

TECNOLOGIAS AVANZADAS PARA EL ANALISIS DE SEMEN PORCINO: COMPARACION DE UN SISTEMA ASISTIDO POR COMPUTADORA CON LOS SISTEMAS TRADICIONALES.

^{1,2} Rocha Ch G*, Rozeboom KJ³, De Grau F³, ¹Tellez GBH, ¹Becerril A J, y ¹Rodriguez A M
¹Minitube de México, ²Cusur, Universidad de Guadalajara. ³ Minitube of America

Introducción. Todos los eyaculados que se utilizan para la producción de dosis de semen son evaluados para determinar el volumen, la concentración, la motilidad y la morfología. La determinación de la concentración espermática permite establecer el número de dosis que han de prepararse de un eyaculado en particular. Los métodos más usados para evaluar la concentración de semen son el espectrofotómetro y las cámaras hemacitométricas (Burker o Neubauer). El primero tiene la virtud de ser bastante rápido pero puede ser muy impreciso si no se cumplen ciertos requisitos. El segundo es muy exacto y es utilizado como método base para calibrar otros sistemas, pero consume bastante tiempo (hasta 15 minutos por muestra). En la actualidad existe un nuevo método basado en la utilización de la computadora y algunos elementos ópticos (microscopio, cámara de video) que mediante un analizador de imágenes (software) permiten la evaluación precisa y rápida de las muestras de semen. Este nuevo método llamado C.A.S.A. (computer assisted semen análisis) no solo determina la concentración sino que puede también determinar la motilidad, morfología y el volumen. El objetivo del presente estudio es comparar dos métodos en cuanto a su capacidad y precisión para determinar la concentración de una muestra de semen

Material y métodos. Un total de 46 eyaculados fueron recolectados con la técnica de mano enguantada y llevados al laboratorio para el análisis de concentración. Las muestras fueron evaluadas macroscópicamente y clasificadas según su color en tres categorías: blanco claro (transparente), blanco lechoso y blanco cremoso. Posteriormente se preparó una muestra de cada uno de los eyaculados para determinar su concentración por uno de los siguientes métodos (1) Método de espectrofotometría, (2) Método C.A.S.A. y (3) método del hemocitómetro (Control). La espectrofotometría se llevo a cabo con un Spermacue (Minitube, Verona, WI) de la siguiente manera. Se depositaron 20 µl de semen completo en un microcuvette capilar especial. Después de ponerlo en la ranura especial, la muestra fue leída por el aparato, emitiendo una lectura directa en células por ml (la lectura de absorbancia es directamente computada por el aparato utilizando una fórmula especial integrada a sus componentes electrónicos). El análisis asistido por computadora (CASA) se llevó a cabo mediante el sistema Spermvision (Minitube, Verona, WI): en una cámara de conteo desechable, se colocan 2 µl de semen diluido 1:20 y se colocan en el microscopio especial del sistema. Una cámara de video digital capta 30 cuadros de la muestra con los espermatozoides durante un segundo y un software analizador de movimiento identifica y clasifica cada una de las células. El proceso se repite en 7 campos

microscópicos diferentes y el mismo programa emite una media de los parámetros observados. La concentración es expresada en número de células por ml. Para las muestras control se utilizó una cámara de Neubauer para la cual se empleó semen diluido 1:100 y un contador manual. La muestra fue analizada en el microscopio. El resultado del conteo fue computado con la fórmula matemática que compensa por dilución, volumen de la cámara y conversión a ml.

Resultados. En el cuadro 1 pueden observarse los resultados de concentración de los dos métodos empleados en los diferentes tipos de eyaculados y comparados con el control. Nótese que se emplearon pocas muestras (9) de eyaculados blanco claros o cremosos, ya que existen pocos de esos eyaculados de forma natural.

Cuadro 1. Concentración de muestras de semen utilizando un espectrofotómetro o un sistema CASA comparados contra el control (cámara Neubauer)

TIPO DE SEMEN	CONCENTRACION (millones de espermatozoides por ml)			N
	Fotómetro	Sperm vision	Control	
Blanco claro	427	360	343	9
Blanco lechoso	553	534	520	28
Blanco cremoso	807	615	625	9

Discusión. En el caso de eyaculados blanco lechosos (los más comunes) los tres métodos presentan una lectura similar. Para el caso de eyaculados claros o cremosos, el sistema Spermvision permanece bastante cerca del control con diferencias máximas de 17 mientras que el fotómetro se aleja un poco de las lecturas del control.

Conclusiones. La utilización del sistema CASA permite una lectura muy exacta de la concentración a una velocidad semejante a la del fotómetro pero sin riesgos de sobreestimar o subestimar la concentración espermática.

Referencias

Payne, BA; Clark, S (2005) Accuracy of methods used to determine sperm concentration in extended porcine semen doses. Proceedings of the AASV Annual Meeting, Toronto Canada
Wilson ME, Rozeboom KJ, Day, BC, Terlouw S., Willenburg K. (2004) Field comparisons of reproductive performance on the effects before and after implementation of Sperm Vision™ Proceedings of the AASV Annual Meeting Des Moines Iowa
Knox, R., S. Rodriguez-Zas, S. Roth, K. Ruggiero. 2002. Use and accuracy of instruments to estimate sperm concentration: pros, cons & economics. Reproductive Pharmacology and Technology. Proceedings of the 33rd AASV pp 23-38.