

Transferencia embrionaria no quirúrgica: implantes simples y dobles

Bonnevaux,* J.; Bottaro,* R.; Cuenca,* L.; Menéndez,* O. y Alegre,** A.

RESUMEN

Se efectuaron 2 superovulaciones en 2 donantes bovinos de la raza Polled Hereford. Los embriones colectados fueron transferidos por la vía no quirúrgica a 15 receptoras cruza. Dos de ellas recibieron un embrión en cada cuerno.

De 17 embriones implantados se obtuvieron 7 terneros nacidos, dos de una receptora que había sido doblemente implantada.

El resultado obtenido de 42% de parición sobre embrión transferido y de 3,5 ternero/vaca superovulada fue considerado satisfactorio. Sin embargo, las posibilidades de mejorar el método son sometidas a discusión.

SUMMARY

Two cows of the Polled Hereford breed were superovulated. The embryos collected were transferred by a non surgical way to 15 cross-bred recipients. Two of them received one embryo in each uterine horn.

Seven calves from 17 embryos transferred were obtained; two of them from one recipient which was implanted with 2 embryos.

The parturition rate of 42% was considered satisfactory. However some factors for improving the technique were submitted to a discussion.

INTRODUCCION

La transferencia de embriones bovinos ha sido descrita extensamente y sus resultados fueron recopilados desde hace varios años en la literatura nacional y extranjera. (1) (2) (3) (4) (5).

Todos ellos hacen referencia a las técnicas convencionales de lavado o barrido uterino por vía no quirúrgica y el implante mediante laparatomía o similar. (1) (2) (3) (4) (5).

A los efectos de abolir el stress provocado por el acto quirúrgico sobre las receptoras y acelerar el procedimiento de transferencia, nuestro equipo decidió ensayar en las condiciones de campo del país, un método que contiene mínimas variantes a los descritos con anterioridad por autores extranjeros.

MATERIALES Y METODOS

El trabajo se realizó en el establecimiento Larrañaga, Fraile Muerto, Dpto de Cerro Largo.

Por aptitudes genéticas y funcionalidad reproductiva, se seleccionaron dos donantes, vacas adultas de raza Polled Hereford.

Como receptoras se dispuso de vaquillonas vírgenes cruza Hereford x Normando y Aberdeen Angus x Holando.

Para el tratamiento superovulatorio se utilizó hormona Folículo Estimulante (FSHP)+ durante 4 días, en dosis decrecientes hasta completar 28 miligramos por donante.

Al tercer día de comenzado el tratamiento se inyectó análogo sintético de PG F₂ ++ a donantes y receptoras, a la dosis de 2 ml l/m a cada una.

La inseminación artificial se llevó a cabo en ambas donantes a las 12 y 24 horas luego de mostrar celo. Se utilizó una sola dosis por vez de semen congelado importado.

Para la colecta de los embriones se utilizó un catéter **Rüh de tres vías y jeringas descartables de 50 ml.**

El medio de lavado empleado fue el Dulbecco (DPBS) con el agregado de 2% de suero de novillo inactivado.

Aproximadamente se perfundieron 500 ml de medio

por cuerno uterino recogiéndose en probetas estériles de la misma capacidad. Luego de un período de 30 minutos se retiró el sobrenadante, observándose el decantado bajo lupa estereoscópica (40 X) en caja de Petri.

Una vez ubicado el embrión a transferir, se acopló un tubo sonda flexible a una pajuela Cassou de 0,25 ml y se procedió a aspirarlo.

Durante esta operación se debe tomar la precaución de intercalar dos burbujas de aire de modo que queden tres fracciones de líquido en la pajuela, siendo la del medio la que contenga el embrión.

Para el sistema de implantación se utilizó el mismo equipo que para inseminación:

- una pistola Cassou,
- vainas plásticas descartables,
- pajuelas de 0,25 ml.

Tanto las vainas plásticas que recubren el sistema como las pajuelas fueron esterilizadas envueltas en nylon común con gas óxido de etileno.

Todos los embriones aislados y clasificados como transferibles fueron aspirados individualmente en las pajuelas y envueltos en toallas de papel descartable hasta su transferencia.

Los ovarios de las receptoras fueron palpados para ubicar el cuerpo lúteo y así transferir el embrión al cuerno ipsilateral.

Previo a la transferencia la higiene de dichos animales consistió en un prolijo lavado de la región perineal con agua y jabón e inmediatamente antes de la introducción del instrumento implantador se desinfectaron vulva y alrededores con alcohol.

Para evitar manipulaciones forzosas se administró por vía epidural 4 a 6 ml de Novocaína al 4% por receptora.

Con fines estadísticos futuros las implantaciones fueron clasificadas de acuerdo al sitio de la misma en:

- bajas: cuando la descarga debió hacerse apenas penetrado el cuerno,
- medias: cuando se realizó 5 o 6 cm. más adelante y
- altas: cuando prácticamente se impelía el embrión en

* Ejercicio Liberal

** Idóneo. Dpto. Reproducción Animal CIVET "Miguel C. Rubino" cc: 6577, Mvdeo.

+ Lab. SCHERING - USA

++ ONO 1056 "Glandinex", Lab. EMAR

el punto de inflexión cornual.

El procedimiento seguido fue muy similar al acto de la inseminación artificial. Se tomó el cérvix por vía rectal y se introdujo la pistola Cassou cargada, apartando los labios de la vulva. El atravesar el cérvix se torna delicado y dificultoso, al estar las receptoras en metaestro y el conducto parcialmente ocluido.

Una vez superada dicha barrera se introdujo la pistola suavemente, cuidando de no lesionar el endometrio; lo más adelante posible en el cuerno ipsilateral y allí se depositó la carga de la pajueta. Del mismo modo se retiró la pistola, cuidando de no traumatizar el tejido uterino.

Las manipulaciones fueron consideradas "con" o "sin dificultad" y se registró el tiempo de implantación.

RESULTADOS

-1er. donante: El lavado fue efectuado 7 días y 1/2 después de la última inseminación. Se colectaron 13 embriones de los cuales 9 fueron considerados transferibles.

Los embriones transferidos fueron: - 2 blastocistos tempranos,

- 6 blastocistos expandidos.

- 1 blastocisto eclosionado.

Por falta de suficiente número de receptores, estos 9 embriones se transfirieron a 7 receptoras; 2 de las cuales recibieron un blastocito en cada cuerno.

A la palpación rectal resultaron tres receptoras preñadas y al parto 4 terneros, producto de la implantación de 2 blastocistos expandidos un blastocisto temprano y un blastocisto eclosionado respectivamente.

-2do. donante: El lavado se realizó 6 días 1/2 luego de la última inseminación. Se colectaron 15 embriones de los cuales 8 fueron considerados transferibles.

De este donante se transfirieron 8 embriones: - 6 mórulas compactas

- 2 blastocistos tempranos.

La misma fue realizada en forma individual a 8 receptoras, resultando 3 preñadas a la palpación recta: dos preñeces provenientes de mórulas transferidas y una de un blastocisto temprano.

DISCUSION

En total fueron transferidos 17 embriones por la vía cervicocervical resultando en el nacimiento de 7 terneros; dos de ellos provenientes de una receptora que fue implantada con un embrión en cada cuerno.

Esto significa un resultado de 42% de parición sobre embrión transferido y 3,5 terneros nacidos por vaca sometida a tratamiento superovulatorio.

Los autores mencionan porcentajes de preñez cercanos al 50% por lo tanto se consideraron satisfactorios los resultados obtenidos. (5) (6) y (7).

No obstante ello en la realización del trabajo se cometieron errores que son ennumerados a continuación y que se evidenciaron más en el caso de la segunda donante.

- La transferencia en la 2da. donante se realizó el día 6 y 1/2, estando bien establecido que recién luego del día 7 disminuye el peligro de expulsión por el útero de la receptora.

Es por ello que los mejores resultados se obtienen transfiriendo blastocistos, o sea con lavados de las donan-

tes entre el 7º y 9º día (7).

- Por un error de organización, en el caso de las 8 receptoras finales, (2da. donante) no se contó con vainas estériles, ni con protectores de índole alguna, efectuándose la introducción del instrumental libremente en la vagina.

La presencia de endometritis leves por acarreo de microorganismos ha sido mencionada como causal de retornos de ciclo irregular largo o sea entre 25 y 30 días post-estro. (5) (6) (7).

- En un par de implantaciones se obvió la anestesia epidural. Se ha atribuido a la liberación endógena de PG F₂ y otras sustancias un retorno precoz al celo, entre 15 y 17 días. Esto se debería a los traumatismos originados por la manipulación trans-rectal, que se minimizarían en el caso de administrar un anestésico local por vía epidural. (5) (7)

- Como se implantaron dos embriones en la misma receptora, posiblemente debió utilizarse una sola pajueta cargada con ambos, colocados en niveles diferentes. Ello disminuiría el traumatizar el cervix pues de la otra forma se trabajó en dos oportunidades.

La evaluación por sitio de implantación, tiempo y tipo de embrión será realizada a posteriori, al contar con más implantaciones realizadas.

CONCLUSIONES

Se ensayó una técnica utilizada por otros autores, simplificada y adaptada a nuestras condiciones de campo, con resultados satisfactorios.

Algunos aspectos negativos mencionados en la discusión se pueden corregir fácilmente, creando condiciones biológicas favorables para aumentar el número de embriones viables que puedan culminar en preñeces.

Agradecimiento

Dr. Marcelo del Campo. Universidad de Madison, Wisconsin, por fundamentos técnicos y consulta permanente.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- 1) Betteridge, K.J. - Embryo Transfer in cattle. Monograph N° 16, Canadá 1977.
- 2) Bonnevaux, J. - Transferencia de embriones en bovinos. Rev. Encuentro Veterinario N° 1, 1981 - Uruguay.
- 3) Caorsi, C.; Algorta, M. Transferencias embrionarias bovinas III Congreso Nacional de Veterinaria, Montevideo 1982.
- 4) Cuenca, L.; Martínez M. - Transferencia de embriones. 1as. Jornadas de Fisiopatología de la Reproducción e Inseminación Artificial, Atlántida, Uruguay 1980.
- 5) Donaldson, edited by Embryo Transfer in cattle, Rio Vista International San Antonio, Texas 1982.
- 6) Del Campo, H. Editor Curso de post-grado "Relaciones materno fetales y nuevas tecnologías en la transferencia de embriones" Universidad Austral de Chile, Valdivia 1984.
- 7) Wright, J.W. Non surgical embryo transfer in cattle. Embryo-recipients interactions. Journal of Theriogenology Vol. 15 N° 1, 1981.

Aceptado para la publicación 18/04/89.