

Cómo mejorar la colección, manejo y calidad microbiológica del semen

Oscar Vera Muñoz, Biol, MSc¹; M. Gladys Muñoz, Biol, Dr².

¹*Instituto de Reproducción Animal e Inseminación Artificial, FCV, UCV. Maracay*

²*Dpto. Biología de los Organismos. Universidad Simón Bolívar. Caracas.*

verao@ucv.ve, mmunoz@usb.ve

Las condiciones de trabajo para coleccionar semen de bovino, el estado de salud del animal y la experticia del personal especializado que opera, son factores que deben tomarse en cuenta para mejorar la calidad del semen. Las deficiencias de estos aspectos pueden causar grandes pérdidas económicas para el ganadero y reducir la calidad original del semen, así como también difundir enfermedades que afectan no solamente al semental, sino también a las hembras inseminadas y a su descendencia. De nada sirve que el ganadero realice grandes inversiones en programas de mejoramiento genético y reproductivo, si no se cumplen las medidas preventivas sencillas que se relacionan con los diferentes aspectos que serán tratados en este Capítulo.

Para cumplir con las premisas señaladas, en los Centros de Congelación de Semen e Inseminación Artificial, los reproductores que ingresan por primera vez deben permanecer aislados 60 días de los toros residentes. Se realizan controles durante el período de cuarentena y posteriormente se llevan a cabo controles semestrales para asegurar que los reproductores estén libres de las enfermedades infecciosas especialmente aquellas que puedan ser transmitidas sexualmente, las que se analizarán más adelante en este trabajo.

COLECCIÓN DEL SEMEN

Condiciones del animal. Para incorporar a un semental a los programas de colección de semen debe tomarse en cuenta la edad, raza y peso del reproductor. El peso sigue siendo un buen indicador del estado de salud del animal y cuando no es posible pesarlo en la finca, la estimación de su condición corporal pasa a ser un buen indicador. Para mantener saludable a los animales se les debe proporcionar un ambiente adecuado, en cuanto a temperatura, luz, humedad y espacio suficiente para desplazar-

se, además de una alimentación balanceada y los controles sanitarios debidamente establecidos.

Régimen de colección de semen. Si se cuenta con reproductores de alto valor genético y se desea obtener el mayor número de dosis de semen de alta calidad, a fin de transmitir esas cualidades a un mayor número de descendientes, se dispone de dos recursos para aumentar el número de espermatozoides recogidos por unidad de tiempo, ellos son: la preparación sexual previa a la colección, cuyas ventajas son reconocidas y el aumento de la frecuencia de eyaculación. Estudios en la raza Holstein sugieren una frecuencia de colección de 2 eyaculados, 2 veces por semana para reproductores de 44 meses; nuestra experiencia en Brahman rojo y blanco nos sugiere una frecuencia de 2 eyaculados una vez por semana en reproductores de 48 a 60 meses, recomendando una abstinencia sexual entre 5 y 7 días al iniciar el período de colección. El intervalo de colección de semen es de importancia debido a que una alta frecuencia puede afectar la concentración espermática y la madurez de los espermatozoides; por el contrario una baja frecuencia de colección puede afectar la motilidad espermática y su vitalidad.

Colección de semen por vagina artificial o por electroeyaculación. El método ideal para la colección de semen es con vagina artificial, en especial cuando se dispone de los instrumentos apropiados (brete de monta, vagina artificial, baño de agua a 37°C y personal entrenado). Por lo general, la factibilidad del uso de este método se aplica a los animales más dóciles y por lo tanto fáciles de entrenar. El segundo método es la electroeyaculación, con la cual se obtiene un mayor volumen debido a la estimulación directa sobre las glándulas accesorias. Este método es ideal cuando se necesita evaluar un gran número de reproductores aunque son menos dóciles para habituarse al uso de vagina artificial. El técnico encargado de la colección por electroeyaculación debe reconocer y recuperar sólo la fracción rica en espermatozoides, para que la colección de semen sea semejante a la obtenida con vagina artificial.

Mantenimiento y limpieza de los equipos y accesorios utilizados en la colección. La preparación de las soluciones requiere de una campana de flujo laminar de aire, la cual crea el ambiente libre de contaminación para preparar dichas soluciones (PBS, diluyentes para congelación de semen, etc.), microscopio de contraste de fase, baños de agua para mantener la temperatura de los medios de cultivo y eyaculados al momento de la evaluación (37°C), centrifugas, refrigerador-congelador, balanza analítica, horno seco de esterilización del material de vidrio (2 horas a 125°C) y un autoclave para esterilizar el material utilizado en la colección de semen.

PROCEDIMIENTOS Y RECOMENDACIONES EN LA COLECCIÓN Y MANEJO DEL SEMEN

La extracción del semen debe realizarse bajo condiciones de máxima asepsia, es decir, que todos los equipos necesarios deben estar debidamente lavados y esterilizados para evitar la contaminación. Un cuidado particular debe prestarse al seminal que se prepara para la colección de un eyaculado, de modo que la región ventral del abdomen y los alrededores del prepucio se laven con agua y jabón, seguidamente se enjuaguen con abundante agua y se desinfecten. También debe prepararse el animal maniquí, al que se lava bien y desinfecta especialmente en la región posterior.

Para evitar la contaminación es necesario realizar el lavado prepucial con solución fisiológica antes de la colección del eyaculado. Estas precauciones contribuyen a disminuir la cantidad de microorganismos en el eyaculado, de esa forma, la evaluación será más precisa. Una vez obtenido el semen, la muestra se identifica con los datos del toro (raza y número), fecha y hora de extracción. El tubo colector se cierra con un tapón estéril, para evitar la contaminación durante el traslado al laboratorio o lugar donde va a ser evaluado. La evaluación seminal debe realizarse en un tiempo breve para que sea confiable y no se modifiquen las características del semen como motilidad, vitalidad y pH. Cuando se requiere el estudio microbiológico del semen, se toma 1 ml del eyaculado y se coloca en un termo con hielo para enviarlo de inmediato al laboratorio de microbiología junto con la historia clínica, los resultados de la fertilidad anterior, el diagnóstico clínico y el último espermograma.

MANEJO DEL SEMEN FRESCO

Inseminación con semen refrigerado. Una vez obtenido el eyaculado y luego de haber sido debidamente evaluado, se procede a la dilución y conservación del semen. La dilución pretende el aumento del volumen del eyaculado para aumentar su rendimiento. Las técnicas de conservación proporcionan a los espermatozoides condiciones óptimas para el mantenimiento de la vitalidad y la capacidad fecundante a través del tiempo. El autor ruso Ivanov en 1912 demostró que el semen diluido en soluciones conservadoras y mantenido a 2°C puede ser utilizado para IA por varios días. Por esa razón, el semen de toro se ha diluido con yema de huevo y otros diluyentes que incorporan a la leche como componente principal. Además se le han incorporado soluciones estabilizadoras del pH como TRIS (hidroximetilaminometano) y antibióticos como lincomicina, espectinomicina, tilosina y gentamicina que benefician la calidad de los espermatozoides. De esta forma se puede trasladar el semen desde el lugar de colección, cuidando de mantener el eyaculado diluido a una temperatura de 5°C. En Nueva Zelanda, donde aún se utiliza la inseminación con semen fresco diluido, se utilizan aproximadamente 2,5 a 5 millones de espermatozoides por dosis. De esta forma se pueden inseminar gran número de vacas con el semen de toros seleccionados en sus fincas. El procesamiento diario les permite minimizar los costos de producción.

Congelación del semen. Una vez establecida la calidad del eyaculado, se procede a realizar la dilución, utilizando diluyentes que garanticen: la fuente de energía (nutrición), proteger contra el *shock* térmico, mantener el pH (pH 6,7-7,0), la presión osmótica y controlar la proliferación bacteriana (antibióticos). Durante el proceso de congelación, se incorpora glicerol al diluyente, que es el agente crioprotector. Estudios pioneros durante los años 1960, utilizando una dosis de 1 ml y un mínimo de 5 millones de espermatozoides por dosis, reportaron tasas de no retorno en celo a los 60-90 días de 75% y preñez de 65%. La concentración final de espermatozoides por dosis puede variar según el Centro de inseminación, de acuerdo con la fertilidad del semen de cada toro. En general, se recomienda un mínimo de 10 a 12 millones de espermatozoides móviles por dosis, después de la descongelación, lo que implica calcular entre 40 y 50 millones de espermatozoides móviles por ml, precongelación. Habitualmente se utilizan 30 millones de espermatozoides por dosis de 0,5 ml de semen diluido.

EVALUACIÓN MICROBIOLÓGICA DEL SEMEN

Los agentes de transmisión sexual pueden invadir el tracto genital y alcanzar diferentes niveles. Aquellos microorganismos localizados en las mucosas provocan infecciones de superficie, ubicándose en los órganos genitales y transformándose en sexualmente transmisibles.

Infecciones de superficie. Estas infecciones se localizan en el pene, prepucio y uretra, no se acompañan de sintomatología, y por lo tanto pueden persistir por largo tiempo, lo que representa un riesgo epidemiológico importante para las hembras inseminadas natural o artificialmente. Entre estas infecciones silenciosas tenemos: *Campylobacter fetus*, *Trichomonas fetus*, *Ureaplasma diversum* y *Acholeplasma laidlawii*. La eliminación espontánea es poco usual y la susceptibilidad a la infección aumenta con la edad. Generalmente la calidad del semen no está afectada, pero el fluido prepucial puede infectar a la hembra, en el caso de monta natural o cuando se colecta el semen con vagina artificial, Las infecciones agudas se eliminan rápidamente. Un ejemplo, corresponde a contaminación por el virus Herpes BHV-1 que congestiona las mucosas del pene y prepucio y evoluciona a nódulos, vesículas y pústulas. Esto genera una aversión al coito e impotencia.

Como es norma cuando se adquieren animales y cuando ingresa un reproductor a un Centro de congelación de semen e IA se requiere obligatoriamente aislarlos durante un período de cuarentena. Los controles que se realizan durante ese período tienen por objeto determinar si los sementales están libres de Brucelosis, Tuberculosis, Leptospirosis, Campilobacteriosis genital bovina, Trichomoniasis y otras.

Microorganismos asociados con la transmisión por semen. Como ya se mencionó es importante tomar en cuenta que existen microorganismos patógenos que se encuentran en el semen y pueden transmitir enfermedades a todo el rebaño cuando se utiliza IA. Es de especial interés diagnosticar aquellos que no producen signos clínicos, porque son silentes y pasan desapercibidos, estableciéndose en los órganos genitales. A largo plazo ocasionan procesos inflamatorios infecciosos, difíciles de erradicar. A continuación se señalan los agentes infecciosos que se encuentran en el semen y que deberían ser diagnosticados para mantener la salud reproductiva del rebaño.

Rinotraqueítis infecciosa bovina (BHV-1). Este virus replica en la mucosa del prepucio, pene y parte distal de la uretra. El virus puede estar presente en el semen, sin que el animal manifieste signos clínicos. El diagnóstico de rutina para semen se realiza en cultivos celulares de origen bovino. Es conveniente usar sólo toros seronegativos.

Brucelosis. Las brucelas en toros pueden localizarse en vesículas seminales, ampollas, testículos y epidídimo. Para el diagnóstico se utilizan pruebas de aglutinación, especialmente en reproductores que provienen de áreas de riesgo.

Enfermedad de las mucosas o Diarrea viral bovina. El virus es excretado en el semen en la fase aguda. El mejor método para identificar reproductores persistentemente infectados es el examen virológico.

Leptospirosis. En bovinos produce infertilidad, aborto temprano y tardío. Las serovar hardjo han sido aisladas de vesículas seminales, epidídimo y testículos de animales infectados. La prueba de diagnóstico de *Leptospiras* es la microaglutinación, aunque se están desarrollando pruebas moleculares para su detección e identificación.

Campilobacteriosis genital bovina. El toro es portador asintomático de la enfermedad y no presenta modificaciones en las características del semen. La incidencia en los toros aumenta con la edad. Se localiza en la mucosa prepucial y en la mucosa del glande, pudiendo ser transmitido a la hembra a través del servicio natural o artificial. El diagnóstico de rutina es por inmunofluorescencia directa del esmegma prepucial en la cuarentena. Deben realizarse controles semestrales.

Trichomoniasis. El toro es un portador asintomático de la enfermedad. El parásito puede sobrevivir en semen fresco y congelado. El diagnóstico de rutina se realiza cultivando esmegma prepucial. También en este caso se deben realizar controles semestrales.

Chlamydia psittaci. En toros produce principalmente vesiculitis. Los autores Eaflesome y García han observado excreción de *Chlamydia* en semen de toros con piospermia, asociado con alto porcentaje de espermatozoides con morfología anormal, aunque otros autores han detectado presencia de *Chlamydia* en semen de buena calidad. Actualmente se ofrecen técnicas de diagnóstico inmunoenzimático y PCR para identificación de *Chlamydia psittaci*.

Es indispensable mantener registros actualizados y confiables que contribuyan a tratar a tiempo o prevenir las enfermedades infecciosas. Por otra parte, debe existir una política de evaluación microbiológica que se aplique antes de comenzar la colección de semen y los programas de inseminación y no esperar a que los resultados, en cuanto a calidad seminal y fertilidad sean deficientes para solicitar los diagnósticos microbiológicos del semen y aplicar los correctivos cuando sea demasiado tarde. Se trata de un plan inteligente de costos beneficios, pues de nada sirve economizar en salud y multiplicar los gastos en tratamientos.

LECTURAS RECOMENDADAS

Catena M, Cabodevila J. Evaluación de semen bovino congelado. Simposio Internacional de Reproducción Bovina (UNCPBA), Tandil, Buenos Aires, República Argentina. 1999.

Gordon I. Inseminación artificial como método reproductor. En: Reproducción controlada del ganado vacuno y búfalos. Editorial Acribia., S.A. Zaragoza, España. Capítulo 2: 41-57. 1999.

Pérez y Pérez F. Dilución del esperma. En: Reproducción Animal, Inseminación Artificial y transplante de embriones. Editorial Científico-Médica, Barcelona, España. Capítulo 6: 215-249. 1985.

Romano JE, Goffaux M, Humblot P, Gerard O, Thibier M. Comparaison des effets de trois régimes de récolte du sperme chez des taureaux pie noirs de trois a quatre ans. Élevage & Insemination Mars 224: 3-10. 1988.

Vera O, Bastidas P, Silva O. Variación de la calidad seminal bajo diferentes regímenes de recolección de semen en toros Brahman. XLVIII Convención Anual de ASOVAC, Capítulo Zulia, Universidad Rafael Beloso Chacín (URBE). Noviembre de 1998, Maracaibo, Venezuela. 1998.

Vera O, Bastidas P. Análisis cromosómico y seminal de sementales Brahman de la Estación Experimental La Cumaca. IV Congreso Nacional de Ciencias Veterinarias, Mayo de 1999. Maracaibo, Venezuela. 1999.

Vera Muñoz O. Técnicas de laboratorio para la evaluación del semental bovino. I Seminario Internacional sobre Biotecnología y Patología Reproductiva del Bovino. Noviembre del 2001. IRAIA, FCV, UCV. 2001.

Vera O. Evaluación seminal comparativa pre y postcongelación en machos bovinos. En: Reproducción Bovina. C. González-Stagnaro (ed). Fundación Girarz, Maracaibo-Venezuela. Cap.XV: 249-262. 2001.