



## REALIZACIÓN DE UN ESPERMIOGRAMA.

Un espermiograma es una valoración macroscópica y microscópica de una dosis seminal.

Para poder realizarlo es necesario:

1. Realizar una extracción de semen.
2. Valoración macroscópica del semen
3. Valoración microscópica del semen:
  - a. Cálculo de la concentración
  - b. Cálculo de las principales morfoanomalias.

A continuación se detallan las diferentes fases, utilizando como modelo de trabajo el macho del conejo.

### 1. EXTRACCIÓN DE DOSIS SEMINALES DE CONEJO.

#### *Material de recogida de semen.*

La recogida de semen de conejo se realiza habitualmente con una vagina artificial. La vagina artificial es un receptáculo que trata de proporcionar al órgano copulador los estímulos térmicos, mecánicos y de elasticidad necesarios para la eyaculación.

Los modelos de vagina artificial constan básicamente de cuerpo semirígido, revestimiento interno o camisa y colector del eyaculado.

El cuerpo es un cilindro de material rígido o semirígido, en una de sus aberturas laterales se sitúa un tubo colector, mientras que en la otra permite la introducción del pene del conejo y la eyaculación. Normalmente este cilindro dispone de un orificio que permite la introducción de agua caliente.

La camisa es otro cilindro de látex o goma elástica, más largo que el cuerpo, de forma que, una vez introducida en él, se puedan revertir los bordes.

De este modo se forma una cavidad estanca entre el cuerpo y la camisa destinada a contener agua caliente que proporcionará la temperatura adecuada.

El colector es un tubo graduado que se acopla a la vagina en su extremos más estrecho. En este tubo colector se recogerá el esperma.



### **Recogida de semen.**

La extracción del semen se realiza en la jaula del macho. Para que el macho salte y eyacule se utiliza una piel de coneja colocada sobre el brazo del operador, o simplemente una coneja.

Después de unos segundos de reconocimiento de ambos, se coge a la hembra por la piel del dorso con la mano izquierda, esperando a que el macho la monte. Cuando éste salta sobre la hembra, se coloca la vagina artificial debajo de ella o entre ambos, y sin necesidad de tocar el pene se orienta la vagina artificial hasta conseguir que el macho lo introduzca en ella.

El macho realiza la eyaculación de la misma forma que en la monta natural, empujando hacia delante y posteriormente cayendo de costado o de espaldas. A continuación se coloca la vagina artificial en posición vertical para que el semen escurra al tubo colector.

Una vez realizada la recogida se saca el tubo colector con cuidado, evitando especialmente el contacto directo del agua contenida en la vagina con el semen, por sus efectos espermicidas.

## **2. VALORACIÓN MACROSCÓPICA DEL SEMEN**

Una vez recogida la dosis de semen es necesario comprobar si contiene una fracción gelatinosa denominada gel o tapioca y que es necesario retirar.

Se observa el color de la muestra de semen que debe ser blanco nacarado. El semen será desechado si presenta otras coloraciones:

- Amarillento: indica restos de orina
- Marrón: indica restos de heces
- Rojizo: indica restos de sangre

Y por último se estima el volumen de semen que se ha obtenido, en el caso del conejo se pueden obtener entre 0.2 a 2 ml.



### 3. VALORACIÓN MICROSCÓPICA DEL SEMEN

#### CÁLCULO DE LA CONCENTRACIÓN DE UNA MUESTRA DE SEMEN DE CONEJO.

Para realizar este contaje, se utiliza un porta-objetos especial, denominado Cámara Thoma ó Neubauer. Este porta-objetos tiene grabada una rejilla, mediante la cual se facilita el contaje de espermatozoides en el microscopio.

**Características de la cámara de contaje:**  
**400 celdillas pequeñas con  $S=0.0025 \text{ mm}^2$  / celdilla**  
**Superficie Total =  $ST = 1 \text{ mm}^2$**   
**Altura con cubre-objetos =  $0.1 \text{ mm}$**   
**Volumen Total de la cámara  $VT = 0.1 \text{ mm}^3$**

#### Metodología:

- 1.- La muestra contiene una dilución 1/10 de semen diluido y glutaraldehído al 2%.
- 2.- Mediante una pipeta Pasteur se llena la Cámara Thoma, previamente cubierta con un cubre-objetos, teniendo cuidado de que la muestra se distribuya de forma homogénea y sin burbujas, y se sitúa en un microscopio óptico. Se coloca el objetivo de menor aumento (10x) y se enfoca. Para enfocar bien el microscopio hay que mover muy lentamente el macrómetro, con cuidado y paciencia, no hay que desplazar mucho el macrómetro del lugar de enfoque del objetivo previo. Repetir la operación con el objetivo de aumento óptimo (40x) para la visión de la cámara y la muestra.
- 3.- Una vez enfocado es necesario contar los espermatozoides que se encuentran en el interior de las celdillas grabadas en la Cámara Thoma. Se cuentan los 20 cuadros de cada una de las diagonales, luego, en total se realiza el contaje de 40 celdas.

Cada celdilla tiene una superficie de  $0.0025 \text{ mm}^2$  y tenemos en total 400 celdillas ( $1 \text{ mm}^2$ ). Una vez situado el cubre-objetos y llena la cámara con muestra tendremos una altura / profundidad de  $0.1 \text{ mm}$ . Por lo tanto el volumen total de la cámara será  $0.1 \text{ mm}^3$ .

#### Fórmula empleada:

$$\text{Número de espermatozoides/ml} = N \times D \times F$$

Siendo:



*N*: número de espermatozoides contados en las 40 celdillas.

*D*: inverso de la dilución empleada. En nuestro caso la dilución empleada era de 1/10.

*F*: Factor de la cámara; el volumen de una celdilla es de  $0.00025 \text{ mm}^3$ , luego el volumen total es de  $0.01 \text{ mm}^3$  en las 40 celdillas, que equivalen a 100.000 ml.

*Nº de espermatozoides /ml* =  $N \times 10 \times 100.000$

**PRODUCCIÓN TOTAL** = Nº espermatozoides / ml x Volumen de semen y diluyente.

**Nº HEMBRAS A INSEMINAR** = Producción Total / Espermatozoides por hembra.

ESPERMATOZOIDEOS POR HEMBRA = 6 – 20 MILLONES

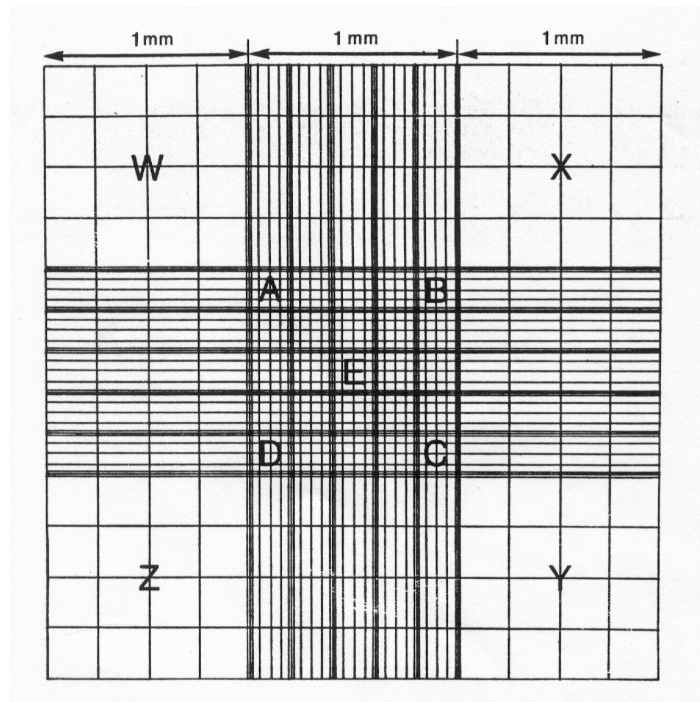
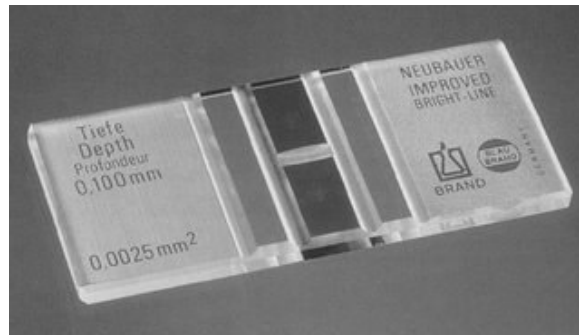
El volumen de semen más diluyente por hembra es de 0.5 ml.

INSEMINO CON 6 MILLONES DE ESPERMATOZOIDEOS SÍ:

80 % NAR
10% GOTA
10% ANORMALES
80% DE MOTILIDAD



**RECuento DE LOS ESPERMATOZOIDES EN LA CÁMARA DE NEUBAUER.  
(LLENADO DE LA CÁMARA CON LA MUESTRA DE SEMEN DILUIDA):**





## CARACTERÍSTICAS MICROSCÓPICAS DE UNA MUESTRA DE SEMEN DE CONEJO.

Para determinar las características microscópicas de los espermatozoides se fija la muestra en una solución de glutaraldehído (0,2%) y se visualizan en un microscopio con contraste de fases.

Las observaciones a realizar son las siguientes:

Clasificar y contar los espermatozoides anormales:

- *Cabeza (A)*: aquellos que presentan anomalías en la cabeza, como macrocéfalos, microcéfalos.
- *Cola (B)*: aquellos que presentan alguna anomalía en la cola, como cola enrollada, partida, sin cola, retorcida.

Aquellos espermatozoides no clasificados como anormales se siguen clasificando según su acrosoma:

- *Normales de acrosoma (C)*: Distinguimos un borde apical nítido que se corresponde con el acrosoma.
- *Anormales de acrosoma (D)*: Se distingue alguna alteración en el borde apical de la cabeza del espermatozoide.

Algunos espermatozoides de los clasificados como normales pueden tener gota citoplasmática.

- *Gota (E)*: aquellos espermatozoides que poseen gota citoplasmática. Todos estos espermatozoides están incluidos en los clasificados según su acrosoma.

Es aconsejable que el número total de espermatozoides contados, es decir, A + B + C + D, sea cercano a 100.

Los parámetros se calculan de la siguiente manera:

- Porcentaje de espermatozoides con acrosoma normal: **NAR (%)**

$$\text{NAR} = 100 \times C / (C + D)$$

- Porcentaje de espermatozoides con gota citoplasmática: **GOTA (%)**



$$\text{GOTA} = 100 \times E / (C + D)$$

- Porcentaje de espermatozoides anormales de cabeza: **CAB (%)**

$$\text{CAB} = 100 \times A / (A + B + C + D)$$

- Porcentaje de espermatozoides anormales de cola: **COLA (%)**

$$\text{COLA} = 100 \times B / (A + B + C + D)$$



## **PRÁCTICA DE FUNDAMNETOS Y TECNOLOGÍA DE LA PRODUCCIÓN ANIMAL: ESPERMIOGRAMA**

<b>APELLIDOS Y NOMBRE</b>

### **DATOS:**

**IDENTIFICACIÓN DE LA MUESTRA:  
VOLUMEN DE SEMEN RECOGIDO:  
DILUCIÓN: 1/2**

### **CÁLCULOS:**

<b>CONCENTRACIÓN:</b>	<b>spz / ml.</b>
<b>PRODUCCIÓN TOTAL:</b>	<b>spz</b>
<b>GOTA:</b>	<b>%</b>
<b>ANORMALES:</b>	<b>%</b>
<b>CABEZA:</b>	<b>%</b>
<b>COLA:</b>	<b>%</b>

**¿CUÁNTAS CONEJAS PUEDO INSEMINAR?**

**¿QUÉ VOLUMEN DE DILUYENTE TENGO QUE AÑADIR?**