

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO**  
**DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL**  
**DEPARTAMENTO DE CIENCIAS MÉDICO VETERINARIO**



**Medición de progesterona en perras Bulldog inglés: con el equipo icrhoma II;  
al momento de la cesárea, en la clínica veterinaria REPROCAN**

Por:

Blanca Yaneth Jiménez Jiménez

**TESIS**

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

**MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA**

Torreón Coahuila,

Febrero, 2023

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO  
DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL  
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS MÉDICO VETERINARIO

Medición de progesterona en perras bulldog inglés: con el equipo ichroma II; al momento de la cesárea, en la clínica veterinaria REPROCAN

Por:

Blanca Yaneth Jiménez Jiménez

TESIS

Que somete a la consideración del H. Jurado Examinador como requisito parcial para obtener el título de:

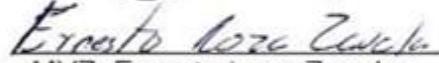
MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

Aprobada por:

  
MC. Carlos Raúl Rascón Díaz  
Presidente

  
Dr. Silvestre Moreno Avalos  
Vocal

  
MVZ. Luis Roberto Zúec Gaxiola  
Vocal

  
MVZ. Ernesto Loza Zavala  
Vocal Suplente

  
MC. José Luis Francisco Sandoval Elías  
Coordinador de la División Regional de Ciencia Animal



Torreón, Coahuila, México  
Febrero 2023

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO**  
**DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL**  
**DEPARTAMENTO DE CIENCIAS MÉDICO VETERINARIO**

**Medición de progesterona en perras bulldog inglés: con el equipo icrhoma II; al momento de la cesárea, en la clínica veterinaria REPROCAN**

Por:

Blanca Yaneth Jiménez Jiménez

TESIS

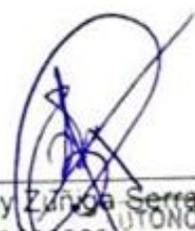
Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

**MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA**

Aprobada por el Comité de Asesoría:

  
\_\_\_\_\_  
MC. Carlos Raúl Rascón Díaz  
Asesor Principal

  
\_\_\_\_\_  
Dr. Silvestre Moreno Avalos  
Coasesor

  
\_\_\_\_\_  
MC. Aracely Zúñiga Serrano  
Coasesor

  
\_\_\_\_\_  
MC. José Luis Francisco Sandoval Elías  
Coordinador de la División Regional de Ciencia Animal

  
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO  
División Regional de Ciencia Animal

Torreón, Coahuila, México  
Febrero 2023

## **AGRADECIMIENTOS**

### **A DIOS**

En primer lugar, quiero agradecer infinitamente a Dios, porque me ha bendecido enormemente permitiéndome llegar hasta este momento tan importante de mi vida.

### **A MIS PADRES**

Benjamín y Elizama Por todo el cariño, comprensión, apoyo y por todos los consejos brindados durante todo este tiempo, que a pesar de estar lejos de casa siempre se preocuparon porque nada me faltara.

### **A MIS HERMANOS**

Loida, Betuel y Hansel Por su apoyo, cariño brindado a pesar de estar lejos y por no perder la confianza y la fe en mí.

### **A MI SOBRINA**

Arleth Sollange

por su cariño infinito, su bondad, alegría y enseñanzas a pesar de ser tan pequeña.

### **AL M.C. CARLOS RASCÓN DÍAZ**

Por su apoyo, comprensión, disposición, y paciencia, en mi formación como alumno y tesista.

### **A LA MVZ. DANIELA DIVANI QUINTERO RUIZ**

Por todo el apoyo, paciencia y comprensión brindada, pero sobre todo por su amistad

### **A MIS AMIGOS Y COMPAÑEROS**

María Guadalupe, Hatziri, y Benjamín por su amistad y todo el apoyo brindado durante estos 5 años de formación académica, gracias por todos los momentos maravillosos en lo que me permitieron formar parte.

**A mi Alma, Mater por haberme permitido formarme en sus aulas  
compartiendo ilusiones, anhelos y por todos los conocimientos brindados  
¡¡GRACIAS!!**

**DEDICATORIAS  
A DIOS**

Por todas sus bendiciones y porque sin su ayuda no habría podido terminar la carrera.

**A MIS PADRES:**

Benjamín y Elizama Por su apoyo incondicional, por todos los consejos, sacrificios y sobre todo por el amor que me brindan desde el momento que nací hasta este día tan importante en mi vida.

**A MIS HERMANOS**

Loida: gracias hermana por compartir todo tu amor y cariño.

Betuel: gracias hermano por todo el cariño y por siempre cuidarme y preocuparte por mí.

Hansel: al pequeño guerrero de la familia gracias por llegar a nuestras vidas

**A MI SOBRINA SOLLANGE**

Por todas sus muestras de cariño a pesar de estar lejos.

**AL M.C. CARLOS RAUL RASCÓN DIAZ:**

Por su dedicación en mi formación como alumno y tesista, también por su apoyo paciencia y amistad.

**Para la persona que ha estado todo este tiempo a mi lado apoyándome, por todo el amor, cariño y paciencia brindada... MHG**

## INDICE DE CONTENIDO

AGRADECIMIENTOS .....	i
DEDICATORIAS .....	ii
RESUMEN .....	vi
I.- INTRODUCCIÓN .....	1
II.- HIPOTESIS .....	2
III.- OBJETIVO .....	2
IV.- REVISION DE LITERATURA .....	3
4.1.- Anatomía del aparato reproductor de la perra .....	3
4.1.1.- Órganos genitales de la hembra .....	3
Ovarios .....	3
Trompas uterinas .....	3
Útero .....	4
Cérvix .....	5
Vagina .....	5
Vestíbulo vaginal .....	5
4.1.2.- Genitales externos .....	6
Vulva .....	6
Clítoris .....	6
Uretra femenina .....	6
Glándulas mamarias .....	7
4.2.- Endocrinología de la reproducción .....	7
4.2.1.- Hormonas hipotalámicas .....	8
Hormona liberadora de gonadotropina .....	8
4.2.2.- Hormonas hipofisarias .....	8
Hormona folículo estimulante (FSH) .....	8
Hormona luteinizante (LH) .....	9
Prolactina .....	9
4.2.3.- Hormonas foliculares .....	9
Estrógenos .....	9
Progesterona .....	10
Prostaglandina .....	10
4.3.- Fisiología de la reproducción de la hembra .....	11

Ovogénesis.....	11
Fase de crecimiento.....	11
Fase de maduración .....	12
Fase de diferenciación.....	12
4.3.1.- Fisiología del ciclo estral.....	13
4.3.2.- Etapas del ciclo estral .....	13
Proestro .....	13
Estro .....	13
Diestro .....	14
Anestro .....	15
4.4.- Métodos de diagnóstico de gestación.....	15
Palpación .....	15
Radiografías .....	16
Ultrasonografía .....	17
4.5.- Métodos y técnicas de inseminación artificial .....	18
Inseminación artificial con semen fresco .....	19
Inseminación artificial con semen refrigerado.....	19
Inseminación con semen congelado.....	20
Técnicas de inseminación artificial .....	21
Inseminación artificial intravaginal .....	21
Inseminación artificial intrauterina transcervical.....	22
No EIU (catéter noruego).....	22
Inseminación artificial por laparotomía (inseminación quirúrgica, implante quirúrgico).....	23
4.5.- Técnicas de diagnóstico de progesterona .....	23
Radioinmunoensayo (RIA).....	23
Inmunoensayo quimioluminiscente (CLIA).....	24
Ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA) .....	24
Equipo iCrhoma-II.....	25
V.- MATERIALES Y MÉTODOS.....	27
5.2.- Métodos .....	27
VI.- RESULTADOS .....	28
6.1.- Análisis estadístico .....	28

VII.- DISCUSIÓN.....	37
VIII.- CONCLUSIÓN.....	40
IX.- LITERATURA CITADA .....	41

## ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

Ilustración 1 Funciones 1 y 2 del análisis de función discriminante realizado sobre el tamaño de la camada considerando el porcentaje de células basales del epitelio vaginal de las perras en celo.....	30
Ilustración 2 Resultados del análisis de componentes principales del tipo de células epiteliales de las perras en celo. Los dos componentes principales con los valores propios más grandes se muestran como los ejes X, y Y, respectivamente.....	34
Ilustración 3 Asociación entre el porcentaje de células intermedias grandes del epitelio vaginal de perras en celo y el tamaño de la camada de las perras. ....	35

## RESUMEN

Este estudio se realizó para medir el nivel de progesterona al momento de la cesárea electiva mediante el inmunoensayo de fluorescencia con el kit de progesterona del equipo icroma II. Para este trabajo de investigación se ocuparon 10 hembras de diferentes edades, pesos y de la raza bulldog inglés clínicamente sanas las cuales se habían inseminado artificialmente. El objetivo de esta investigación fue poder determinar el tiempo de gestación, ayuda a predecir la edad fetal y la fecha posible de parto.

Si bien el resultado de esta investigación arroja que los niveles de progesterona al realizar la cesárea fueron superior a los niveles basales 2ng/ml con el equipo icrhoma II, cabe señalar que para una cesárea exitosa es necesario realizar una ecografía abdominal, y estimar una fecha probable de parto y monitorear la temperatura de las perras para precisar el momento adecuado para realizarla y así no poner en riesgo a los cachorros ni a la madre.

**Palabras clave:** *Gestación, Progesterona, Cesárea electiva, Caninos, Diagnóstico de progesterona*

## I.- INTRODUCCIÓN

La perra doméstica (*Canis lupus familiaris*) es una hembra monoéstra, no estacional, politoca y es ovuladora espontánea, con una fase luteal de dos meses de duración aproximadamente, seguida de un anestro obligatorio hasta el próximo periodo de calor (Concannon, 2011).

En la perra doméstica (*Canis lupus familiaris*), la gestación se considera desde el intervalo de el alza preovulatoria de hormona luteinizante (LH) hasta llegar al parto, la cual se cree que tiene una duración de  $65 \pm 1$  día (Concannon *et al.*, 1983 citado en Sanchez & Arias 2017). Aunque según (Lopate, 2008) el rango del lapso gestacional de la perra para la gestación a término se describe entre los 57 y 72 días. Asimismo, cabe destacar que los caninos son dependientes de la progesterona (P4) que secreta el cuerpo lúteo para poder mantener la gestación (Echeverría, 2005).

Los niveles séricos de progesterona (P4) logran un pico de 15-80 ng/ml entre los días 20 y 35 posteriormente del pico de hormona luteinizante (LH) para después disminuir lentamente y conseguir un valor inferior a 2 ng/ml al momento del parto (Concannon, 2011).

Al diagnosticar el tiempo gestacional en caninos ayuda para predecir la edad fetal así como también una fecha probable de parto, esto forma un desafío muy importante, tanto para veterinarios así como para criadores, debido a que al tener esta información permite tener una mejor atención a los partos, como manera de prevenir o minimizar las pérdidas neonatales; facilitando asimismo tomar mejores decisiones en cuanto a la planificación de las cesáreas (Luvoni & Beccaglia, 2006; Kim *et al.*, 2007; Lenard *et al.*, 2007).

La cesárea electiva (CS) es el medio más seguro de otorgar la camada a las perras en situaciones específicas. La ejecución oportuna de cesáreas preparto electiva en un momento fijo sería beneficioso e impediría cesáreas de emergencia y muerte fetal (De Cramer & Nöthling, 2020).

## **II.- HIPOTESIS**

Al momento de realizar las cesáreas en la clínica veterinaria REPROCAN, la progesterona sérica en plasma, estará por debajo de 2 ng/ml.

Al momento de realizar las cesáreas en la clínica veterinaria REPROCAN, la progesterona sérica en plasma, no estará por debajo de 2ng/ml.

## **III.- OBJETIVO**

Las cesáreas electivas realizadas en la clínica veterinaria REPROCAN se llevan a cabo mediante la estimación de la edad gestacional por medio del ultrasonido (US).

## IV.- REVISION DE LITERATURA

### 4.1.- Anatomía del aparato reproductor de la perra

El aparato reproductor canino, como las demás especies está compuesta de varios órganos, los que están ubicados en el interior del abdomen y los están en el exterior.

#### 4.1.1.- Órganos genitales de la hembra

##### **Ovarios**

Los ovarios son pequeños, de contorno oval alargada y son aplanados. La longitud varía en cm, teniendo una media de 2 cm. Cada ovario está ubicado, regularmente, a una distancia de 1 a 2 cm, caudal, o bien en unión con el polo caudal del riñón que corresponda y, por tanto, se sitúa a la altura de las vértebras lumbares III y IV o la mitad de la línea que existe entre la última costilla y la cresta del ilion. El ovario derecho está ubicado entre la parte derecha del duodeno y la pared abdominal lateral. El izquierdo está relacionado, lateralmente, con el bazo (Sisson & Grossman, 1982).

En la perra cada ovario está envuelto totalmente por una bolsa peritoneal, que se le llama bolsa ovárica, que tiene una hendidura que se abre ventralmente. Las dos capas que forman esta bolsa poseen gran cantidad de grasa y músculo liso. Se extienden por el cuerno del útero, para constituir el mesosalpinx y el ligamento propio del ovario (Sisson & Grossman, 1982: 1736pp). Los ovarios desarrollan funciones gametogénicas como también endocrinas (Dyce, Sack, & Wensing, 2007citado en Andrade, 2016).

##### **Trompas uterinas**

Las trompas uterinas también denominadas trompas de Falopio, son pequeñas, y cada una mide de 5 a 8 cm de longitud (Sisson & Grossman, 1982:1737pp). se dirigen craneal y luego caudalmente a través de la pared lateral de la bolsa hacia el

cuerno uterino, presentan una abertura abdominal grande, al contrario del orificio uterino que es muy pequeño. Regularmente dentro de ellas se lleva a cabo la fertilización de los ovocitos (Olivares & Adaro, 2000).

### **Útero**

El útero es la parte del aparato reproductor donde el embrión se implanta en su etapa de desarrollo, llamada etapa de gestación, hasta llegar el momento en el que se desencadena el parto, en donde este se contrae para expulsar a la cría (Andrade, 2019).

(Dyce, Sack, & Wensing, 2007, citado en Andrade, 2016) Menciona que el útero, está ubicado principalmente dorsal al intestino delgado, constituye un cuerpo muy pequeño que mide de 2 a 3cm, tiene forma de V, del cual se forman dos cuernos (derecho e izquierdo) (Ortega, 2014) que son delgados y largos con una medida aproximada de 12 x 1 cm. El cuerpo uterino se sitúa cerca del borde del pubis, de igual manera puede hallarse en posición abdominal. La porción del ligamento que sostiene al ovario se le llama mesovario, y la de los oviductos se le denomina mesosalpinx. Desde del ligamento ancho del útero se forma el ligamento redondo del útero, que parte desde la punta del cuerno uterino hacia el canal inguinal (citado en Andrade, 2016; Ortega, 2014).

Los ligamentos anchos del útero poseen gran cantidad de grasa y musculo liso. Son más amplios por la parte de la mitad que por los extremos, la porción caudal está unida a la craneal de la vagina. Los ligamentos redondos están comprendidos en el borde libre de los pliegues, descienden de la cara lateral de los ligamentos anchos. Los ligamentos son bandas que contienen grasa y musculo liso y pasan entre el canal inguinal, y van envueltas por un pliegue peritoneal denominado, apófisis vaginal (Sisson & Grossman, 1982:1737pp)

(Sisson & Grossman, 1982) Relata que los ligamentos anchos del útero aportan mayor sujeción del aparato reproductor de la hembra. La función de estos es sostener a los ovarios, oviductos y cuernos uterinos en su parte craneal, y al cuerpo del útero y cuello en su parte caudal.

**Cérvix**

El cérvix separa el útero de la vagina (Sisson & Grossman, 1982); Se ubica dorsal a la vejiga, formado por músculo liso el cual constituye el canal cervical, y mide aproximadamente de 1,5 a 2 cm. (Johnston & col., 2001 citado en, Lippi, 2019) Menciona que el cérvix canino puede pasar 0,5 a 1cm dentro de la vagina, pero conserva una posición abdominal y puede palpase a través del abdomen esto solo durante el estro.

**Vagina**

La vagina en la perra es de longitud larga, con diferencias propias en cada raza. Se encuentra entre el cuello uterino (cérvix) y el vestíbulo vaginal, aquí es donde se lleva a cabo la cópula y anatómicamente es la parte final del canal del parto (Wanke, 2006)

**Vestíbulo vaginal**

El vestíbulo conecta a la vagina con los labios vulvares que forma parte de los órganos externos. La unión vestíbulo-vaginal es una superficie estrecha y angular esto provoca que en algunas perras muestren resistencia a ciertas tácticas como palpación digital o vaginoscopía, un ejemplo de estas sería en perras de tamaño pequeño, en anestro, prepúberes o con anomalías anatómicas. La unión vestíbulo-vaginal en la etapa del estro en la mayor parte de las perras se encuentra relajada. En el tejido subepitelial del vestíbulo hay nódulos linfáticos, por lo que la irritación de la mucosa debido a agentes químicos o microbianos provoca hiperplasia e hiperemia de los nódulos linfáticos, que puede ser perceptible en la observación vaginoscópica o al tacto durante el examen vestibular (Stornelli & De la Sota, 2016: pp25).

#### **4.1.2.- Genitales externos**

##### ***Vulva***

La vulva está formada por unos labios gruesos que crean una comisura ventral puntiaguda. Es cubierta por una mucosa lisa y de color rojizo. Comúnmente, presenta pequeñas prominencias a origen de los folículos linfáticos. Hay dos músculos que conectan el vestíbulo y la vulva estos son músculos circulares estriados (Sisson & Grossman, 1982 :1740pp)

Uno de los músculos es el músculo vestibular constrictor este es el craneal, incompleto, ubicado en la superficie dorsal del vestíbulo, pero está unido, a lo largo de la orilla caudal, al esfínter anal externo (Sisson & Grossman, 1982 :1740pp)

El músculo constrictor de la vulva, es relativamente débil, está ubicado caudalmente al constrictor del vestíbulo. Se extiende dorsalmente con el esfínter anal externo esta rodea a la vulva y al vestíbulo. Este par de músculos, juntos, son homólogos al músculo bulbocavernoso del macho (Sisson & Grossman, 1982 :1740pp)

##### ***Clítoris***

Anatómicamente el cuerpo del clítoris es ancho y plano, en animales de talla media mide aproximadamente de 3 a 4 cm de longitud. No cuenta con estructuras eréctiles, está infiltrado de grasa, adjunto en una albugínea fibrosa y en la parte ventral contiene grandes arterias y numerosos nervios (Sisson & Grossman, 1982:1741pp).

##### ***Uretra femenina***

La uretra es de tamaño grande está ubicada en el suelo de la pelvis y de la vagina. La uretra está definida sobre el suelo de la vagina por un engrosamiento de forma longitudinal que alcanza al vestíbulo (Sisson & Grossman, 1982 :1741pp).

### **Glándulas mamarias**

Las glándulas mamarias son glándulas cutáneas apócrinas, que muestran una estructura túbulo-alveolar. Se encuentran ubicados en cada lado de la línea media, de una forma simétrica, estas se van extendiendo de la región torácica ventral hasta la región inguinal. En la perra habitualmente son 10 mamas que son 5 pares están ubicadas distributivamente a los lados de la línea media. Según su ubicación las mamas se nombran como; torácicas craneales, torácicas caudales, abdominales craneales, abdominales caudales e inguinales (Sisson & Grossman, 1982; Stornelli & De la Sota, 2016: pp27).

Ha habido casos de perras en las que puede variar la cantidad de pares de mamas que van de 4 o 6 pares. Anatómicamente los pezones son cortos y sus vértices tienen de 6 a 12 orificios pequeños, llamados conductos excretorios. (Stornelli & De la Sota, 2016: pp27).

Las glándulas mamarias torácicas, y la abdominal craneal drenan al ganglio linfático axilar ipsilateral, por otro lado, la abdominal caudal y la inguinal drenan al ganglio linfático inguinal superficial ipsilateral. No obstante, existen comunicaciones linfáticas inconstantes entre la abdominal craneal y la abdominal caudal. De igual forma en que se producen conexiones linfáticas entre torácica craneal, torácica caudal y abdominal craneal; así como de la misma manera entre abdominal caudal e inguinal. Los vasos linfáticos que drenan mamas de ambas cadenas están en íntima relación, a pesar de, se ha determinado que no hay comunicación entre ellos (Stornelli & De la Sota, 2016:pp27).

## **4.2.- Endocrinología de la reproducción**

En la reproducción canina, así como en la reproducción de los animales participan series de procesos complejos. Hay una interrelación cuali-cuantitativa entre el hipotálamo, hipófisis, ovarios y hormonas estas hormonas son la hormona luteinizante (LH), la folículo estimulante (FSH) y también los esteroides ováricos, que llevan a cabo la maduración folicular, ovulación, implantación y mantenimiento

de la gestación esto está precisamente influenciado por factores hereditarios, así como nutricionales y también factores ambientales (Feder, 1981; Aguado et al., 1982; Lincoln, 1984; Strauss et al., 1995; Cunningham, 1997 citado en Echeverría, 2005)

#### **4.2.1.- Hormonas hipotalámicas**

##### ***Hormona liberadora de gonadotropina***

El hipotálamo forma parte de la base del cerebro y sus neuronas producen la Hormona Liberadora de las Gonadotropinas o (GnRH). La cual circula a través de los capilares al sistema hipofisiario y luego a las células de la hipófisis anterior, en el cual su función es estimular la producción y secreción de las hormonas hipofisarias entre ellas están la hormona folículo estimulante (FSH) y la hormona luteinizante (LH) (Rippe, 2009).

La hormona liberadora de gonadotropina (GnRH), se libera en forma de pulsos, incluso pueden ser regulados por señales externas al hipotálamo, así como las hormonas esteroideas, la naturaleza pulsátil de la secreción de la GnRH resulta en la liberación en fases de la LH y FSH (Marshall JC & Griffin, 1993 citado en Prieto & Velázquez, 2002).

Al haber receptores a GnRH en el SNC apunta que esta hormona actúa como un transmisor o un neuromodulador que pudiera participar en la regulación de conductas reproductivas y de igual manera en la promoción de la ovulación (Prieto & Velázquez, 2002).

#### **4.2.2.- Hormonas hipofisarias**

En perros no está bien definido el papel que juega la hipófisis para mantener la gestación.

##### ***Hormona folículo estimulante (FSH)***

La concentración de hormona foliculoestimulante (FSH) aumenta en la segunda mitad de la gestación y contribuye a un leve incremento en la concentración de estrógenos durante este periodo (Feldman, *et al.* 2001).

**Hormona luteinizante (LH)**

Las concentraciones de hormona luteinizante se mantienen en niveles bajos durante la segunda mitad del estro y la primera de la gestación (Feldman, *et all.* 2001).

La secreción de hormona luteinizante (LH) al igual que el de las otras hormonas es de manera pulsátil y puede que llegue a aumentar durante la segunda mitad de la fase lútea (Feldman, *et all.* 2001).

La hormona luteinizante y la prolactina son hormonas muy importantes debido a que estas pueden interrumpir la gestación en cualquier momento por una hipofisectomía (Feldman, *et all.* 2001).

**Prolactina**

La prolactina se encuentra en concentraciones bajas durante el estro y proestro, pero aumenta hasta casi 10 veces durante la segunda mitad de la gestación, esta es una cantidad notablemente mayor a la mostrada en la misma etapa del diestro, en perras no gestantes, se cree que este aumento específico de la gestación es de origen hipofisario, pero también existe secreción placentaria o uterina de una proteína similar a la prolactina (Feldman, *et all.* 2001).

El aumento en la concentración de la prolactina sérica en la segunda mitad de la gestación concluye con una breve secreción súbita esto ocurre al momento en que la progesterona está disminuyendo en forma aguda, justo antes del parto.

Un par de días después del parto la prolactina disminuye, luego aumenta como respuesta al amamantamiento de los cachorros (Feldman *et al.*, 2001).

**4.2.3.- Hormonas foliculares****Estrógenos**

La concentración de estradiol plasmático en la quinta y sexta semana de gestación se encuentra en niveles basales (anestral) de 5-15pg/ml, en etapas posteriores la

concentración aumenta levemente estando en cifra proestral  $\leq 20$  pg/ml, el aumento persiste hasta el momento del parto, cuando la concentración disminuye de igual manera que la progesterona, se cree que el estrógeno ayuda el desarrollo mamario y puede ayudar en la relajación del cuello uterino (Feldman, *et all.* 2001).

### **Progesterona**

La progesterona es una hormona esteroidea que se produce principalmente por el ovario, ocurre al inicio del celo y en la gestación está producida por la placenta, se encarga de prevenir abortos, interviene en el desarrollo del embrión y de otros órganos como son las glándulas mamarias. El nivel máximo se logra en la primera mitad del diestro para luego decaer de forma abrupta en la segunda mitad del diestro (Párraga, 2019).

La concentración plasmática de progesterona suele ser menor de 1.0 ng/ml en el proestro medio y aumenta elevándose sobre los 1.0 ng/ml, antes de iniciar el celo y así va en aumento durante los siguientes 15-25 días. El primer día del diestro la concentración de progesterona es mayor de 5ng/ml y para el día 10 al 15 del diestro es mayor a 15ng/ml, en algunas perras alcanzan una concentración de 90 ng/ml, después de que la progesterona alcanza sus niveles máximos se mantiene constante de 7 a 15 días, luego comienza a descender de manera lenta durante el tiempo que falta para el término de la gestación (Feldman, *et all.* 2001)

Se ha demostrado que la concentración de progesterona 48 horas antes del parto es menor a 2ng/ml, si la concentración de progesterona se mantiene por arriba de este promedio mediante implante, el parto se puede inhibirse por completo. La progesterona es necesario para el desarrollo de las glándulas endometriales, el crecimiento endometrial, la secreción de líquidos uterinos, la inhibición de la actividad uterina, también para el mantenimiento y la inserción placentaria, así como para la eliminación de la respuesta de leucocitos dentro del útero (Feldman *et all.*,2001).

### **Prostaglandina**

Las prostaglandinas (PG) son importantes reguladores del cuerpo lúteo temprano (CL) en el perro. Inicialmente, CL es independiente de las gonadotropinas, en la

segunda mitad de su vida útil se requiere soporte hipofisario. Las prostaglandinas (PG) se sitúan entre los reguladores más destacados de la función de CL a través de especies de mamíferos, con PGE2 y PGF2 $\alpha$  típicamente jugando papeles opuestos. Por tanto, la función luteotrópica de la PGE2 lútea se opone principalmente a los efectos luteolíticos de la PGF2 $\alpha$ . La función de PGE2 se encarga especialmente de la estimulación mediada por cAMP / PKA de la expresión y función de STAR (proteína reguladora aguda esteroideogénica) (Kowalewski, 2014; Tavares, 2019).

### **4.3.- Fisiología de la reproducción de la hembra**

#### ***Ovogénesis***

Los óvulos se desarrollan en las gónadas femeninas (los ovarios). Los ovarios es un órgano en donde las células madres germinales se lleva a cabo un proceso en el que consta de 4 fases que son: Fase de proliferación o multiplicación, Fase de crecimiento, Fase de maduración y Fase de diferenciación (Villalobos, 2015, citado en Calderón, 2015).

#### **Fase de proliferación o multiplicación**

En esta primera fase las células madres germinales se multiplican por medio de la mitosis dando como resultado ovogonias (Villa 2007, citado en Calderón, 2015).

#### ***Fase de crecimiento***

La segunda fase que es la fase de crecimiento es cuando las ovogonias atraviesan una fase de crecimiento la cual estas pasan de ser ovogonias a ovocitos de primer orden, de igual manera con cromosomas. A diferencia de lo que pasa con la espermatogénesis el crecimiento es mayor, esto se debe a que el ovulo es el gameto portador de la mayor parte de las sustancias que se necesitan para el correcto desarrollo del embrión (Villalobos, 2015, citado en calderón, 2015).

***Fase de maduración***

Cuando el ovocito primario completa la fase de crecimiento este se encuentra listo para cruzar las dos divisiones de la meiosis para luego convertirse en una célula haploide con N cromosomas denominada ovótida (Kruip, 2000 citado en Calderón 2015).

Existe una característica importante y de manera peculiar en la ovogénesis ya que esta, por medio de la meiosis el ovocito se divide en cuatro células, pero en una de ellas se queda la mayor parte del citoplasma y esta es la que da lugar al ovulo. De esta manera cada uno de los ovocitos primarios dan lugar a un único ovulo. De las cuales las otras tres pequeñas partes que restan, se les llaman corpúsculos polares y en realidad son gametos abortivos que duran un tiempo adosados al ovulo y después acaban por atrofiarse y desaparecer (Villalobos, 2015, citado en calderón, 2015).

***Fase de diferenciación***

En esta fase es cuando la ovótida se convierte en el ovulo. De la cual esta no se trata de una fase de transformación. El óvulo es conocido como una célula haploide de mayor tamaño, debido a que esta almacena sustancia nutritivas en forma de granos vitelo. Como todas las otras células está revestida de una membrana plasmática (De Los Reyes, 2011 citado en Calderón, 2015).

Por procesos y motivos como estos es que la gametogénesis se le conoce como la fase inicial de la producción sexual en los animales. Durante esta fase la causa principal es la transformación de ciertas células de los padres en células especializadas que en hembras serían los óvulos y en los machos serían los espermatozoides. Lo primero que ocurre en la producción de gametos es una proliferación, de mediana rapidez, de las células por mitosis ordinaria. Las células proliferadas en los testículos se denominan espermatogonias; las células proliferadas en los ovarios se designan oogonias. Una vez que la proliferación concluye, las células se nombran espermatocitos en el macho y oocitos en las hembras. Entonces éstas pasan a la fase de crecimiento y luego a una fase de maduración (Illera, 2006, citado en calderón, 2015).

#### **4.3.1.- Fisiología del ciclo estral**

Las perras solo tienen un ciclo estral durante cada estación reproductiva por este motivo se les dice que son monoestricas, el ciclo estral en las perras se divide en las siguientes 4 fases:

#### **4.3.2.- Etapas del ciclo estral**

##### ***Proestro***

La fase de proestro sucede desde la primera observación de sangrado vaginal hasta la aceptación de la monta, en esta fase la hembra atrae al macho de manera pasiva ya que no acepta la monta puede llegar a durar de 2-3 días o puede llegar hasta 25 días, en promedio es de 9 días (Simón, 2011).

Entre los signos están agrandamiento vulvar, con secreciones de origen uterino pueden ser sanguinolentas hasta hemorrágicas, La cantidad de descarga varía mucho entre las distintas razas, así como también entre hembras además la mucosa vaginal se haya edematosa y sonrosadas. En esta fase los niveles de estrógenos llegan a alcanzar sus niveles máximos que pasan de 2 a 10 pg durante el anestro a niveles que van desde 500 a 100 pg/ml en la fase final del proestro. Hasta el final de la fase del proestro la progesterona se mantiene en valores basales  $\leq 1$  ng/ml, cuando llega el momento en que se produce el pico de LH es cuando la progesterona inicia a incrementar sus niveles (Simón, 2011).

Los cambios de comportamiento se deben al comienzo de la disminución de los estrógenos y al aumento de la progesterona los cambios de comportamientos más notables son inquietud de la perra y se vuelve huidiza y desobediente, tiende a escaparse y también puede llegar a realizar marcaje de orina. (Simón, 2011).

##### ***Estro***

Piedra, (2017) en su estudio cita al autor Esquivel (2012) el cual menciona que el estro, esta es la fase donde la receptividad sexual es positiva esta fase inicia cuando la hembra acepta la monta del macho se distingue porque la hembra adopta una postura muy peculiar denominada postura de lordosis esta es cuando coloca las patas de manera firme para permitir que el macho suba y desvía la cola a un

lado para posibilitar la cópula, en esta fase se observa que disminuye el edema y la secreción vulvar, su duración promedio es de 9 Pero puede tener un Rango de 3 hasta 20 días en las características anatómicas de la vulva se puede apreciar que sigue aumentadas de tamaño pero con menos turgencia esto es producido por el descenso de los niveles de estrógenos, la descarga vulvar sanguinolenta es menos abundante o puede no presentarse en esta etapa continúa la atracción del macho pasa y es cuando pasa del rechazo a la aceptación.

### ***Diestro***

El diestro, Inicia en el momento de pos cópula, donde la hembra de nuevo rechaza al macho. En esta etapa existe un Periodo de secreción de progesterona que Se relaciona con actividad de los cuerpos lúteos formados es decir que continúa durante todo el período en que hay niveles de progesterona superior a los niveles basales (2 ng/ml), el diestro inicia en el momento en el que la hembra muestra un rechazo a la cópula. Esta etapa tiene una duración que varía entre 60-80 días para perras no gestantes y en perras gestantes tiene un promedio de 56 a 58 días, para las perras preñadas la actividad luteal decae de forma gradual hasta un cese brusco y es cuando ocurre el parto de lo contrario en perras no gestantes la actividad luteal decae más lentamente por lo que se alarga el periodo de 10 a 20 días más (Echeverría, 2005).

Esta etapa se caracteriza por la disminución del tamaño y el tono de la vulva, así como también la disminución del interés mostrada por el macho. Tras la ovulación, el del cuerpo lúteo estimula la producción continua de progesterona, con o sin gestación, teniendo un pico máximo a los 20-30 días del pico de LH y después una disminución graduada en los 40-60 días siguientes. En perras gestantes, la progesteronemia declina de forma llamativa para comenzar el parto, el cual no sucede hasta que la progesterona este por debajo de 2ng/ml (Holst and Phemister, 1974; citado en Ortiz, 2015)

La prolactina es la hormona principal luteotrópica en la fase luteal, en perras gestantes, así como también en no gestantes, lo que representa que el cuerpo lúteo

requiere de la presencia de esta hormona para secretar cantidades normales de progesterona (Wanke *et al*, 2002; Echeverría, 2005).

### **Anestro**

El anestro esta es la etapa en la que se concluye el ciclo estral, el cual inicia después del diestro y finaliza cuando comienza el proestro del siguiente ciclo. Se identifica por la presencia de niveles basales de P4 sérica. El anestro es calificado como el final de la fase lútea y el comienzo de una nueva fase folicular (Picardo, *et all*, 2019; Abelló & Aguirre, 2020).

Durante este tiempo el eje hipotálamo- hipófisis-ovario-útero permanece activo, lo cual indica actividad sexual en la perra, además en este periodo hay secreciones pulsátiles de FSH y LH estas hormonas aumentan a medida que se acerca el comienzo del proestro; la duración varía si las hembras ciclan dos veces al año es de 4 meses o, hasta 11 meses si el ciclo ocurre una sola vez. Esta fase también incluye la etapa de lactancia en el caso de que le hembra quede preñada y en los casos en el cual no hay gestación, se puede presentar pseudopreñez o también llamado pseudociesis (Concannon, 2011 & Picardo, *et all*, 2019).

## **4.4.- Métodos de diagnóstico de gestación**

### **Palpación**

La técnica de palpación para el diagnóstico de gestación siempre está indicada ya que es un método temprano, confiable y económico; sin embargo, requiere una precisión profesional extrema (Anciuti, *et all*, 2021)

La palpación de las vesículas se puede realizar entre el día 21 al día 25 de gestación. Posterior al día 35 la dilatación del útero hace dificultoso el diagnóstico por esta técnica (Johnston *et all*, 2001, citado en García *et all*., 2012)

Al inicio son piriformes, con el paso del tiempo se hacen redondas, se sugiere elevar los cuartos delanteros de una perra para hacer descender el útero en sentido posterior y así pueda ser un poco más fácil para palpación. Del día 30 al día 35 el útero crece en forma difusa y los cuerpos caen en una posición más ventral, lo que

hace que sea más difícil de palpar, posterior al día 50 de la gestación (Feldman, *et all.* 2001)

Aunque según (Matamoros & Salinas., 2017) en la palpación tras abdominal del útero se puede palpar la presencia de vesículas embrionarias a partir de los 21-22 días tras la cópula. En este periodo las vesículas tienen alrededor de 1 cm de diámetro y se sitúan en la mitad caudal del abdomen. Conforme la gestación avanza las vesículas se vuelven más grandes y más ventrales siendo el día 28 después de la copula el momento recomendable para el diagnóstico de la gestación, a partir del día 35 las vesículas no están separadas y fluyen siendo muy difícil o imposible el diagnóstico de gestación a partir de esta fecha, este método de diagnóstico tiene sus impedimentos en perras obesas nerviosas o con un bajo número de vesículas embrionarias además esta técnica no determina la vitalidad del feto.

### ***Radiografías***

La radiografía es otra técnica de diagnóstico de la gestación auxiliar más confiable para evaluar el tamaño de la camada (Toal *et all.*, 1986, citado en Root., 2005)

El diagnóstico por radiografía es más tardado, dado que hay que esperar hasta los 40-45 días, debido a que es el momento en que empieza a ser detectable radiográficamente la mineralización del esqueleto (Morales, 2009).

La determinación de la edad gestacional también se ha intentado por examen radiográfico, mediante la identidad de los grados de mineralización fetal y la primera aparición de diferentes estructuras esqueléticas en el que las estructuras óseas caracterizadas por el más estrecho período de mineralización son el húmero a los  $20 \pm 1$  día (rango entre 20 y 24 días) y fémur a los  $21 \pm 1$  día (rango entre 19 y 23 días) antes del parto. Otros huesos, como peroné, calcáneo y falanges, se mineralizan solo después del nacimiento (Haney, Levy, Newell, Graham, & Gorman, 2003; Rendano *et al.*, 1984; Rendano, 1983, citado en Beccaglia, *et all.*, 2016).

Según la literatura, las radiografías pueden proporcionar una estimación aproximada de la Edad gestacional, pero no son adecuados para establecer la

madurez fetal. Un feto puede estar completamente mineralizado tan pronto como 58 días después del pico de LH, pero no sobreviviría si se realiza una cesárea en esta etapa (Concannon, 2000; Rendano et al., 1984; Rendano, 1983 citados en Beccaglia, et al., 2016).

### ***Ultrasonografía***

La ecografía, también llamada ultrasonografía o ecosonografía, es una tecnología de imagen de elección utilizada para procedimiento de diagnóstico. Se utiliza para la evaluación del sistema reproductivo y del embarazo tanto en humanos como en animales (Mantziaras, & Luvoni. 2020).

Arrieta, *et al.*, (2002), en su estudio cito a Barr, 1998; Poffembarger, 1986 & Lamb 1990; Yeager. Los cuales mencionan que la ultrasonografía es una técnica de diagnóstico de gran provecho en la detección de gestación en hembras caninas, en la valoración de la viabilidad fetal, en la estimación de la edad de los fetos, así como también en la estimación de muerte fetal.

Durante los últimos 10 años, se ha realizado importantes adelantos tecnológicos de los equipos, por otro lado, se han perfeccionado nuevas tecnologías. Doppler, ecografía con contraste, elastografía y ecografía 3D / 4D son técnicas de ultrasonido evolucionadas que se han diseñado como métodos para aumentar la sensibilidad diagnóstica de la ecografía bidimensional (modo b) y no como pruebas independientes (Mantziaras, & Luvoni. 2020).

En el diagnóstico reproductivo de pequeños animales, estas técnicas han ganado una popularidad cada vez mayor, (Mantziaras, & Luvoni. 2020).

La ecografía es una técnica no invasiva que permite un diagnóstico preciso de la gestación y permite la evaluación en serie del embrión / feto en desarrollo y las estructuras extrafetales. La primera indicación ecográfica de la gestación es una cámara gestacional que se ve 10 días después del apareamiento como una pequeña estructura anecoica circular. A partir del día 30 es posible reconocer diferentes órganos fetales, y entre los días 38 y 43 se puede determinar el sexo del feto. (Zambelli, 2006; Zambelli, 2004)

Según Erdogan, (2012); Amer, (2010); Ortega, (1999) citados en el estudio de (Rossetti et al., 2020) Menciona que la ecografía transabdominal en tiempo real ha demostrado ser un método seguro, rápido y a la vez confiable para detectar la gestación de forma temprana . Por esta metodología se puede detectar la vesícula embrionaria entre los 25 y 28 días de preñez y los latidos cardíacos fetales se pueden mostrar entre los 30 y 35 días de gestación, la exactitud del método está relacionada con el número de fetos, así como también con la profundidad de emisión de la sonda y la experiencia que el operador posea.

“La ultrasonografía bidimensional de tiempo real ha permitido reconocer de manera más consistente las vesículas entre los días 16 y 20 de la gestación” (Feldman, *et al*, 2001).

#### **4.5.- Métodos y técnicas de inseminación artificial**

La Inseminación artificial (IA) es un procedimiento rentable, que puede ir desde una baja dificultad hasta de una mediana complejidad, esta técnica nos brinda impresionantes posibilidades entorno a la clínica reproductiva diaria, así como también al desarrollo biotecnológico. Sin embargo, en esta práctica hay factores sumamente importantes que hay que tener en cuenta para ser exitosa (Stornelli *et al*., 2001).

Según Farstad (2010), “la IA en caninos tiene además una serie de aplicaciones clínicas, destacándose como una herramienta para la solución de problemas físicos en el apareamiento, característicos de razas tales como el Bulldog Inglés”.

La primera Inseminación Artificial (IA) con semen fresco en caninos fue en 1787 elaborada por Lazzaro Spallanzani, desde entonces esta técnica se ha venido ejerciendo, con el paso del tiempo se ha impulsado en la reproducción de pequeñas especies (Stornelli et al., 2001; Restrepo., 2009)

Cada vez es más frecuente el uso de IA, realizarla con semen fresco, refrigerado o congelado. El estado de salud y nutrición de los machos, el semen utilizado, así como el manejo del período de inseminación, y método de inseminación empleada establecerán el éxito o fracaso de la IA. (Stornelli et al., 2001).

***Inseminación artificial con semen fresco***

La IA con semen fresco es un procedimiento sencillo y de bajo costo que puede realizarse sin dificultad en la clínica reproductiva diaria. La utilización de IA con semen fresco ofrecerá resultados de tasas de preñez, así como también tamaño de la camada que puede ser semejantes con los obtenidos mediante monta (Fosberg & Fosberg, 1989; England & Allen, 1989; Fosberg, 1991; Fosberg, 1996 citado en Stornelli, 2017).

Según Ettinger (1995) citado en Stornelli et al., (2001). Para la obtención del semen habitualmente se efectúa por masturbación, aunque también puede manejarse un electro eyaculación, es más común en animales muy agresivos o en los que no logran eyacular por la técnica manual. La recolección de la porción espermática es suficiente para realizar la IA.

Una vez que el semen sea recaudado en un recipiente apropiado, es guardado en una jeringa para rápidamente ser depositado en la vagina craneal, por medio de una sonda de longitud según el tamaño de cuerpo de la hembra. (Ettinger, 1995 citado en Stornelli, 2017).

***Inseminación artificial con semen refrigerado***

El semen puede ser refrigerado por medio de la incorporación de diluyentes, y de esta forma ser conservado y transportado. Las temperaturas bajas reducen las tasas metabólicas del espermatozoide y extienden su longevidad. La función de los diluyentes es proteger a las membranas del espermatozoide del daño que puede producir los cambios de temperatura, suministrando energía y poder mantener estables el pH y la osmolalidad. Se le agregan antibióticos a los diluyentes para así evitar que las bacterias proliferen, en particular los que contienen yema de huevo (Watson, 1995; Lardy, 1939; Marshall, 1990; Rota, 1995, citado en Stornelli et al., 2001).

Según autores (Dumond & Fontbonne, 1993; Fosberg, 1996) citados en (Stornelli, 2017). Para la refrigeración se recolecta la porción espermática del semen y se une con el diluyente elegido haciendo una mezcla, el cual debe de estar a la misma temperatura del semen en el momento de la dilución. Entre semen y diluyente se

debe acatar una relación 1:3 o 1:4, “una fracción excesiva de diluyente tendrá influencias negativas sobre la motilidad”. El semen preparado de esta manera puede refrigerarse a 4 °C y emplearlo para IA lográndose tasas de preñez aceptables durante las primeras 24 a 48 h.

Según autores Morrow (1980); Kiek, (1989) citados en Stornelli et al., (2001) se han utilizado distintos diluyentes para la preservación de semen a 4 °C. Dentro de los más manejados se encuentra el tris-buffer con el agregado de 20 % de yema de huevo (TYH) y diluyentes compuestos por yema de huevo y crema o leche descremada.

### ***Inseminación con semen congelado***

La inseminación artificial (IA) y la congelación de semen ha llegado a ser uno de los servicios aprovechables para los dueños de perros de todo el mundo, y la demanda de servicios para congelar el semen está creciendo con el paso del tiempo (Thomassen, & Farstad, 2009).

Incontables crías de distintas especies han nacido a partir del uso de semen congelado. A pesar de que, continuamente se modifican los protocolos de congelación con el fin de obtener cada vez mejores resultados en relación a la supervivencia espermática y fertilidad del semen al momento de ser descongelado. (Stornelli & De la Sota, 2016).

Hoy en día se han perfeccionado numerosos protocolos para la criopreservación de semen canino, sin embargo, se obtienen tasas de fertilidad muy inferiores en relación a las obtenidas con semen diluido y conservado bajo condiciones de refrigeración (Stornelli et al., 2001; Romagnoli, 2002; Hori, 2003). Por otro lado, autores como Linde-Forsberg, 1991; Michelsen et al., 1993; Pinto et al., 1999; citados en Flores, et al., 2010) mencionan que se tiene una predisposición a producir un efecto negativo en el tamaño de la camada, es por eso que, en la práctica de la inseminación artificial en caninos, muchos siguen prefiriendo el empleo de semen fresco, o luego de ser conservado en refrigeración

Al descongelarse el semen conserva una vida mucho más corta que el semen fresco, esto ocurre por los protocolos de criopreservación ya que producen un mayor

número de factores de estrés y estos logran producir distintos cambios en el espermatozoide (Watsonn 1990, 1995 citado en Stornelli, & de la Sota., 2006).

El crioprotector comúnmente más utilizado para la criopreservación de semen canino es el glicerol, debido a que es un crioprotector permeable la cual funciona evitando la creación de cristales intracelulares de hielo (Rota, 2006; Restrepo et all. 2011).

### ***Técnicas de inseminación artificial***

Según Mason, (2018) Se han descrito cinco formas de inseminación artificial en caninos, que son Inseminación vaginal, Inseminación transcervical asistida por endoscopio (EIU), No EIU (catéter noruego), Inseminación por laparotomía (inseminación quirúrgica, implante quirúrgico), Inseminación laparoscópica que esta última es más utilizada en humanos

### ***Inseminación artificial intravaginal***

En la inseminación artificial vaginal o también llamada intravaginal el semen será depositado en la vagina craneal la hembra por medio de un catéter de longitud de acuerdo al tamaño de la hembra. La vagina de la hembra canina es de una longitud apreciable, varía considerablemente acorde a la raza. Por tal motivo el tamaño de los catéteres también tendrá gran variación (Stornelli *et all*, 2001).

El catéter se insertará a través de los labios vulvares, eludiendo la fosa del clítoris, dirigiéndose primero dorsalmente para luego dirigirse cranealmente ajustándose a la anatomía de la hembra canina. Cuando el catéter se encuentra en el fondo de la vagina, el semen es impulsado a través de él catéter por medio de una jeringa y depositado en vagina craneal. Inmediatamente el catéter es retirado y la hembra es sostenida 10 a 15 minutos con el tren posterior sobreelevado (Ettinger & Feldman, 1995 citado en Stornelli 2017).

El volumen de semen adecuado para llevar a cabo la IA intravaginal se encuentra entre 2 y 8 ml esto conforme al tamaño de las hembras a inseminar. En casos en que el volumen seminal sea inferior a lo establecido, como ocurre en razas pequeñas o en algunos machos que presentan alteraciones prostáticas, se

aconseja la integración de fluido prostático o un diluyente seminal (Linde-Forsberg, 2006; Farstad, 2010; Sánchez & Bravo, 2013).

En la clínica reproductiva canina se debe valorar el semen para estimar la fertilidad potencial de los reproductores. En el perro, se consideran como parámetros básicos de calidad seminal la motilidad progresiva, la morfología espermática, así como también la concentración espermática (Root, 2014).

### ***Inseminación artificial intrauterina transcervical***

La inseminación transcervical ayuda a que se logre una correcta deposición intrauterina del semen sin correr los riesgos, el tiempo y los costos que implican con la anestesia y la cirugía. Los resultados logrados con este método de inseminación están a la par con los mejores resultados registrados tras el uso de semen congelado. (Wilson, 2001).

### ***No EIU (catéter noruego)***

La Inseminación Artificial intrauterina transcervical puede realizarse por medio de la cateterización del cuello uterino con catéteres de 20 a 50 cm de longitud y 0,5 mm de diámetro, con la punta protegida por una cubierta de nylon (catéter Noruego) (Stornelli, *et al* 2001).

Según el autor Andersen (1975). El catéter noruego fue el primer dispositivo intrauterino no quirúrgico desarrollado en 1975.

Con la hembra en posición, el operador fija el cérvix entre sus dedos a través de la pared abdominal, con la otra mano inserta el catéter hasta la región del cuello, retira la cubierta de nylon y penetra el cuello uterino para colocar el semen en el cuerpo del útero. No es necesario sedar a la hembra, pero el operador necesita de previa experiencia para poder realizar la técnica de manera correcta. La cateterización del cuello puede ejecutarse visualizando el cérvix con ayuda de un endoscopio, este procedimiento permite al operador visualizar el cuello facilitando la maniobra de cateterización uterina (Fosberg, 1991).

### ***Inseminación artificial por laparotomía (inseminación quirúrgica, implante quirúrgico)***

La Inseminación Artificial intrauterina quirúrgica puede llevarse a cabo por medio de laparotomía, con anestesia general o epidural. Se deposita lentamente el semen en el cuerpo o cuernos uterinos por medio de una jeringa y una aguja calibre 21, con el bisel hacia arriba y una inclinación de 45 °C. Es una técnica sencilla pero el número de inseminaciones es reducido y deben extremarse las medidas para evitar infecciones. También puede ejecutarse mediante laparoscopia, esta técnica es comúnmente utilizada en ginecología humana. Sin embargo, el costo de los equipos hace que esta técnica haya sido realizada sólo ocasionalmente (Stornelli *et al*, 2001).

#### **4.5.- Técnicas de diagnóstico de progesterona**

La concentración de progesterona en sangre se emplea en varios procedimientos referente con la reproducción en la perra, como son para el control de la ovulación, la valoración del tiempo de parto o el manejo del hipoluteoidismo (Gloria *et al*, 2018).

La medición precisa de P4 en suero para decretar el día del pico preovulatorio de LH y el momento de la ovulación durante el manejo de la cría canina son esenciales para maximizar las tasas de preñez y el tamaño de la camada (Mason, 2018).

Existen distintas técnicas disponibles para evaluar la concentración de progesterona en sangre, como el radioinmunoensayo (RIA), el inmunoensayo quimioluminiscente (CLIA) y el ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA) (Gloria *et al*, 2018).

#### ***Radioinmunoensayo (RIA)***

El radioinmunoensayo (RIA) se ha manejado durante mucho tiempo para determinar el valor de progesterona en suero o plasma de perras, pero se suspendió en 2014. (Nöthling, & De Cramer, 2018).

El radioinmunoensayo (RIA) es el estándar industrial histórico para la medir la P4 en suero canino, pero tiene una disponibilidad limitada. Esto se debe a su riesgo de radiación inherente, el costo del equipo, la menor disponibilidad de reactivos, muy

pocos laboratorios de referencia brindan actualmente mediciones de P4 en suero mediante RIA en caninos (Nöthling, & De Cramer, 2018; Tal *et al.*, 2019).

El radioinmunoensayo es muy sensible y específico, pero la técnica requiere mucho tiempo e implica el uso de material radiactivo (Relave *et al.*, 2007)

### ***Inmunoensayo quimioluminiscente (CLIA)***

Los inmunoensayos de quimioluminiscencia (CLIA) se ocupan comúnmente en medicina humana para la medición de P4 y cada vez están más disponibles en medicina veterinaria (Tal *et al.*, 2019).

Para medir la progesterona sérica, el inmunoensayo quimioluminiscente (CLIA) ha reemplazado al radioinmunoensayo como el estándar actual en la perra en virtud a su alta correlación y mayor practicidad (Zuercher *et al.*, 2021)

En efecto, el inmunoensayo quimioluminiscente (CLIA), que utiliza fluorescencia y anticuerpos anti-P4, se ha convertido en el estándar industrial contemporáneo brindado por los laboratorios de referencia debido a su menor costo y tiempo de respuesta más rápido en comparación con RIA. Un estudio comparativo de las mediciones de RIA y CLIA de la concentración de P4 en suero canino determinó que las dos pruebas estaban altamente correlacionadas (Zuercher *et al.*, 2021)

### ***Ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA)***

Los ensayos inmunoabsorbentes ligados a enzimas cuantitativos (ELISA) se han desarrollado para medir P4 en distintas especies y su correlación con RIA es alta. El ensayo implica cambios de color que no demandan el uso de materiales radiactivos y elaborado equipo de laboratorio. El ELISA semicuantitativo mide la concentración de P4 en una gota de plasma o suero. La cantidad de P4 presente se indica mediante un cambio de color, que se compara con los estándares de progesterona. (Relave *et al.*, 2007)

(Van *et al.*, 2001). Concluye que las concentraciones de progesterona medidas con los kits de prueba ELISA son demasiado inexactas para el uso clínico como para determinar el momento óptimo para el apareamiento.

***Equipo iCroma-II***

“El equipo iCroma-II es un Herramienta de análisis cuantitativo que mide la concentración de analitos en sangre total, suero, plasma, orina y otras muestras por medio de señales de fluorescencia emitidas a partir de los cassettes de pruebas; posibilitando la obtención de resultados confiables en menor tiempo (Gematec).

Ichroma <sup>TM</sup> II utiliza un láser de diodo semiconductor como fuente de luz de excitación para la iluminación de la membrana del cartucho de ensayo (pre-cargado con la muestra clínica adecuadamente procesadas según el procedimiento de ensayo estándar prescrito. Comenzando así la fluorescencia de las moléculas de fluorocromo presentes en la membrana. La luz fluorescente se recoge junto con la luz láser dispersada. Fluorescencia pura es filtrada de la mezcla de la luz dispersada. La intensidad de la fluorescencia se escanea y se convierte en una señal eléctrica que es igual a la intensidad de la fluorescencia producida en la membrana del cartucho de ensayo” (kontrolab, 2016).

“El microprocesador interno calcula la concentración del analito en la muestra clínica en base a una calibración pre-programada. El resultado calculado y convertido se observa en la pantalla de visualización de la ichroma <sup>TM</sup> II ” (kontrolab, 2016).

La prueba i-CHROMATM Progesterona es un inmunoensayo de fluorescencia que se utiliza para la determinación cuantitativa de progesterona en suero o plasma. IChroma <sup>TM</sup> Progesterona se emplea como ayuda para la determinación causas de infertilidad, en el seguimiento de la ovulación, el diagnóstico gestación y en el monitoreo de la salud durante la preñez. (Labindustrias, 2021)

***PROCEDIMIENTO***

“Transfiera 150 µl de diluyente del detector con una pipeta al tubo detector que contiene gránulos. Cuando el gránulo está completamente diluido en el tubo

detector, se convierte en buffer de detección. (El buffer de detección debe usarse rápidamente, dentro de 30 segundos.)

Transportar 30 µl de muestra (suero/ plasma) utilizando una pipeta de transferencia al tubo detector.

Cerrar la tapa del tubo detector y combinar bien la muestra agitándola aproximadamente 10 veces.

(La mezcla de muestra debe usarse dentro de los 30 segundos después de agitarlo 10 veces.)

Pipetear 75 µl de la mezcla y dispensar en el pocillo de muestra presente en el cartucho de prueba.

Deje el cartucho de prueba de la muestra cargada en la i-Chamber a 25°C por 15 minutos.

Para escanear el cartucho de prueba de muestra cargada, insértela en el soporte del cartucho de prueba del lector iChroma™. Garantizar la orientación apropiada del cartucho de prueba antes de empujar hasta el fondo dentro del soporte del cartucho de prueba.

Presione el botón 'Select' en el Reader iChroma™ para comenzar el proceso de escaneado.

Reader iChroma™ comenzará a escanear el cartucho de prueba de muestra previamente cargada.

Leer el resultado de la prueba en la pantalla de visualización de la iChroma Reader™.

(labindustrias., 2021)

## V.- MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizó un estudio en la ciudad de Torreón, Coahuila para medir el nivel de progesterona al momento de la cesárea electiva mediante el inmunoensayo de fluorescencia con el kit de progesterona del equipo ichroma II

Para este trabajo de investigación se ocuparon 10 hembras de diferentes edades, pesos y de la raza bulldog inglés clínicamente sanas las cuales se habían inseminado artificialmente.

Material utilizado para determinar progesterona en plasma

- ✚ Guantes de látex
- ✚ Tubos vacutainer
- ✚ Jeringa y aguja
- ✚ Puntillas
- ✚ Pipeta
- ✚ Kit para progesterona
- ✚ El equipo ichroma II
- ✚ Equipo i-chamber

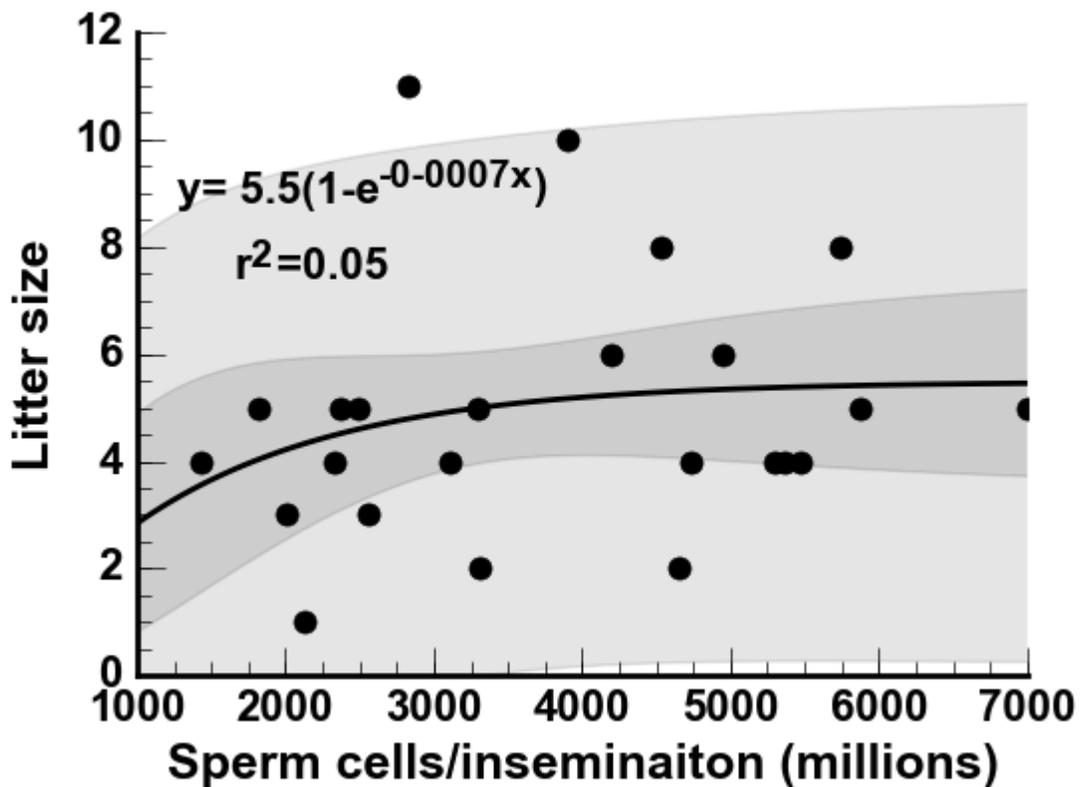
### 5.2.- Métodos

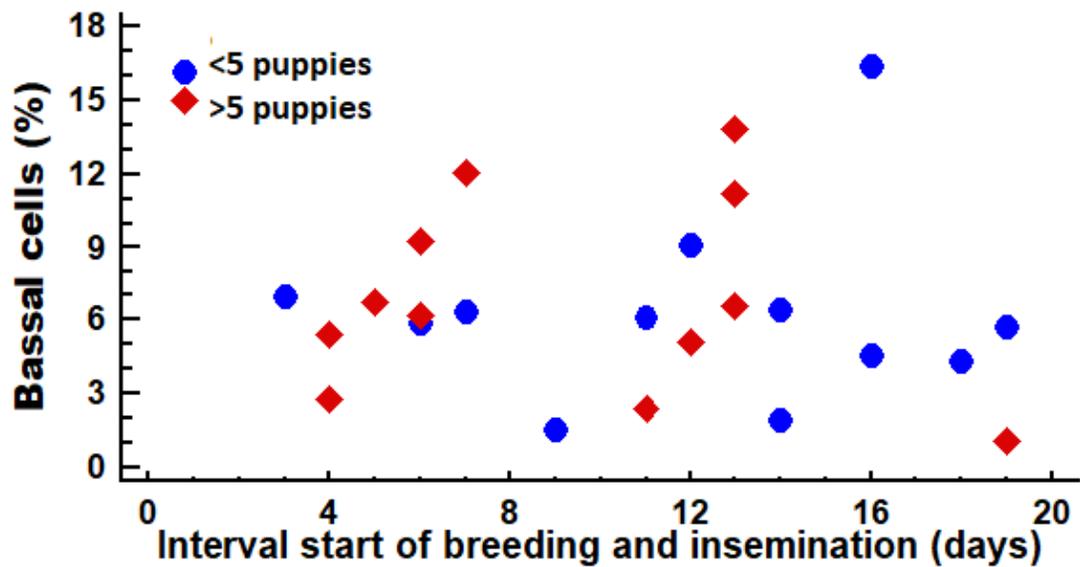
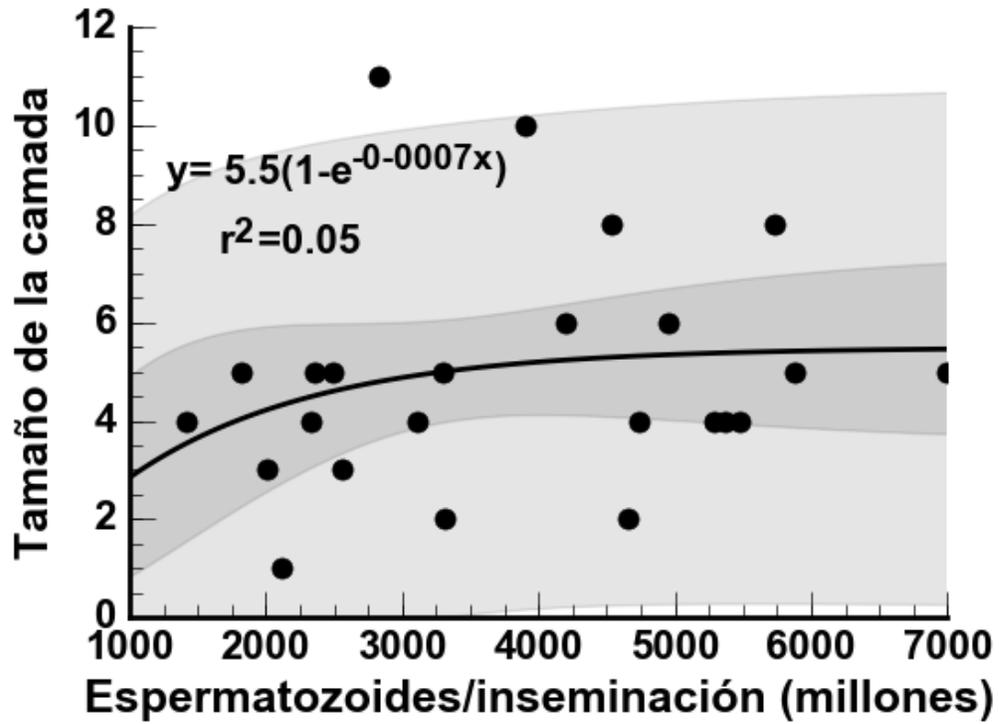
- ✓ Tomar la muestra de sangre con ayuda de una aguja vaciarlo en un tubo vacutainer
- ✓ Dejar reposar la muestra por 5 minutos
- ✓ Centrifugar la muestra a 2,500 revoluciones por minuto
- ✓ Transferir 130  $\mu l$  de diluyente al tubo detector que contiene gránulos
- ✓ Transportar 30  $\mu l$  de muestra de suero o plasma utilizando una pipeta al tubo detector
- ✓ Cerrar la tapa del tubo detector y combinar bien la muestra agitándolo 10 veces aproximadamente
- ✓ Pipetear 75  $\mu l$  de mezcla y dispensar en la abertura de la muestra presente en el cartucho de prueba

- ✓ Dejar el cartucho de prueba de la muestra cargada en la i-chamber a 25°C durante 15 minutos
- ✓ Insertar el soporte del cartucho de prueba del lector ichroma II empujar hasta el fondo del soporte del cartucho de prueba
- ✓ Escribir los datos de la perra en el equipo i-chroma (nombre, edad)
- ✓ Leer el resultado de la prueba en la pantalla de visualización del equipo i-chroma II

## VI.- RESULTADOS

### 6.1.- Análisis estadístico





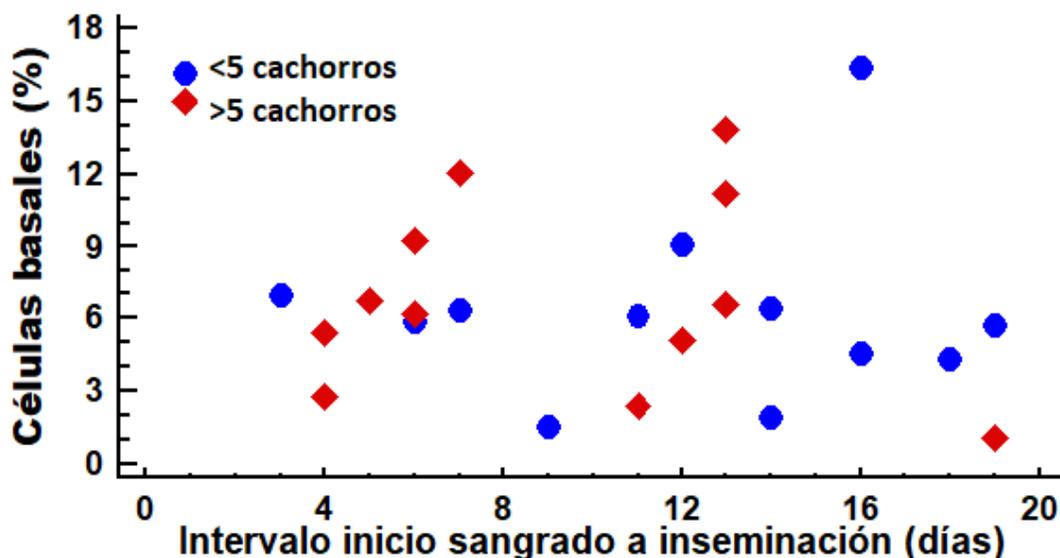


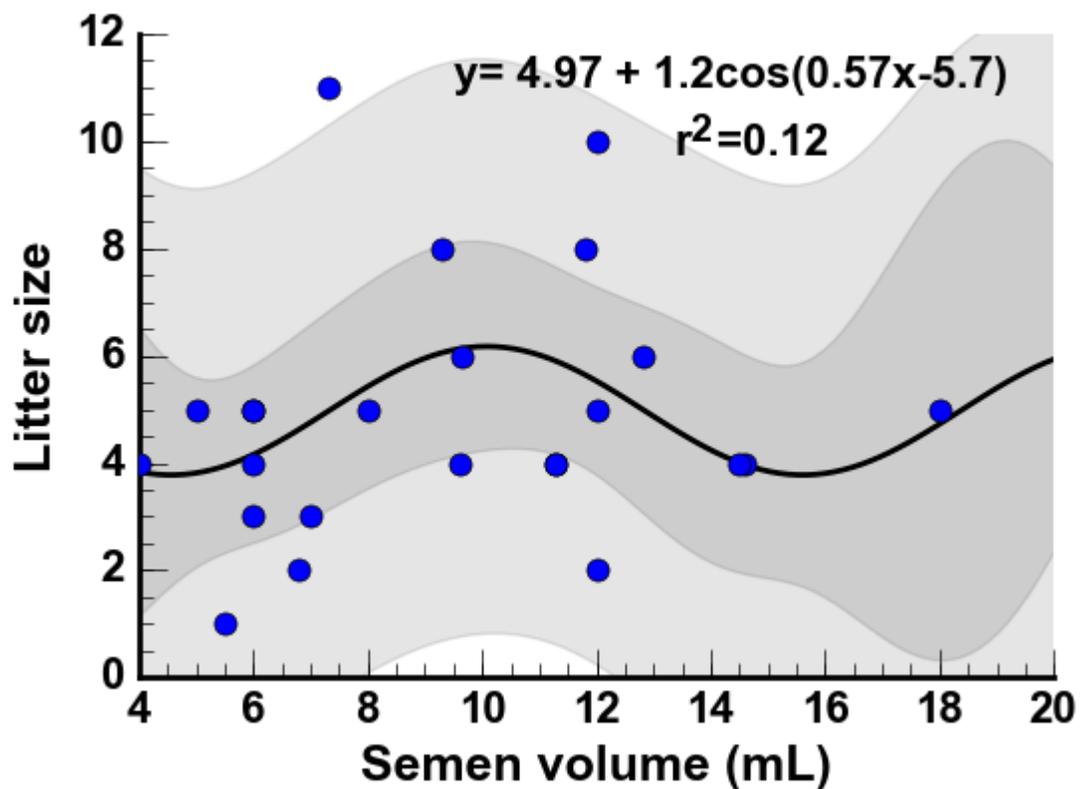
Ilustración 1 Funciones 1 y 2 del análisis de función discriminante realizado sobre el tamaño de la camada considerando el porcentaje de células basales del epitelio vaginal de las perras en celo.

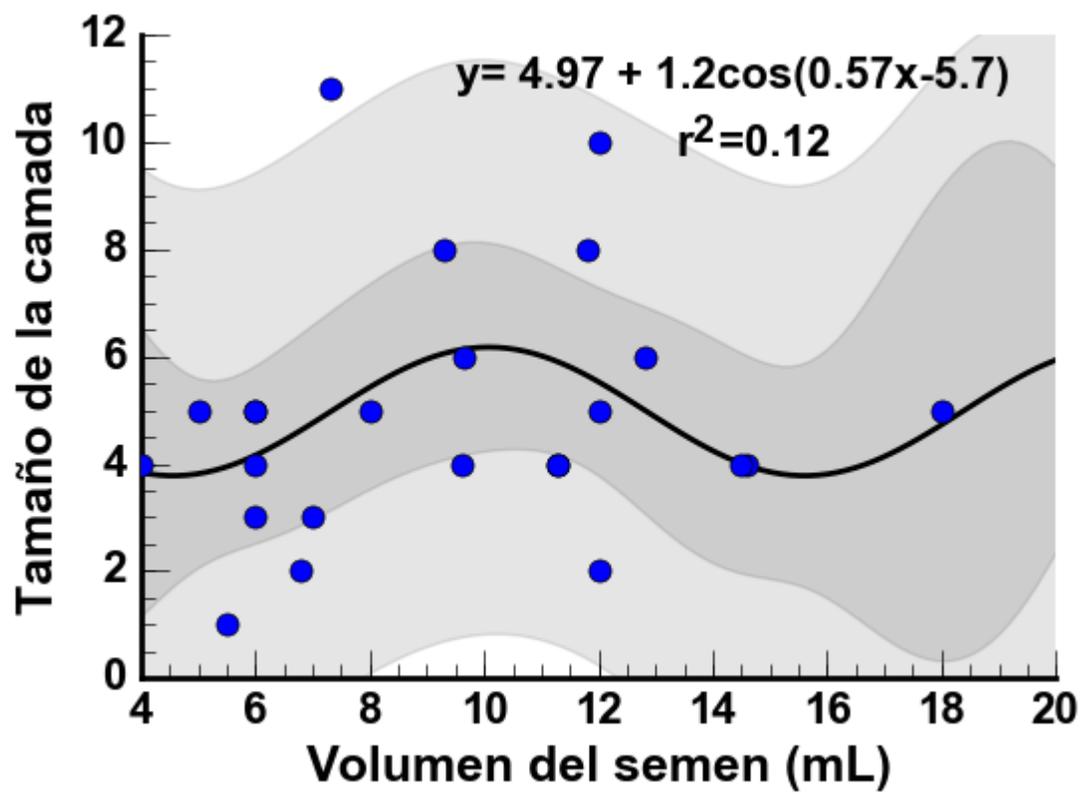
<i>Función</i>	<i>Eigenvalor</i>	<i>Porcentaje</i>	<i>Correlación</i>
<i>Discriminante</i>		<i>Relativo</i>	<i>Canónica</i>
1	0.951632	100.00	0.69829

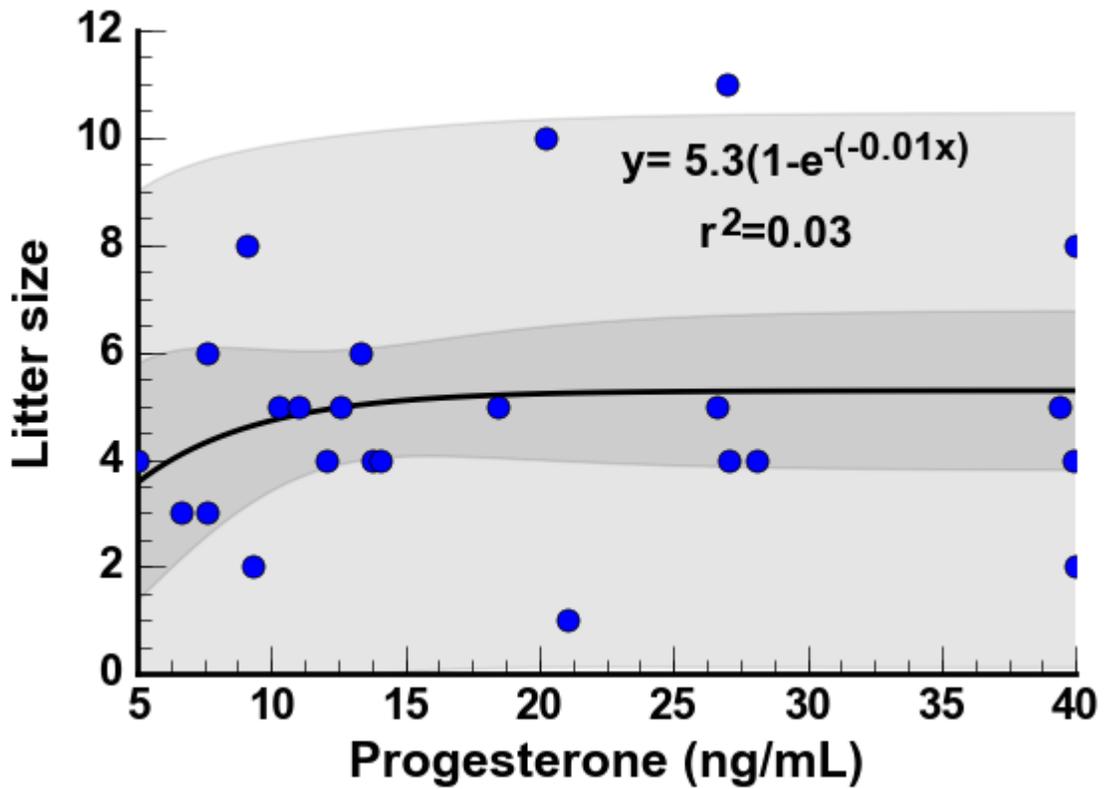
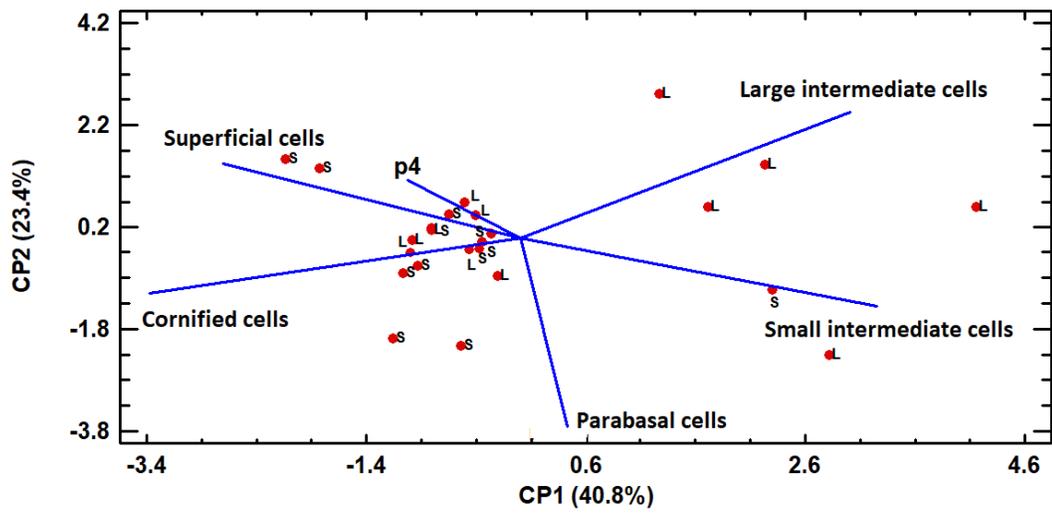
<i>Funciones</i>	<i>Lambda</i>			
<i>Derivadas</i>	<i>de Wilks</i>	<i>Chi-Cuadrada</i>	<i>GL</i>	<i>Valor-P</i>
1	0.512392	11.3673	10	0.3296

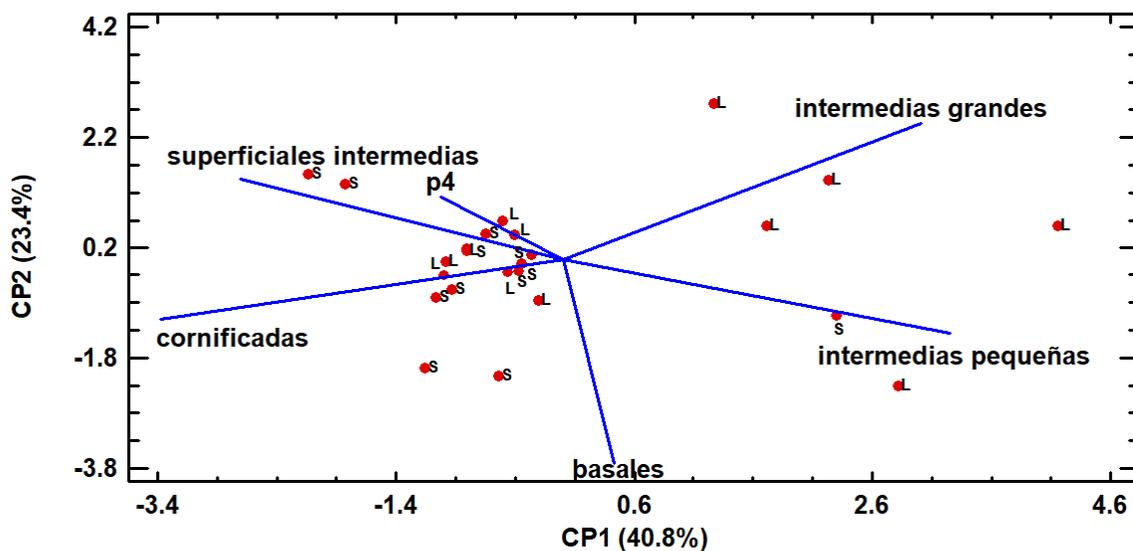
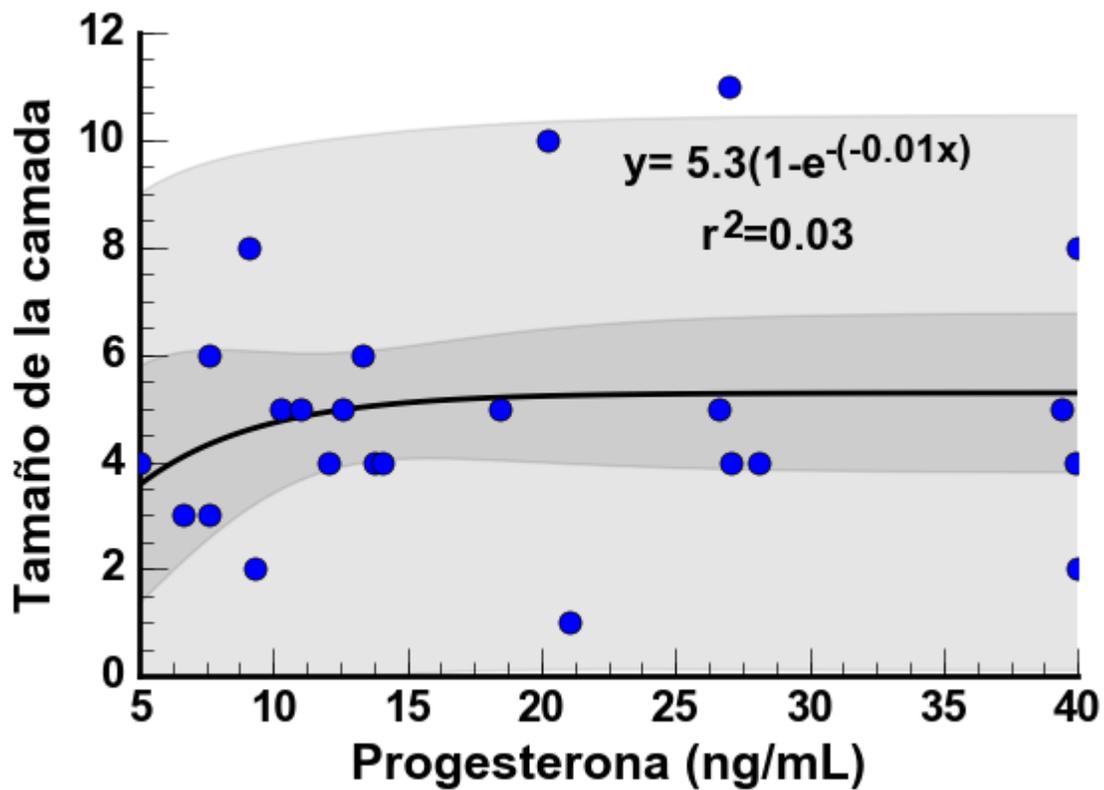
Este procedimiento está diseñado para desarrollar un conjunto de funciones discriminantes el cual puede ayudar a predecir CACHORROS con base en los valores de otras variables cuantitativas. 24 casos fueron utilizados para desarrollar

un modelo que discrimine entre los 2 niveles de CACHORROS. 10 variables predictoras fueron introducidas. Ninguna de las funciones discriminantes tiene valores-P menores que 0.05, de modo que ninguna es estadísticamente significativa con un nivel de confianza del 95.0%. Para graficar las funciones discriminantes, seleccione Funciones Discriminantes de la lista de Opciones Gráficas. Para predecir nuevas observaciones, seleccione Tabla de Clasificación de la lista de Opciones Tabulares.



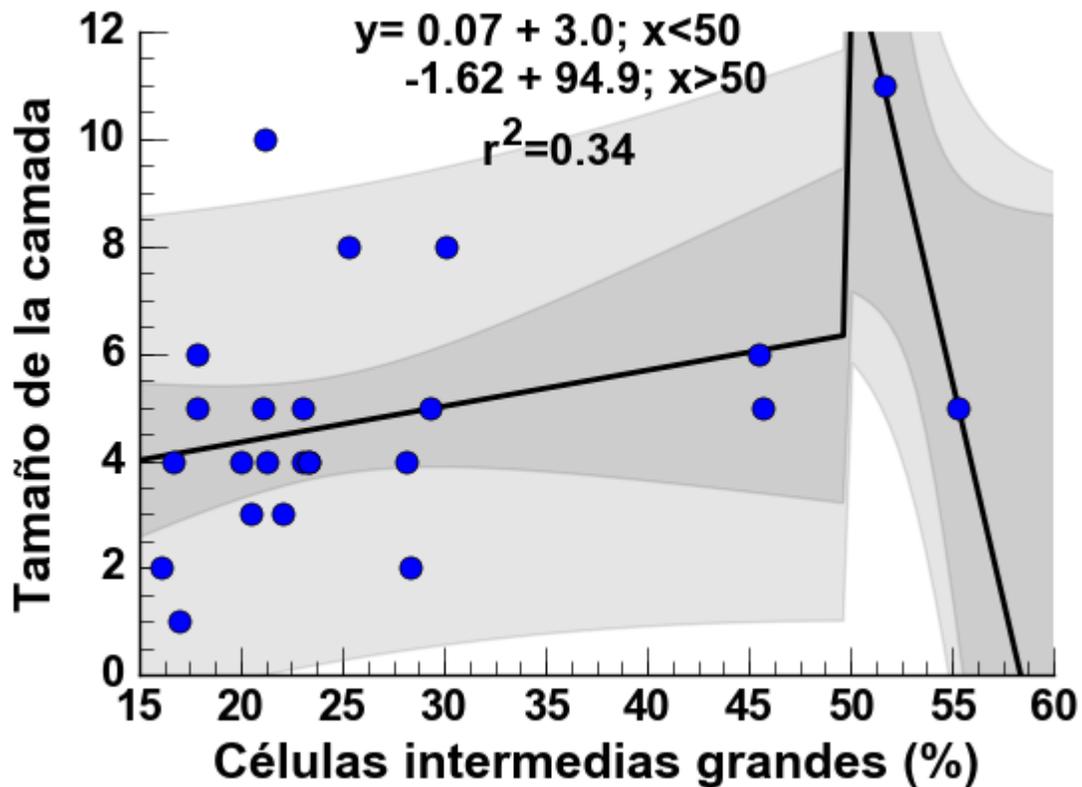






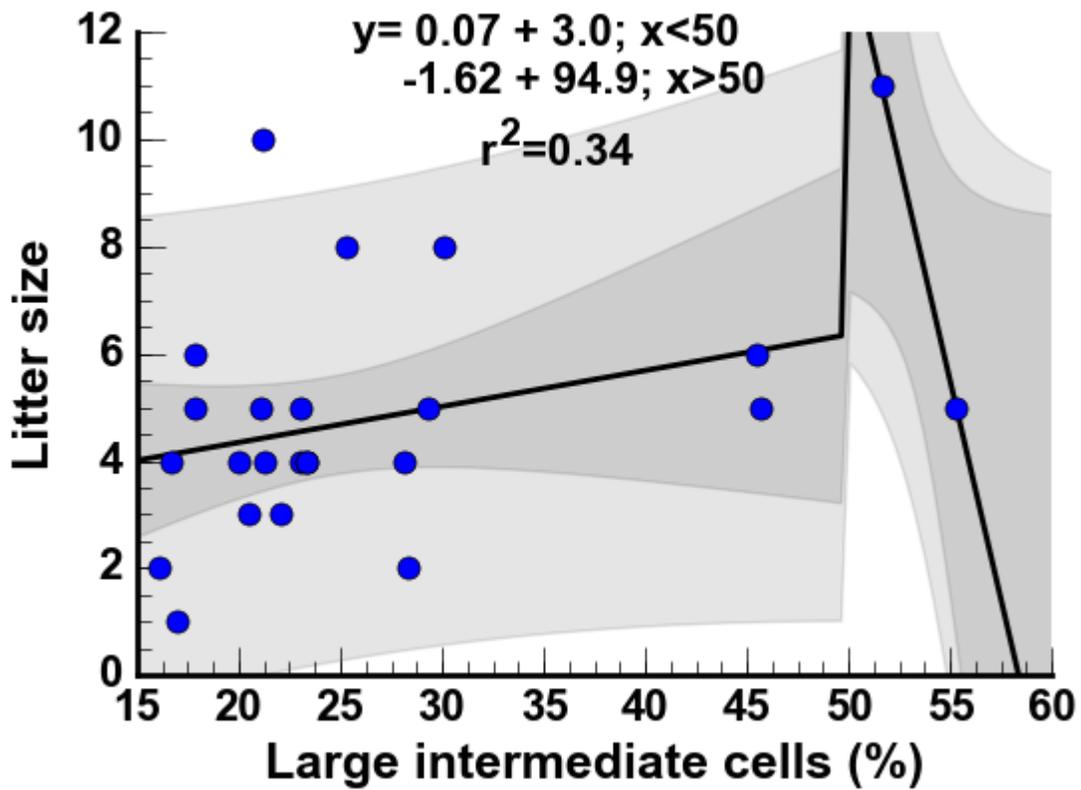
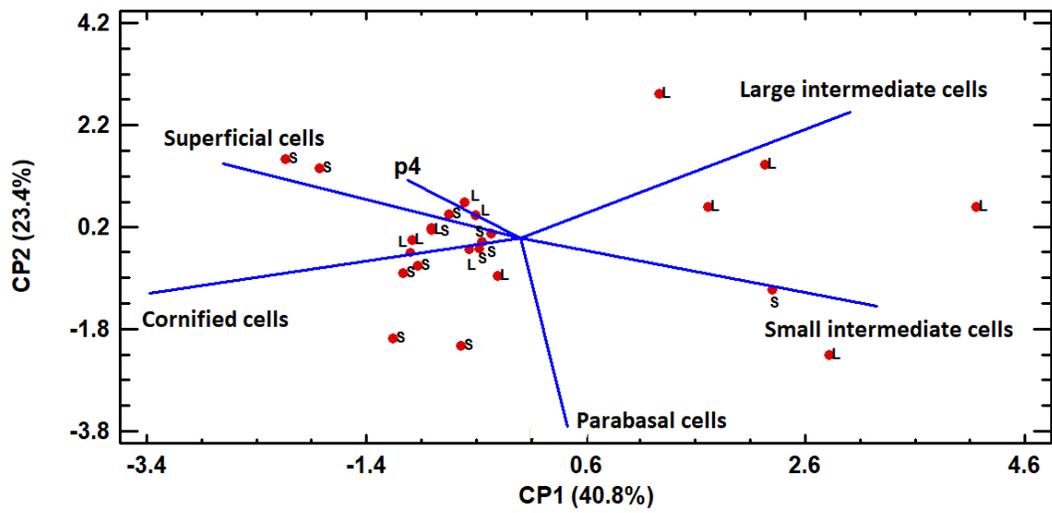
**Ilustración 2** Resultados del análisis de componentes principales del tipo de células epiteliales de las perras en celo. Los dos componentes principales con los valores propios más grandes se muestran como los ejes X, y Y, respectivamente.

Se muestra la carga para cada una de las variables de entrada con respecto a estas 2 dimensiones. Por cada punto: S=camadas de 4 o menos cachorros, y L=camadas de  $\geq$  cachorros (Ilustración 2).



**Ilustración 3 Asociación entre el porcentaje de células intermedias grandes del epitelio vaginal de perras en celo y el tamaño de la camada de las perras.**

Las bandas más claras son intervalos de confianza del 95 % para los valores estimados. Las bandas más oscuras son intervalos de confianza del 95% para valores reales (Ilustración 3).



## VII.- DISCUSIÓN

La duración de la gestación en la perra es respectivamente corta, por lo tanto, es primordial que los fetos estén totalmente maduros antes del parto para que puedan sobrevivir. Para que los dueños o criadores puedan prepararse para los partos normales y poner mayor atención médica en caso de requerir cesárea de emergencia, es importante determinar una fecha probable de parto. En los casos en que hay un solo feto o fetos de tamaño mayor a lo normal, es importante establecer la edad gestacional antes de fijar la fecha de la cesárea (Lopate, 2008).

La apropiada estimación del tiempo gestacional, ayuda a predecir la edad fetal y fecha posible de parto en la perra, esto establece un desafío significativo, tanto para los criadores como para veterinarios, ya que su conocimiento posibilita una mejor atención en los partos, a modo de prevenir o minimizar las pérdidas neonatales; asimismo facilitando la toma de mejores decisiones sobre la planificación de las cesáreas (Luvoni & Beccaglia, 2006; Kim *et al*, 2007; Lenard *et al*, 2007).

El examen de ultrasonido es la técnica comúnmente utilizada para diagnosticar la gestación temprana, para evaluar la viabilidad fetal, así como también para monitorear el desarrollo fetal. No obstante, no es una prueba confiable para determinar el tamaño de la camada. La valoración ultrasonográfica de la edad gestacional se puede adquirir a través de la observación de las estructuras extra fetales y fetales según su cronología o medidas fetales utilizando fórmulas matemáticas. La determinación de la edad gestacional contribuye a la predicción del parto o inclusive a la planificación de la cesárea electiva (Alves *et al*., 2016).

La habilidad para establecer la edad gestacional y pronosticar el día del parto en la perra es considerada de importancia clínica, Se recalca su valor en casos como, de la programación de cesárea o también cuando la perra tiene un historial de distocia (Luvoni & Beccaglia, 2006; Kim *et al*., 2007; Lenard *et al*., 2007; Beccaglia & Luvoni, 2012; Lopate, 2008; Linde-Forsberg, 2010).

Luz (2004). Menciona que, en cuanto al parto de la perra, este cumple una serie de cambios endocrinos, desencadenados por el feto, y que tienen como punto fundamental una disminución en los niveles de progesterona (P4) materna.

La hipoprogesteronemia de la gestación tardía puede ser estimada de forma directa por medio de la medición de progesterona (P4) sanguínea o también puede ser de manera indirecta inspeccionando el descenso de la temperatura rectal. Durante la etapa final de la gestación y en respuesta a los cambios endocrinos, relacionado a un aumento del cortisol fetal, ocurre la luteolisis y consecuentemente la declinación de los niveles de P4 sanguínea materna, con valores de entre 4 y 5 ng/ml inclusive menos de 2 ng/ml 24 horas antes de la fase expulsiva del parto (Luz, 2004; Linde-Forsberg, 2010, como se citó en Sánchez & arias, 2017).

Según el resultado del estudio realizado por Rota *et all.* (2015) valorando la eficacia de una determinación de P4 para establecer el término de la gestación, indican que las concentraciones menores a 3.4 ng/ml permiten localizar a hembras que entraran en labor de parto, dentro de 24 horas.

La P4 es una hormona con acción termogénica, que luego de su caída por debajo de 2 ng/ml provoca una hipotermia transitoria. Dicha hipotermia, puede ser valorado vía rectal o vaginal, ocurre entre 8 a 24 horas antes de la fase expulsiva del parto, En razas miniatura la temperatura alcanza llegar a los 35 °C, en razas de talla media a 36 °C y en razas gigantes puede llegar a 37 °C. (Linde-Forsberg, 2010; Geiser *et all.*, 2014).

Con el paso de los años, los cambios genéticos que se han realizado en la raza Bulldog inglés han ocasionado innumerables problemas de salud que inician a partir de su concepción, desarrollo fetal y parto ya que varios de estos animales requieren de inseminación artificial y cesárea para su reproducción (O'Neill., *et all.*, 2022; Orozco & Gómez, 2003).

El Bulldog Inglés es de raza mediana, pero de cabeza braquiocefálica, por ello se puede observar que presenta el diámetro biparietal (DBP), mayor que el de las razas grandes, lo cual le predispone a la ocurrencia de distocias (Cahua & Quispe, 2016).

Según (Sorribas *et al.*, 2012; Hoskins, 2008; Zöldág *et al.*, 2001) autores citados en Cahua & Cuesta., (2021) Otro motivo de distocia que lleva a la realización de cesáreas es la hidropesía fetal esta es una patología congénita donde los fetos presentan colección(retención) de líquido fetal extravascular en dos o más cavidades o tejidos corporales como anasarca, ascitis, efusión plural y pericárdica. Las razas de perros que presentan con mayor frecuencia esta patología son las razas braquicefálicas como el Bulldog Inglés, Bulldog Francés, Boston Terrier, Mastín Napolitano y Pug, La procedencia de hidropesía fetal en el perro es desconocido, sugiriéndose un factor genético en el Bulldog Inglés.

## VIII.- CONCLUSIÓN

La cesárea electiva en caninos ayuda tanto a médicos veterinarios como a criadores en brindarle a la perra la camada de forma más segura tanto para la perra como para los cachorros, en perras de razas braquicéfalas, como en este caso el Bulldog Inglés, por lo regular paren por cesárea programada, al realizar una correcta cesárea preparto electiva es beneficioso e impide cesáreas de emergencias y por lo tanto evita en muchos casos muertes fetales

Ya que al ser una raza braquicéfala pueden llegar a tener problemas tanto cardiacos como respiratorios al momento del parto que ponen en riesgo no solo la vida de la madre sino también de los cachorros, por ese motivo la forma más segura de entregar la camada a la perra es a través de la realización de la cesárea electiva programada.

Si bien el resultado de esta investigación arroja que los niveles de progesterona al realizar la cesárea fueron superior a los niveles basales 2ng/ml con el equipo icrhoma ii, cabe señalar que para una cesárea exitosa es necesario realizar una ecografía abdominal, y estimar una fecha probable de parto y monitorear la temperatura de las perras para precisar el momento adecuado para realizarla y así no poner en riesgo a los cachorros ni a la madre.

## IX.- LITERATURA CITADA

1. Abelló, Ramírez, P. A, & Aguirre Arce. M. F. 2020. Trastornos reproductivos en hembras caninas. Tesis. Licenciatura. Universidad Cooperativa de Colombia Facultad de medicina veterinaria y zootecnia Bucaramang: 17-18.
2. Alves, L. D. S., Machado, V. M. D. V., & Carreira, J. T. (2016). ESTIMATION OF GESTATIONAL AGE IN BITCHES USING FETAL MEASUREMENTS AND ORGANOGENESIS OBTAINED BY ULTRASONOGRAPHY/ESTIMATIVA DA IDADE GESTACIONAL EM CADELAS UTILIZANDO AS MEDIDAS FETAIS E A ORGANOGENESE OBTIDAS POR ULTRASSONOGRRAFIA/ESTIMACION DE LA EDAD GESTACIONAL EN PERRAS CON EL USO DE LAS MEDIDAS FETALES Y LA ORGANOGENESIS OBTIDAS TRAVES DE ECOGRAFIA. *Veterinaria e Zootecnia*, 23(4), 604+.
3. Anciuti, A. N., Varela Junior, A. S., Ochôa, T. L., Keidann, B., Corrêa, L. G. ., Andrades, J. de L. ., & Corcini, C. D. . (2021). Didactic materials: Mannequin for canine abdominal and vaginal palpation. *Research, Society and Development*, 10(2), e48810212847. <https://doi.org/10.33448/rsd-v10i2.12847>
4. Andersen, K. (1975). *Insemination with frozen dog semen based on a new insemination technique. Reproduction in Domestic Animals*, 10(1), 1–4. doi:10.1111/j.1439-0531.1975.tb00275.x
5. Andrade E. M. B. (2016). Comparación de dos abordajes quirúrgicos, lateral y medial para ovariectomía en perras de uno a siete años de edad en la ciudad de Cuenca. Tesis. Licenciatura. Universidad De Cuenca Facultad De Ciencias Agropecuarias. Cuenca – Ecuador.
6. Andrade S. M. M. (2019). Patologías frecuentes del aparato reproductivo de perras (*Canis lupus familiaris*) intervenidas por OVH. Tesis Licenciatura. Universidad Católica De Santiago De Guayaquil Facultad De Educación Técnica Para El Desarrollo. Guayaquil, Ecuador.

7. Arrieta, M. D., Cruz, A. R., Alvarado, M.M., Sandoval, J., & Valeris R. (2002). Diagnóstico precoz de la gestación y viabilidad fetal en perras a través de la ultrasonografía modo-b en tiempo real. *Revista Científica FCV-LUZ*. 12(5): 367-370.
8. Beccaglia M & Luvoni G. (2012). Prediction of parturition in dogs and cats: accuracy at different gestational ages. *Reprod Dom Anim* 47: 194-196. doi: 10.1111/rda.12006
9. Beccaglia, M., Alonge, S., Trovo', C., & Luvoni, G. C. (2016). Determination of gestational time and prediction of parturition in dogs and cats: an update. *Reproduction in Domestic Animals*, 51, 12–17. doi:10.1111/rda.12782
10. Cahua U., J., & Cuesta T., G. (2021). Diagnóstico ecográfico de hidropesía fetal en una perra mestiza. *Revista De Investigaciones Veterinarias Del Perú*, 32(2). <https://doi.org/10.15381/rivep.v32i2.20041>
11. Cahua U., J., & Quispe M., L. (2016). Diámetro Biparietal en Fetos a Término en Varias Razas de Perros. *Revista De Investigaciones Veterinarias Del Perú*, 27(4), 822–825. <https://doi.org/10.15381/rivep.v27i4.12571>
12. Calderón C. D. (2015). “Evaluación de crío conservación de ovocitos en hembras caninas en el laboratorio de biotecnología de la reproducción de la carrera de medicina veterinaria”. Tesis. Licenciatura. Universidad Técnica De Cotopaxi Unidad Académica De Ciencias Agropecuarias Y Recursos Naturales. Cotopaxi, Ecuador.
13. Concannon P. W. (2011). Reproductive cycles of the domestic bitch. *Animal reproduction science*, 124(3-4), 200–210. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2010.08.028>
14. De Cramer, K. G. M., & Nöthling, J. O. (2020). Towards scheduled preparturient caesarean sections in bitches. *Reproduction in Domestic Animals*. 55(2): 38-48. doi:10.1111/rda.13669

15. Echeverría, J. (2005). Aspectos farmacológicos en el manejo reproductivo de la perra. Revisión Bibliográfica. REDVET. Revista Electrónica de Veterinaria, 6(3):1-21. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id>
16. Farstad W. (2010). Artificial insemination in dogs. In: England G, von Heimendahl A (eds). BSAVA Manual of canine and feline reproduction and neonatology. 2nd ed. Gloucester: British Small Animal Veterinary Association. p 80-88.
17. Feldman EC & Nelson RW. 2001. Endocrinología y Reproducción en perros y gatos. 2a ED. McGraw-Hill interamericana: 876.
18. Flores A., Jonathan, Fernández A., Víctor, Huamán U., Héctor, Ruiz G., Luis, & Santiani A., Alexei. (2010). Refrigeración de semen canino utilizando glucosa, fructosa, trehalosa o sacarosa para prolongar la supervivencia espermática. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 21(1), 26-34. [http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1609-91172010000100004&lng=es&tlng=es](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1609-91172010000100004&lng=es&tlng=es).
19. Fosberg CL. (1991). Achieving canine pregnancy by using frozen or chilled extended semen. *Vet Clin North Am*,. 21: 467-485.
20. García Mitacek, M., Stornelli, M., Tittarelli, C., Núñez Favre, R., Williams, S., Sota, R., & Stornelli, M. (2012). Interrupción de la gestación en la gata doméstica: actualización bibliográfica. *Analecta Veterinaria*, 32(1), 50–56. <https://revistas.unlp.edu.ar/analecta/article/view/11875>
21. Geiser, B., Burfeind, O., Heuwieser, W., & Arlt, S. (2014). Prediction of Parturition in Bitches Utilizing Continuous Vaginal Temperature Measurement. *Reproduction in Domestic Animals*, 49(1), 109–114. doi:10.1111/rda.12236
22. Gematec. <https://www.gematec.com.ar/equipos/ichroma-ii/>
23. Gloria, A., Contri, A., Carluccio, A., & Robbe, D. (2018). Blood periovulatory progesterone quantification using different techniques in the dog. *Animal Reproduction Science*, 192,179–184. doi:10.1016/j.anireprosci.2018.03.006

24. Hori, T., Ichikawa, M., Kawakami, E., & Tsutsui, T. (2003). Artificial Insemination of Frozen Epididymal Sperm in Beagle Dogs. *Journal of Veterinary Medical Science*, 66(1), 37–41. doi:10.1292/jvms.66.37
25. Kim, Y., Travis, A. J., & Meyers-Wallen, V. N. (2007). Parturition prediction and timing of canine pregnancy. *Theriogenology*, 68(8), 1177–1182. doi:10.1016/j.theriogenology.2007.08.018
26. Kontrolab. 2016. i croma-ii- manual de usuario analizador de inmunofluorescencia Documento N°: OPM-IR2-ES. (Rev.01)
27. Labindustrias. 2021. Manual de pruebas icroma:49-50
28. Lenard, Z., Hopper, B., Lester, N., Richardson, J., & Robertson, I. (2007). *Accuracy of prediction of canine litter size and gestational age with ultrasound. Australian Veterinary Journal*, 85(6), 222–225. doi:10.1111/j.1751-0813.2007.00162.x
29. Linde-Forsberg C. (2006). Inseminación artificial. En: Reproducción en caninos y felinos domésticos. Wanke M, Gobello G (eds). Buenos Aires. Inter-Médica. 175-194.
30. Linde-Forsberg C. (2010). Pregnancy diagnosis, normal pregnancy and parturition in the bitch. In: England G, von Heimendahl A (eds). *BSAVA Manual of canine and feline reproduction and neonatology*. 2nd ed. England: BSAVA. p 89-97.
31. Lippi P. (2019). Importancia de la esterilización en el control de enfermedades reproductivas de perras. Tesis Licenciatura. Universidad nacional de rio negro medicina veterinaria. Choele choel.
32. Lopate C. (2008). Estimation of gestational age and assessment of canine fetal maturation using radiology and ultrasonography: a review. *Theriogenology*, 70(3), 397–402. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2008.05.034>

33. Luvoni, G. C., & Beccaglia, M. (2006). The prediction of parturition date in canine pregnancy. *Reproduction in domestic animals = Zuchthygiene*, 41(1), 27–32. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.2006.00641.x>
34. Luz M. (2004). Parto en perras y gatas. En: Gobello C (ed). Temas de reproducción de caninos y felinos por autores latinoamericanos. Argentina: Gráfica Latina. 237-248.
35. Mantziaras, G., & Luvoni, G. C. (2020). Advanced ultrasound techniques in small animal reproduction imaging. *Reproduction in Domestic Animals*. 55(2): 17–25. doi:10.1111/rda.13587 <https://doi.org/10.1111/rda.13587>
36. Kowalewski, M. P. (2014). Luteal regression vs. prepartum luteolysis: Regulatory mechanisms governing canine corpus luteum function. *Reproductive Biology*, 14(2), 89–102. doi:10.1016/j.repbio.2013.11.004
37. Mason, S. J. (2018). Current Review of Artificial Insemination in Dogs. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 48(4), 567–580. doi:10.1016/j.cvsm.2018.02.005
38. Matamoros R. y Salinas P. (2017). Fundamentos de fisiología y endocrinología reproductiva en animales domésticos. Primera edición universidad Santo Tomás-ril editores: 272-273.
39. Morales L. J. L. (2009). Anatomía clínica del perro y del gato. 3ra edición. *Editorial don folio*. Córdoba.
40. Nöthling, J. O., & De Cramer, K. G. M. (2018). Comparing the values of progesterone in the blood of bitches as measured with a chemiluminescence immunoassay and a radioimmunoassay. *Reproduction in Domestic Animals*. 53(5), 1136–1141 doi:10.1111/rda.13216
41. O'Neill D.G., Skipper A., Packer R.M.A., Caitriona L., Dave C.B., David B.C. & Camilla P. (2022). English Bulldogs in the UK: a VetCompass study of their disorder predispositions and protections. *Canine Med Genet*. 9(5). <https://doi.org/10.1186/s40575-022-00118-5>

42. Olivares R., Adaro L. (2000). Algunas consideraciones anatómicas del aparato reproductor de la perra. *Tecno Vet.* 6(3). [https://web.uchile.cl/vignette/tecnovet/CDA/tecnovet\\_articulo/0,1409,SCID%253D11548%2526ISID%253D464,00.html](https://web.uchile.cl/vignette/tecnovet/CDA/tecnovet_articulo/0,1409,SCID%253D11548%2526ISID%253D464,00.html)
43. Orozco S. C. & Gómez L. F. (2003). Manejo médico y quirúrgico del síndrome de las vías aéreas superiores del braquicéfalo. Reporte de un caso. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias.* 16(2):162-170.
44. Ortega, Camacho D.C. (2014). Ovarios poliquísticos y su relación con el desarrollo de piometra en hembras caninas diagnosticadas en la clínica de animales de compañía y clínica de pequeños animales, tesis nivel licenciatura. Facultad de medicina veterinaria y zootecnia universidad cooperativa de Colombia. Bucaramanga.
45. Ortiz, F. E. (2015). Identificación de hembras caninas domésticas en estro mediante la observación de cristalización de la saliva como método diagnóstico complementario comparado con citología vaginal. Tesis nivel licenciatura universidad técnica de ambato facultad de ciencias agropecuarias carrera de medicina veterinaria y zootecnia, 6-8.
46. Parraga Loyola, G. E. (2019) Influencia de la progesterona en el desarrollo de tumores mamarios en perras de la clínica docente de especialidades veterinarias (trabajo de titulación). UTMACH, Unidad Académica de Ciencias Agropecuarias, Machala, Ecuador <http://repositorio.utmachala.edu.ec/handle/48000/15064>.
47. Picardo, Francisco., Farias, Pablo., Fernández H. (2019). Ovarios poliquísticos en hembra canina : Reporte de un caso . *Veterinaria y Zootecnia.* p. 1–26.
48. Piedra P. M. J. (2017). Estudio de comparación de tres técnicas de laboratorio: medición de hormonas en la sangre, citología vaginal y cristalización de saliva en perras y su relación en proestro, estro, diestro y anestro. Tesis. Licenciatura. Facultad de ciencias de la salud. Universidad de las Américas. Quito.

49. Prieto G. B., & Velázquez P. M. (2002). Fisiología de la reproducción: hormona liberadora de gonadotrofinas. *Rev Fac Med UNAM*. 45(6):252-257.
50. Relave, F., Lefebvre, R. C., Beaudoin, S., & Price, C. (2007). Accuracy of a rapid enzyme-linked immunosorbent assay to measure progesterone in mares. *The Canadian veterinary journal = La revue veterinaire canadienne*, 48(8), 823–826.
51. Restrepo Betancur, Giovanni, Gómez Oquendo, Jorge, & Vásquez Araque, Neil. (2011). Criopreservación de semen canino por congelación rápida con glicerol y Dimetilformamida. *Revista Lasallista de Investigación*, 8 (2), 9-17. [http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1794-44492011000200002&lng=en&tlng=es](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1794-44492011000200002&lng=en&tlng=es).
52. Restrepo Betancur, G., Vásquez Araque, N., & Garcia, E. A. (2009). Criopreservación de semen canino y su aplicación en la inseminación artificial. *CES Medicina Veterinaria Y Zootecnia*, 4(2), 119–129. Recuperado a partir de <https://revistas.ces.edu.co/index.php/mvz/article/view/1038>
53. Rippe C. A. (2009). El ciclo estral. Dairy Cattle Reproduction Conference. Minneapolis, USA.
54. Romagnoli S. (2002). Canine artificial insemination with fresh, refrigerated and frozen semen. En: Congreso de Ciencias Veterinarias, SPCV. Oeiras, Portugal. 167-170
55. Root Kustritz M. (2014). Applied small animal andrology. In: Animal andrology: theories and applications. Chenoweth P, Lorton S (eds). CAB International. 177-196
56. Root Kustritz, M. V. (2005). Pregnancy diagnosis and abnormalities of pregnancy in the dog. *Theriogenology*, 64(3), 755–765. doi:10.1016/j.theriogenology.2005.05.024

57. Rossetti C. A., Florencia B. M., Rey M. P., Castaño Z. M.R. y Mellano J. I. (2020). Uso de la ecografía para el diagnóstico de gestación en cabras criollas con servicio estacionado libre. *Rev. Med. Vet.* 101(3): 1-6.
58. Rota, A., Charles, C., Starvaggi Cucuzza, A., & Pregel, P. (2015). Diagnostic Efficacy of a Single Progesterone Determination to Assess Full-Term Pregnancy in the Bitch. *Reproduction in Domestic Animals*, 50(6), 1028–1031. doi:10.1111/rda.12631
59. Rota, A., Milani, C., Cabianca, G., & Martini, M. (2006). Comparison between glycerol and ethylene glycol for dog semen cryopreservation. *Theriogenology*, 65(9), 1848–1858. doi:10.1016/j.theriogenology.2005.10.015
60. Sánchez R, Alfonso, & Bravo V, Cristóbal. (2013). Efecto de la adición de fluido prostático autólogo y heterólogo sobre la calidad espermática del semen canino. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 24(4), 466-472. [http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1609-91172013000400008&lng=es&tlng=es](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1609-91172013000400008&lng=es&tlng=es).
61. Sánchez R., A. (2015). Insuficiencia Luteal en una Perra: Descripción de un Caso. *Revista De Investigaciones Veterinarias Del Perú*, 26(3), 537–542. <https://doi.org/10.15381/rivep.v26i3.11180>
62. Sánchez R. A. (2019). Termorresistencia de espermatozoides caninos en semen fresco diluido. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*. 30(1):495-499. <https://dx.doi.org/10.15381/rivep.v30i1.15686>
63. Sánchez Riquelme, Alfonso & Arias Ruiz, Francisco. (2017). Biología gestacional y predicción del parto en la perra. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 28(4), 771-783. <https://dx.doi.org/10.15381/rivep.v28i4.13865>
64. Simón M. A. (2011). Reproducción y neonatología canina y felina. *Editorial Servet*. Españ: 3-7.
65. Sisson & Grossman, (1982). Anatomía de los animales domésticos. 5ta edición. Editorial Masson S.A.

66. Stornelli M. (2017). Avances en inseminación artificial en caninos. *Revista Spermova*. 7(2):77-84. 10.18548/aspe/0005.14
67. Stornelli M. A. & De la Sota R. L. (2016). Manual de reproducción de animales de producción y de compañía. 1a edición. La Plata. Universidad Nacional de La Plata. Facultad de Ciencias Veterinarias:24- 222.
68. Stornelli M.A., Stornelli M.C., Arauz M.S. & De La Sota L. (2001). Inseminación artificial con semen fresco, refrigerado y congelado. Aplicación y desarrollo en caninos. *Analecta Veterinaria*. Facultad de Ciencias Veterinarias. 21(1):58-66.
69. Stornelli, M. A. & De la Sota R.L. (2006). Fertilidad y supervivencia del semen canino criopreservado. *Analecta Veterinaria*. Facultad de Ciencias Veterinarias. 26(2):29-38. <http://sedici.unlp.edu.ar/handle/10915/11194>
70. Tal, S., Mazaki-Tovi, M., Druker, S., Novak, S., Raz, T., & Aroch, I. (2019). Evaluation of two chemiluminescent assays compared with radioimmunoassay for serum progesterone measurement in bitches. *Theriogenology*. doi:10.1016/j.theriogenology.2019.11.026
71. Tavares Pereira, M., Gram, A., Nowaczyk, R., Boos, A., Hoffmann, B., Janowski, T., & Kowalewski, M. P. (2019). Prostaglandin-mediated effects in early canine corpus luteum: In vivo effects on vascular and immune factors. *Reproductive Biology* 19(1): 100-111. doi:10.1016/j.repbio.2019.02.001
72. Thomassen, R., & Farstad, W. (2009). Artificial insemination in canids: A useful tool in breeding and conservation. *Theriogenology*, 71(1), 190–199. doi:10.1016/j.theriogenology.2008.09.007
73. Van Klaveren, N. J., Kooistra, H. S., Dieleman, S. J., van Lith, H. A., & Schaefers-Okkens, A. C. (2001). Een vergelijking tussen de betrouwbaarheid van drie ELISA-testkits en een 125Jodium-radio-immunoassay [The optimal mating time in the bitch based on the progesterone concentration in peripheral blood. A comparison of reliability between three ELISA test kits and a 125-iodine radioimmunoassay]. *Tijdschrift voor diergeneeskunde*, 126(21), 680–685. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11723806/>

74. Wanke, M. Magdalena.(2006). Reproducción en Caninos y Felinos; Edición Española, ISBN 950555298-X.
75. Wanke, M.M., Romagnoli, S; Verstegen, J; Concannon, P.W. (2002) “ Pharmacological approaches to pregnancy termination in dogs and cats including the use of prostaglandins, dopamine agonists, and dexametasone” *Recent Advances in Small Animal Reproduction* www. IVIS.org 2002; A 1223.0802
76. Wilson, M. S. (2001). *Transcervical Insemination Techniques in the Bitch. Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 31(2), 291–304. doi:10.1016/s0195-5616(01)50206-5
77. Zambelli, D., & Prati, F. (2006). Ultrasonography for pregnancy diagnosis and evaluation in queens. *Theriogenology*, 66(1), 135–144. doi:10.1016/j.theriogenology.2006.04.004
78. Zambelli, D., Castagnetti, C., Belluzzi, S., & Paladini, C. (2004). Correlation between fetal age and ultrasonographic measurements during the second half of pregnancy in domestic cats (*Felis catus*). *Theriogenology*, 62(8), 1430–1437. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2004.02.009>
79. Zuercher J., Boes K. M., Balogh O., Helms A. B. y Cecere J. T. (2021). Comparison of a Point-of-Care Analyzer With a Chemiluminescent Immunoassay for Serum Progesterone Measurement in Breeding Management of the Bitch. *Frontiers in veterinary science*. 8:1-9. <https://doi.org/10.3389/fvets.2021.660923>