transrectal ultrasound scanning. Theriogenology 1998;49:1555-1565.
10. Pennington JA, Hoffman WF, Schultz LH, Spahr SL, Lodge JR. Milk progesterone for pregnancy diagnosis in dairy goats. J Dairy Sci 1982 ;65 :2011-2014.
11. Sousa NM, Garbayo JM, Figueiredo JR, Sulon J, Beckers JF. Pregnancy-associated glycoprotein and progesterone profiles during pregnancy and postpartum in native goats from the north-east of Brazil. Small Ruminant Res 1998; (in press).
12. Zoli AP, Guibault LA, Delahaut P, Benitez-Ortiz W, Beckers JF. Radioimmunoassay of a bovine pregnancy-associated glycoprotein in serum: its application for pregnancy diagnosis. Biol Reprod 1992;46:83-92.