



# De la inseminación artificial (I.A.) A la fecundación asistida (F.A.)

TONI ROCA. Conejólogo



## Nos presenta AFIS “Assisted Fertilization Individual System”

Toni Roca junto a los técnicos Manuel Marco y Marta Luna, en la entrada a la unidad de investigación y desarrollo (I+D).

*Hacia tiempo que no les hablaba de inseminación. Desde el número 83 de Lagomorpha en que analizábamos los costes de la cubrición en cunicultura. Pues bien, no les hablaré más de Inseminación Artificial. A partir de este momento denominaré a esta técnica: “Fecundación Asistida”. Y lo haré por dos motivos:*

*Porque en la U.E. se está cuestionando el bienestar de los conejos y la frase: **inseminación artificial** no les gusta nada. (Van der Hage, ponencia Expoaviga'98)*

*Porque la técnica avanza y los “nuevos” sistemas imponen nuevas denominaciones.*

Se acabó pinchar a la coneja con Gonadotropina sérica - PMSG- cuarenta y ocho horas antes de la cubrición.

Se acabó captar semen fresco o refrigerado de un recipiente con una cánula o colocar una “pajuela” en un inyector.

Se acabó estimular la ovulación inyectando 2 ó 3 µg. de Gonadoliberina - GnRH- a las reproductoras inseminadas.

Visitamos IN-RA, SAT para informarnos de cómo está trabajando con el nuevo sistema “AFIS” basado en un proceso evolutivo verdaderamente innovador que se desarrolla en tres generaciones.

Actualmente “AFIS” está presente en el mercado en su prime-



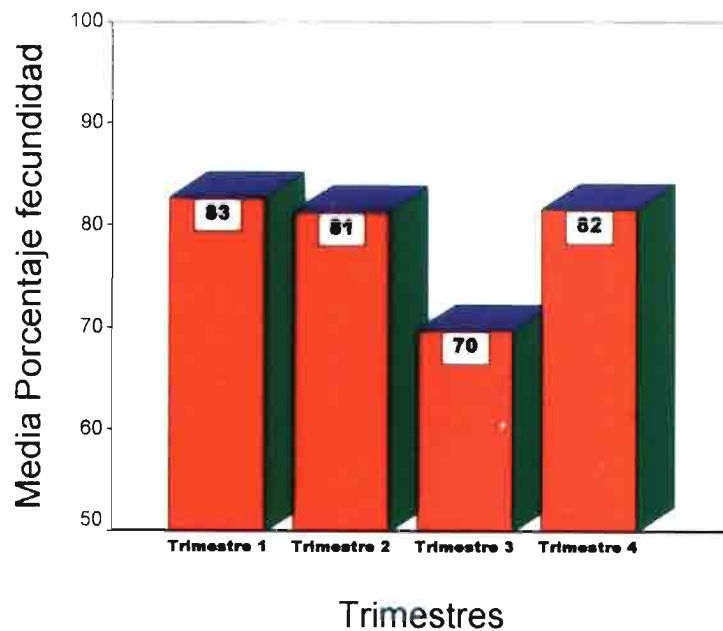
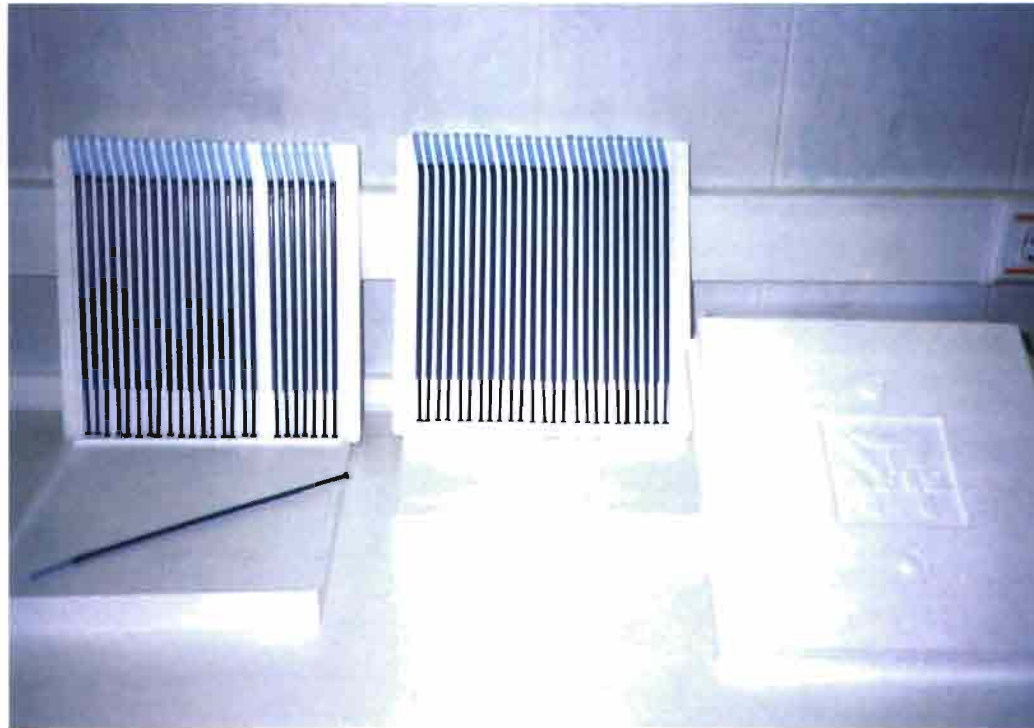
ra generación y consta de un "pack" - envase- con 25 cánulas de plástico desechables, sin aparato externo para aplicar la dosis de 0'5 ml. de semen que contiene o puede contener con una efectividad -viabilidad- garantizada de 48 horas a base de un diluyente semi-líquido - solución coloidal - y gelatinoso.

**SERVICIO**

El cunicultor que adquiere los servicios de IN-RA, SAT recibe, bajo programación según método de trabajo, los "packs" de 25 cánulas listas para inseminar. Se presentan en envases de poliestireno que a su vez están contenidos en unas cajas del mismo material con 24 "packs", o sea, con 600 dosis. Cada dosis contiene unos 15 millones de espermatozoides y se vende a un precio medio de 139 Ptas. - precio que incluye la hormona GnRH -.

Siete equipos externos pueden ofrecer el servicio directo a las granjas de España y Portugal que lo requieran. IN-RA, SAT reparte semanalmente unas 25.000 dosis de las cuales un 75% son aplicadas por su servicio externo y el 25% restante las aplican los propios cunicultores.

De todos es conocida la variabilidad de la fertilidad en las granjas cunicolas a lo largo de un año productivo. Varios son los factores que intervienen en esta oscilación que llega a tener picos del 45% al 98% y que mantiene un resultado medio anual entre el 74% y 76% en las explotaciones que funcionan bien. Este resulta-



El "pack" AFIS.

		Media	Desviación típica	Mínimo	Máximo
Trimestres	Trimestre 1 Porcentaje fecundidad	83	13	3	94
	Trimestre 2 Porcentaje fecundidad	81	4	73	91
	Trimestre 3 Porcentaje fecundidad	70	5	58	80
	Trimestre 4 Porcentaje fecundidad	82	5	68	92

do, suele presentar una moda entorno al 80% tanto en cubriciones por monta natural como en fecundaciones asistidas. En los últimos 15 años se han publicado numerosos trabajos en los que se demuestra la nula existencia de diferencias significativas cuando se comparan resultados productivos entre ambas cubriciones.

El cunicultor industrial sabe perfectamente que cuando opta por la "fecundación asistida" lo

hace por motivos de racionalización del manejo, optimización del trabajo y mejora de la disponibilidad económica. Amén de cuando el método de trabajo lo conduce irremediablemente a ella. Pues bien, aplicando el sistema AFIS nos situamos en la dirección correcta de racionalización, optimización y mejora. Obteniendo unos resultados ni mejores, ni peores en cuanto a reproducción, situamos el costo en menos de 17 Ptas. por Kg. de peso vivo producido.

meses de edad pero también sabemos que a los ocho meses entran en su plenitud espermatogénica. Por otra parte, un macho puede permanecer en granja unos dos años de promedio, pero siempre que se le someta a un estricto control sanitario y de rendimiento.

Sala de machos recién terminada antes de instalar las jaulas y los animales.

Sala de reproductores híbridos.



### CONTROL

IN-RA, SAT cuenta en la actualidad con 15 salas climatizadas entre 16°C y 22°C, con ventilación dinámica por sobrepresión, para los machos con una población total de 2.000 reproductores híbridos procedentes del INRA (Francia) y con una reducida cantidad de machos selectos de raza pura de capa coloreada.

Los híbridos están constituidos en dos grupos bien diferenciados:

Lineas Abuelo - GP- que producen semen para aplicar a las hembras orientadas al abastecimiento de futuras reproductoras - reposición- y

Lineas Padre -P- cuyo semen está para conseguir gazapos destinados al sacrificio - producción-.

Los machos se consideran capacitados a los 7-8 meses de edad y se mantienen unos 8 meses en las unidades. Sabemos que los machos suelen librar semen capacitado a partir de los cinco

**SANITARIO**  
externo: aspecto, exudado, mal de patas, etc.  
interno: analítica, serología, etc.  
**RENDIMIENTO**  
calidad del semen, ardor sexual, et.



Magníficos ejemplares de capa coloreada.

Dos personas forman el equipo interno que realiza extracciones diarias de semen con una cadencia semanal ( 2 saltos por macho obtenidos en un intervalo de 10 minutos) y con la ayuda de un maniquí - inicio- o piel atada al antebrazo - iniciados-.

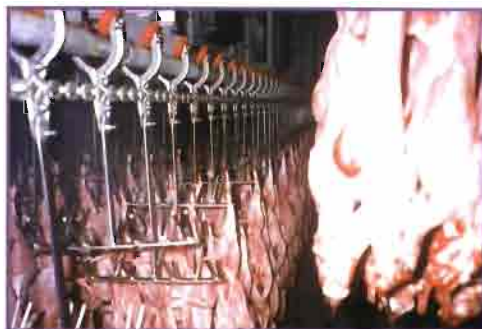
El semen es recogido en tubos de vacío debidamente atemperados e identificados que se



# TÉCNICOS EN MATADEROS, S.A.

## EQUIPOS COMPLETOS PARA MATADEROS DE CONEJOS

- Conjuntos transportadores aéreos de sacrificio eviscerado y oreo.
- Colgadores todos los modelos.
- Cortadoras automáticas de manos y patas.
- Cubetas de desangrado y eviscerado.
- Anestesiadores.
- Recogida neumática de las vísceras.
- Marchamos de identificación sanitaria.
- Lavamanos-lavabotas-desinfectadores, etc.



### TÉCNICOS EN MATADEROS, S.A.

Cornellà Moderno, 28, bajos

Tfno. 93 / 376 11 47

Fax 93 / 376 10 26

08940 CORNELLÀ LLOBREGAT (BARCELONA)

# ¡ESTA ES LA JAULA DE HOY!



EL SISTEMA DE JAULA EXTERIOR CON TAPADERA INCORPORADA ESTÁ PATENTADO.

**EL SISTEMA JAULA ALIAS** tiene unas particularidades que revolucionan la cunicultura actual, dándole un nuevo enfoque:

- No necesita inversión en construcción de naves o cobertizos.
- Su instalación es sencilla y ecológica.

En el **SISTEMA JAULA ALIAS** el conejo está totalmente al aire libre, pero **PROTEGIDO** de las **ALTAS** y **BAJAS** temperaturas y demás inclemencias por su **SISTEMA ÚNICO DE TAPADERAS AISLANTES**, que constituyen un avance tecnológico importantísimo en cunicultura.

Está comprobado que esta doble particularidad da unos resultados **JAMAS** obtenidos hasta ahora con ningún otro tipo de instalación.

Caben destacar los siguientes resultados:

- Los problemas respiratorios e intestinales son inexistentes.
- La mortalidad en el engorde es prácticamente nula.
- La velocidad de crecimiento y la homogeneidad son muy superiores.
- El rendimiento en canal, el color y sabor de la carne son inigualables.
- El único sistema capaz de hacer un conejo de 2,5 Kg. para exportación, en 70 días y sin mortalidad.

**LA JAULA ALIAS**, sencillamente, está pensada, diseñada y creada para la economía, la sanidad y el rendimiento.

**LOS CONEJOS CRIADOS EN ESTE SISTEMA NO PADECEN NINGUNA DE LAS "NUEVAS ENFERMEDADES"**



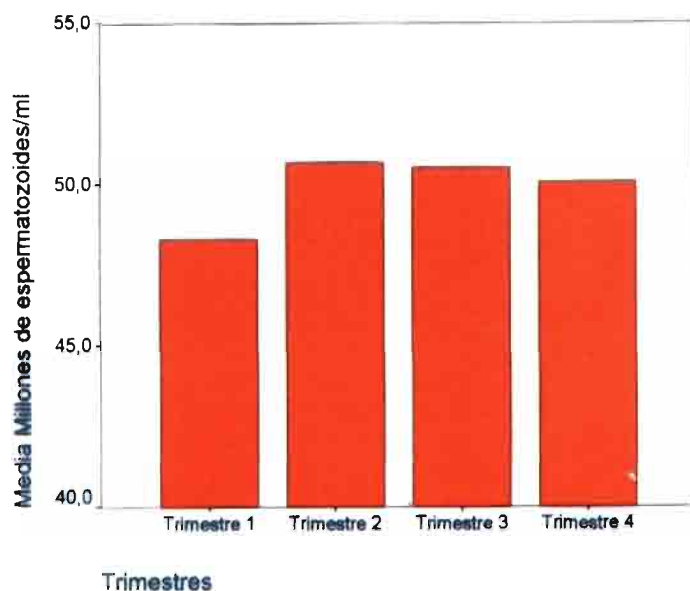
**Técnicas Nuevas en Instalaciones Cunicolas.**

Avda. M<sup>a</sup> Descarrega, 2 Bis. 43740 Mora de Ebro (TARRAGONA)

TEL. Y FAX 977 / 40 17 61 - TEL. MOVIL 908 / 09 30 44

*El único sistema para una Cunicultura Sana y Rentable.*

			Media	Desviación típica	Mínimo	Máximo
Trimestres	Trimestre 1	Porcentaje fecundidad	83	13	3	94
	Trimestre 2	Porcentaje fecundidad	81	4	73	91
	Trimestre 3	Porcentaje fecundidad	70	5	58	80
	Trimestre 4	Porcentaje fecundidad	82	5	68	92



trasladan al laboratorio para situarlos en "baño maria" a unos 30°C.

Una persona realiza el control macroscópico - color, volumen, tapioca, etc.- y microscópico - motilidad, concentración, cuerpos extraños, etc.- del semen.

A través de un criterio "subjetivo" se valora el semen y se determina el que se considerará apto para la aplicación. Normalmente suele ser apto un 75% del total recibido. A continuación se diluye con un diluyente iónico-orgánico con adición de antibiótico y se mezcla formando "pools" -mezclas de varios eyaculados de distintos machos- de unas 500-600 dosis.

Sin abandonar el "baño maria" a 30°C, se analizan los "pools" realizando contajes con la cámara de

Makler para determinar la concentración, a la vez que se estiman la motilidad, anomalías, aglutinaciones y cuerpos extraños.

En esta etapa, más del 95% del semen suele ser apto para la aplicación.

## CONTROLES DE CALIDAD SANITARIA (C.C.S.)

El control de calidad sanitaria se establece en cuatro niveles consecutivos relacionados entre sí y con dos objetivos bien definidos:

- Ofrecer al cliente las máximas garantías posibles de sanidad del producto que consume ( dosis seminales ).
- Blindaje del propio Centro

frente al acceso de determinados procesos patológicos de importancia que pondrían en serio peligro a la población de machos existente, y por el número de dosis confeccionadas acarrearía un grave problema epidémico por su difusión horizontal rápida entre las granjas que se inseminan.

Así pues, conscientes de la responsabilidad que se asume, se han establecido cuatro "barreras" o lugares de actuación sobre determinados puntos críticos más arriesgados :

CCS-1 sobre los machos de nueva adquisición y salas de cuarentena.

CCS-2 sobre los machos en producción.

CCS-3 sobre eyaculados de machos.

CCS-4 sobre dosis seminales ya confeccionadas.

La estructura del propio Centro dificulta en gran medida la entrada y la propagación interna de cualquier proceso infeccioso ya que se cuenta con una zona séptica para el trasiego de los equipos de inseminación y personal externo, posibles vectores de enfermedades procedentes de otras granjas, y una zona aséptica donde se encuentran los laboratorios de producción.

Los machos se encuentran ubicados en salas totalmente independientes

(unas de 100 y otras de 320 plazas) para eventualmente poder colocar en cuarentena alguna de ellas sin que influya sobre el resto. El ambiente es controlado, el aire entra filtrado y un sistema de gradiente de presión

combinado con flujo laminar evita que el aire de los pasillos pueda tener acceso a las salas al abrir puertas.

**CCS-1. SOBRE MACHOS DE NUEVA ADQUISICIÓN Y SALAS DE CUARENTENA.**

Lógicamente los machos nuevos provenientes de fuera constituyen uno de los mayores riesgos sanitarios para el Centro.

Un buen estado sanitario de las granjas de los proveedores es fundamental. Cada vez es más común el adquirirlos con certificado de negatividad frente a determinados procesos (*Encefalitozoon*, *Salmonella*, *Chlamydia*) que, aunque encarece su costo, ahorra tiempo y pruebas de laboratorio posteriores.

La entrada se efectúa siempre en salas de cuarentena, donde los animales permanecerán un mínimo de 30 días, según su edad, intentando que cada sala se llene por un sólo o máximo dos proveedores, y siempre los mismos, minimizando así los intercambios patológicos.

Además de los oportunos exámenes clínicos se aprovecha su estancia para realizar:

- Cuantificación serológica de *Staphylococcus* y *Pasteurella*, principalmente para ser conscientes de sus niveles y controlarlos si es preciso.

- Presencia de *Encefalitozoon* y *Chlamydia* por la técnica de Inmunoperoxidasa. Se suele hacer control aleatorio de *Salmonella* (en caso de que no se haya proporcionado su negatividad).

- Control de coprología. Desparasitación (internos y externos).

- Vacunaciones: en un principio no se vacunaba puesto que los Apos. vacunales daban lecturas erróneas (mixomatosis) en las pruebas serológicas posteriores

para localizar posibles portadores. Actualmente la incorporación de técnicas de biología molecular como el PCR\* permite distinguirlos aun en estados muy incipientes de la enfermedad. Se vacunan los machos frente a Mixomatosis (con heteróloga) y VHD.

 Sala de machos.

 Vista parcial de uno de los laboratorios.



Detalle del semen diluido gelatinoso.

El equipo técnico con el redactor de este reportaje en plena discusión.

(\*) La técnica del PCR ó Reacción en Cadena de la Polimerasa, se vale de esta enzima que replica a gran velocidad el ácido nucleico viral, de modo que concentraciones bajísimas del mismo casi imposibles de detectar, después de someterlas a este tratamiento, se hacen detectables por electroforesis en gel con facilidad.

### CCS-2. SOBRE LOS MACHOS EN PRODUCCIÓN.

Los ejemplares que pasan con éxito el control de cuarentena y que prometen ser lo suficientemente aptos para producción de semen ( ya que se han ido testando según se acercaban a su edad de producción) pasan a las salas de machos. Igual que en el punto anterior, cada sala de machos se llena del mínimo número posible de proveedores de origen y siempre de los mismos. Cada macho va identificado con un código alfanumérico tatuado y en todo momento se le tiene localizado dentro de las plazas del Centro.

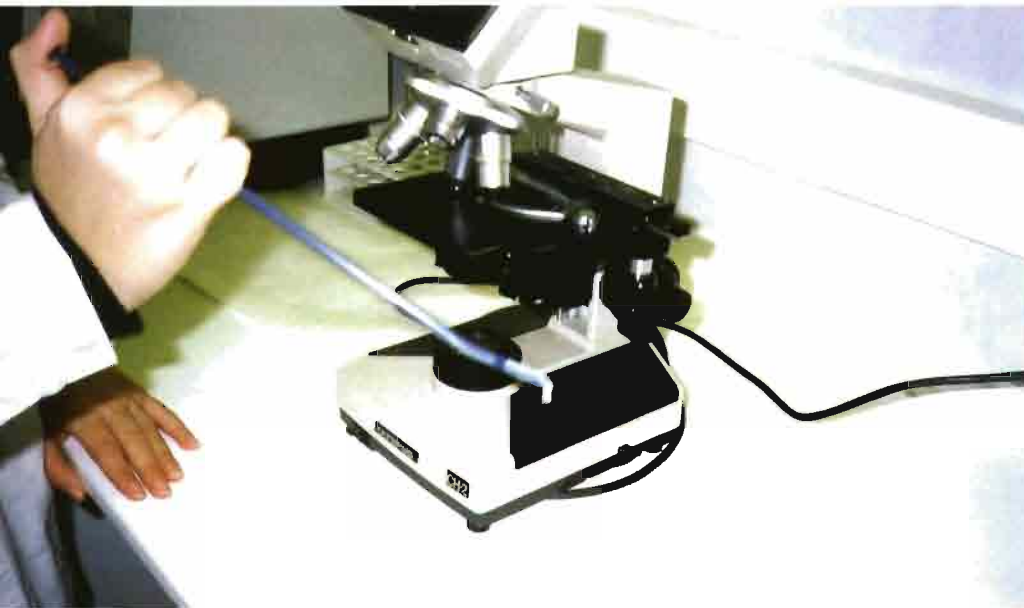
- En cada sala de machos existe un 2% de animales localizados que han sido sometidos a todos los controles de cuarentena pero sin vacunar que sirven de testigo directo para pruebas serológicas de las principales enfermedades víricas. La vacunación de mixomatosis se efectúa cada 4 meses ( heteróloga) y la de VHD se ha realizado ya en cuarentena.

- Estadísticamente, el muestreo mensual de un 2% aleatorio de la población de machos, permite asegurar con más de un 95% de certeza la detección de un proceso de prevalencia no inferior al 5% ( Sitges, 96).

- La presencia de *Chlamydia* y *Encephalitozoon* se puede detectar por ELISA e Inmunoperoxidasa.

- El nivel de Apos. frente a *Pasteurella* y *Staphylococcus* se detecta mediante serología.

- Con respecto a *Salmonella*, un aumento de la titulación de los





INDIVIDUAL SYSTEM

ASSISTED FERTILIZATION

TECNOLOGÍAS DE LA REPRODUCCIÓN

EL ESFUERZO CONJUNTO DE VARIAS EMPRESAS NOS HA PERMITIDO DISPONER EN EUROPA, DE LAS TÉCNICAS DE INSEMINACIÓN ARTIFICIAL MÁS AVANZADAS DEL MUNDO:

- CÁNULAS MONODOSIS
- DILUYENTE SÓLIDO
- SEGURIDAD
- ESTABILIDAD
- INCREMENTO FERTILIDAD
- RAPIDEZ APLICACIÓN
- SANIDAD

*CUATRO MILLONES DE INSEMINACIONES AVALAN NUESTRA EMPRESA.  
UN EQUIPO PROPIO DE BIÓLOGOS Y VETERINARIOS CONTROLAN LA CALIDAD DE NUESTROS PRODUCTOS.  
SEIS EQUIPOS DE PROFESIONALES APLICAN LAS DOSIS O ENSEÑAN A APLICARLAS.  
DOS MIL MACHOS DE ALTO VALOR GENÉTICO.  
SERVICIO INMEDIATO Y GARANTIZADO A TODA ESPAÑA.  
GARANTÍA SANITARIA CERTIFICADA.*



***EL PRIVILEGIO DE ALCANZAR LA MÁXIMA PRODUCTIVIDAD CON EL MÍNIMO ESFUERZO***

**S.A.T. IN-RA**



43529 ROQUETES • Tels. 607 284 508 - 977 267 920

INNOVACIONES RAMADERAS S.A.T.



Apos. circulantes específicos aconseja el sacrificio del animal. Este proceso no se ha detectado hasta la fecha.

### CCS-3. SOBRE LOS EYACULADOS DE LOS MACHOS.

Los rigurosos controles hasta llegar a este punto hacen difícil una contaminación severa del semen y en caso positivo, muestran más una afección endógena del Centro ( y por ello más fácil de controlar) que un proceso exógeno adquirido por la compra de machos afectados o una infección vehiculada desde el exterior. Por ejemplo, la presencia de estafilo en alguna dosis, indica proceder más de un mal de patas adquirido dentro que de que existan machos con septicemia subclínica de origen.

- *Pasteurella* necesita medios enriquecidos con sangre. Tras incubarse durante 24-48 h. aparecen

colonias de tamaño moderado, redondas y grisáceas. *Pasteurella haemolytica* produce b-hemólisis y crece en agar McConkey , mientras que *Pmultocida* se comporta de modo negativo a esas pruebas al igual que *Ppneumotrópica*.

-*Staphylococcus* crece en medios comunes de laboratorio, se puede emplear agar-sangre aunque son mejores los medios selectivos de cultivo como el agar-manitol-salino. Las colonias aparecen a las 24 h., son redondas, lisas y brillantes, pueden presentar pigmentación típica dorada y doble zona de hemólisis.

- El cultivo de *Chlamydia* es más engorroso. Se emplea saco vitelino de embrión de pollo o línea celular. Su identificación en el laboratorio se realiza mediante la utilización de Agnos. fluorescentes, Fijación de Complemento y Aglutinación.

- Con respecto a Coliformes,

a partir de un pase por agar-sangre se cultiva en TSI (Triple Sugar Iron) y se realizan las pruebas bioquímicas confirmatorias correspondientes. Hoy es posible el serotipado de esta bacteria en el caso de detectarse un brote alarmante. Laboratorios externos pueden identificar los serotipos más insidiosos ( K88, K99, O15, O26, O103, O109 y O132).

- Son comunes los crecimientos de bacterias que no revisten importancia epidemiológica como *Proteus*, *Acinetobacter* y *Pseudomona* pero cuyos niveles han de estar controlados.

La comercialización de kits de diagnóstico han dado facilidad y agilidad a muchas de estas pruebas.

### CCS-4. SOBRE LOS POOLS DE DOSIS YA CONFECCIONADOS.

La contaminación por patógenos de importancia es muy difícil llegado ya este punto. Además el diluyente seminal, provisto de antibióticos de amplio espectro, crea un medio completamente hostil para el crecimiento de microorganismos y es letal para las bacterias de mayor importancia epidemiológica ( pastelera, estafilo, clamidia y coli).

La unidad de producción en IN-RA SAT es de 20 pools que, por organización de la cadena, se confeccionan con parámetros comunes de origen y procesado. Es por ello que la unidad de muestreo microbiológico es la misma.

- *Pasteurella* y *Staphylococcus*: se confirma su negatividad por diagnóstico microbiológico.

El Director técnico, Dr. Marco, realizando estadísticas en el ordenador.



- *Chlamydia*: negatividad por Inmunoperoxidasa.

- *Colis*: no se ha demostrado su transmisión vía seminal; la incidencia de la enteropatía mucoide obligó a reparar en estos gérmenes al igual que se intenten ver de vez en cuando *Clostridia spiriformis*, aunque su crecimiento en las dosis seminales es imposible.

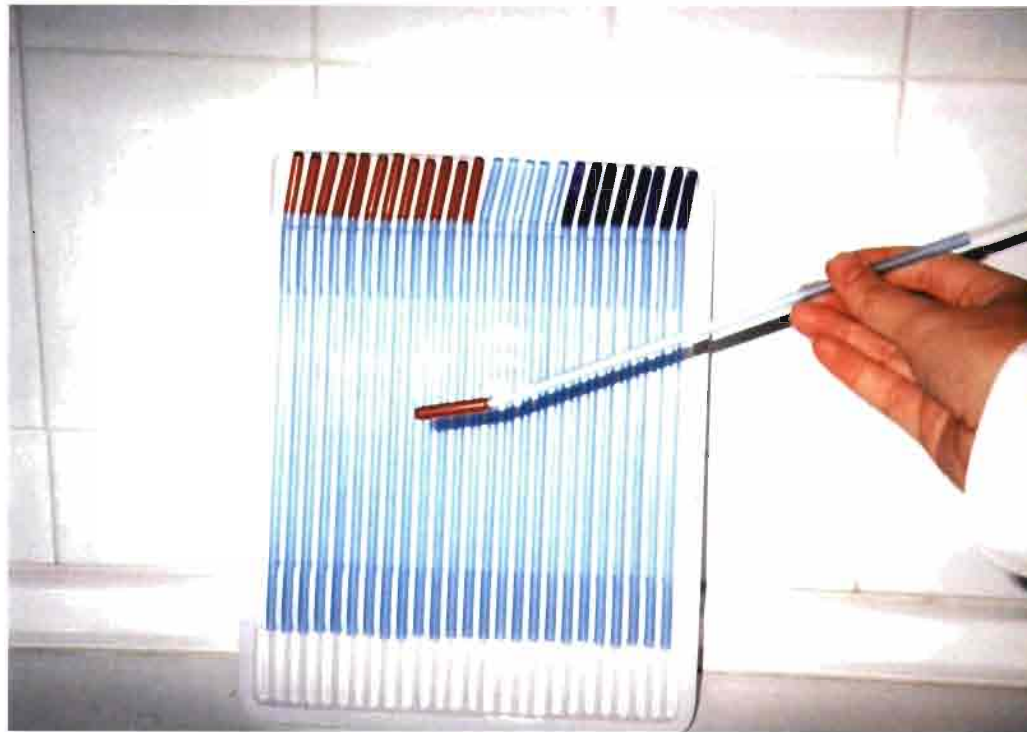
Un método simple y rápido para la detección cualitativa de coliformes consiste en diluir la muestra de dosis en suero estéril y añadir unas gotas de un reactivo que virará a un color rosa evidente en presencia de indol (metabolito de desecho de los Colis). Este método se emplea también para comprobar periódicamente el estado del agua de la red.

Una vez realizados todos estos controles, IN-RA.SAT puede asegurar ( con una seguridad superior al 99%) que las dosis a la salida del Centro están exentas de contaminación frente a *Mixomatosis*, *VHD*, *Pasteurella*, *Staphylococcus*, *Chlamydia* y *Coli* siendo negativos todos los controles realizados hasta 48 h. antes de su salida (demora necesaria para realizar las lecturas de las pruebas).

### SEGURIDAD Y ESTADÍSTICA

Para asegurar la calidad, todavía se realizan más controles una vez se ha atemperado el semen a 23°C - temperatura ambiente en el laboratorio-

Tinción con eosina para determinar las anomalías.



### VENTAJAS SANITARIAS QUE APORTA EL SISTEMA AFIS

- El envasado aséptico en laboratorio evita contaminaciones ambientales ya que las salas se esterilizan mediante desinfección qca., ozono y r.u.v.
- Las cánulas monodosis hacen muy difícil la contaminación por ambiente de granja que sí que existe nada más abrir el pool en el proceso de inseminación tradicional.
- Su dilatada conservación hace que sea posible la toma de muestras de las mismas dosis y da tiempo a su lectura antes de que salgan expedidas.

Las cánulas desechables de un "peach" AFIS.

Control de acrosomas para determinar la fertilidad.

Fichero informático con secuencia en Video de 1 minuto.

Foto control de la cámara de Makler.

Control microbiológico.

Con estos controles se garantiza la calidad del semen que se remitirá a las granjas y se obtiene

una estimable información para realizar estudios estadísticos.

El control estadístico de determinados parámetros sobre miles de inseminaciones ha permitido que IN-RA,SAT evolucione y desarrolle nuevos métodos de trabajo en laboratorio y nuevas tecnologías de aplicación de dosis seminales. Desde hace años, se

realizan estadísticas sobre fertilidad, color de las vulvas, marca de PMSG, horas de inseminación, etc. Recientemente se incorporaron nuevos parámetros a las estadísticas como los efectos de la climatología sobre la calidad seminal, fallos de "pool" - baja fertilidad en determinados envíos, gráficas de temperatura, etc.

UN EJEMPLO. El posible fallo de un "pool" se produce con una frecuencia de cada 25.000 dosis inseminadas considerando 50 dosis de media por "pool" remitido. Esto supone un 0'1%. Este dato se ha conseguido a partir de una estadística con 1.689.400 dosis.

Gracias a la estadística, IN-RA, SAT evoluciona y perfecciona las técnicas de todo el proceso. De esta manera, a los fallos en determinados "pools" se les detectó que bajo determinadas circunstancias se provocaban reacciones acrosómicas y como consecuencia descarga enzimática. Ello provoca que los espermatozoides no tengan poder fecundante. Para mejorar y estabilizar los resultados, IN-RA, SAT ha desarrollado un plan para minimizar cualquier manipulación errónea de las muestras basado en dos líneas de actuación:

Control de la morfometría espermática

Control del medio, osmolaridad, pH, posibles contaminaciones, etc.

### SISTEMA "AFIS"

AFIS se halla en el mercado libre y cualquier Centro o cunicultor que practique la técnica de la fecundación asistida puede adoptarlo sin problemas en su red o granja.

Se trata de un sistema innovador en la fecundación asistida en cunicultura, que mejora la fertilidad, garantiza condiciones sanitarias del semen, alarga la vida fértil del esperma y facilita su manipulación.

En este sistema el esperma se diluye en una solución coloidal de diseño que solidifica formando unas mallas tridimensionales que:

- protegen el esperma frente a las variaciones térmicas y vibraciones mecánicas por manipulación.
- Inmovilizan el esperma, evitando su gasto energético y consiguiendo más longevidad.

• Contienen sustancias que evitan la contaminación de las dosis seminales limitando la transmisión de enfermedades y la acción de microorganismos.

Una vez efectuada la dilución, las dosis seminales deben ser envasadas en las cánulas monodosis, consiguiendo:

- mayor comodidad y rapidez al inseminar
- facilitar la práctica al cunicultor
- controlar el estado de cada cánula.

Para adaptar el sistema AFIS se requiere:

- utillaje y reactivos para el control microbiológico.
- Utillaje y reactivos para el control morfológico.
- Máquina para cargar las cánulas con las dosis seminales. ■

### IN-RA, SAT

Tel. 977 26 79 20

Fax. 607 28 73 34

E-mail: jcid@inrasat.com

