

PIC® 2017

MANUAL DE MANEJO PARA CENTROS DE SEMENTALES DE PIC



BIENVENIDO A LA EDICIÓN 2017 DEL MANUAL DE MANEJO PARA CENTROS DE SEMENTALES DE PIC



Nos complace presentar la edición 2017 del Manual de Manejo para Centros de Sementales de PIC. Este manual, que reemplaza la edición anterior, entrega recomendaciones para el personal que trabaja en los centros de sementales e incluye los últimos conocimientos y tecnologías disponibles.

El objetivo de este manual es compartir recomendaciones prácticas de manera fácil de entender; y lo hemos dividido en cuatro secciones, cada sección contiene información sobre las expectativas o metas, buenas prácticas de manejo e instrucciones detalladas de importantes pasos de trabajo.

En comparación con la edición 2014, este manual contiene mayor información sobre aseguramiento y control de calidad. Creemos que el control y aseguramiento de la calidad en los centros de sementales es esencial, ya que la calidad de la dosis para inseminación artificial impacta significativamente el desempeño de todo el sistema de producción.

Este manual pretende ser válido para todos los centros de sementales del mundo y se han excluido las regulaciones y prácticas específicas de países. La intención es entregar información útil independiente de su ubicación geográfica, tamaño de operación, instalaciones o equipamiento técnico. Sabemos que existen diferentes maneras de lograr los mismos resultados, por lo que este manual no descarta otras estrategias de manejo. Por favor, siempre cumpla con las buenas prácticas, estándares de salud y bienestar animal como lo indica el gobierno local del país de operación del cliente.

Esperamos que este manual le sea útil para lograr un mayor mejoramiento en el desempeño de sus operaciones de centro de sementales. Si tiene preguntas, por favor póngase en contacto con nosotros.

GLOSARIO DE TÉRMINOS & ACRÓNIMOS.....	1
SECCIÓN 1: MANEJO DE LOS EDIFICIOS Y SEMENTALES PARA UN MEJOR DESEMPEÑO	1-1
REVISIÓN DEL DESEMPEÑO DEL SEMENTAL.....	1-1
BIOSEGURIDAD.....	1-2
RECOMENDACIONES GENERALES DE MANEJO.....	1-2
CONDICIÓN CORPORAL.....	1-5
ENTRENAMIENTO EXITOSO DEL SEMENTAL.....	1-6
RECOLECCIÓN DE SEMEN.....	1-7
MANEJO DE SEMENTALES CON MALA CALIDAD DE SEMEN.....	1-8
HIGIENE.....	1-8
RESOLUCIÓN DE PROBLEMAS.....	1-9
SECCIÓN 2: GESTIÓN DE LA CALIDAD DEL LABORATORIO	2-1
EXPECTATIVAS.....	2-1
MONTAJE DEL LABORATORIO.....	2-2
HIGIENE DEL LABORATORIO.....	2-3
EVALUACIÓN DEL SEMEN.....	2-4
PROCESO DE DILUCIÓN DEL SEMEN.....	2-12
ENVASADO DEL SEMEN.....	2-12
ENFRIAMIENTO DEL SEMEN.....	2-13
EMPAQUE Y ENVÍO DEL SEMEN.....	2-13
ALMACENAMIENTO DEL SEMEN EN LA GRANJA.....	2-14
SECCIÓN 3: ASEGURAMIENTO DE LA CALIDAD Y CONTROL DE CALIDAD.....	3-1
DEFINICIONES.....	3-1
MANTENIMIENTO Y CALIBRACIÓN DE LOS EQUIPOS E INSTRUMENTOS.....	3-1
CALIDAD DEL AGUA.....	3-8
LIMPIEZA Y DESINFECCIÓN.....	3-11
CONTROL Y ASEGURAMIENTO INTERNO DE LA CALIDAD.....	3-14
CONTROL DE CALIDAD EXTERNO.....	3-16
HACCP.....	3-17
SECCIÓN 4: CONSIDERACIONES GENÉTICAS	4-1
POR QUÉ ES IMPORTANTE EL POTENCIAL GENÉTICO DEL REBAÑO.....	4-1
MANEJO DEL POTENCIAL GENÉTICO DEL REBAÑO.....	4-2
VIDA ÓPTIMA DEL SEMENTAL.....	4-3
HERRAMIENTAS ADICIONALES.....	4-3
APÉNDICE.....	A-1
ESPECIFICACIONES DEL AGUA PARA CERDOS.....	A-1
NIVEL DE ALIMENTO EN FUNCIÓN AL PESO CORPORAL.....	B-1
USO DE REFRACTOMETRÍA PARA EL CONTROL DE LA CALIDAD DEL DILUYENTE DE SEMEN.....	C-1
EJEMPLO PARA EMPAQUE DEL SEMEN.....	D-1

»»»» GLOSARIO DE TÉRMINOS & ACRÓNIMOS

SECCIÓN 1

Nivel de Intervención

Valor real del desempeño que debería desencadenar acciones definidas para romper la tendencia y mejorar el desempeño.

PRRS

PRRS son las siglas en Inglés para Síndrome Respiratorio y Reproductivo Porcino. Es una enfermedad que se puede propagar a través del semen y causa fallas reproductivas en las cerdas, además de otros síntomas.

ppm

ppm significa partes por millón. Es la concentración de un soluto en un líquido o gas expresado como unidad de soluto disuelto en un millón de unidades de solución.

cfm

Siglas en Inglés para pies cúbicos por minuto. Es una expresión del volumen de aire que se mueve a través de un sistema de ventilación u otro espacio.

fpm

Siglas en Inglés para pies por minuto. Es una expresión de la velocidad del movimiento del aire a través de un sistema de ventilación u otro espacio.

Micrón (micrómetro)

Unidad de longitud equivalente a la millonésima parte de un metro. Su símbolo es μm .

Mcal/EM

Mcal/EM significa Megacalorías/ Energía Metabolizable. Es una medida del valor energético (de la comida).

PCR

PCR son las siglas en Inglés para Reacción en Cadena de la Polimerasa. Es un método de prueba que permite el diagnóstico rápido y altamente preciso de enfermedades infecciosas.

IA

Significa Inseminación Artificial.

Líbido

La libido se refiere al deseo sexual. En el caso de los sementales para IA significa la disposición para montar un potro/ maniquí para la recolección de semen.

Corral de pre-calentamiento

El corral de pre-calentamiento es un corral en donde se transfiere al semental antes de entrar al corral de recolección. Al estar ambos contiguos, el semental en el corral de pre-calentamiento se estimulará sexualmente lo que hará que monte más rápido al potro una vez que pase al corral de recolección.

Prepucio

El prepucio es la piel que rodea y protege la cabeza del pene, también se conoce como vaina peneana.

Frenillo persistente

El frenillo persistente es un tejido fino entre la punta y el cuerpo del pene. Normalmente se forma antes del nacimiento.

CA

Significa Cérvix (cuello del útero) Artificial. En los sistemas de recolección automática fija el pene y aplica presión para la estimulación.

Fluido prepucial

El fluido prepucial es un fluido contaminado por bacterias que se acumula en el prepucio y que contiene orina y otras secreciones.

Epidídimo

El epidídimo es un órgano alargado en la parte posterior del testículo cuya función es almacenar el esperma mientras madura.

Vida útil

En el contexto de IA, vida útil se refiere al plazo para usar la dosis para inseminar.

Estéril

Estéril significa libre de bacterias u otros microorganismos vivos.

Contaminación (microbiológica)

Contaminación se refiere a la introducción no intencional o accidental de material infeccioso como bacterias o sus toxinas y subproductos.

Desinfección

La desinfección se refiere al acto de desinfectar, usando técnicas de limpieza especializadas que destruyen o previenen el crecimiento de organismos patógenos.

SECCIÓN 2

Motilidad (del esperma)

Motilidad es la capacidad general del esperma para moverse, expresado generalmente como un % del total de esperma.

Motilidad progresiva (del esperma)

La motilidad progresiva es la capacidad del esperma para moverse en dirección de avance, expresado normalmente como % del total de esperma.

Defectos primarios del esperma

Son defectos del esperma originados por disfunción en la espermatogénesis (producción de esperma), tales como deformaciones de cabeza.

Defectos secundarios del esperma

Son defectos que se producen durante su paso por el epidídimo, tales como gota citoplasmática.

CASA

CASA son las siglas en Inglés para Análisis Espermático Asistido por Computador. Es un sistema que utiliza un programa y equipo informático especial para calcular de manera automática diferentes parámetros del semen, como motilidad espermática y morfología.

Espectrofotómetro

Es un instrumento que mide la intensidad de luz y puede medir la concentración del eyaculado mediante la medición de la intensidad de luz antes y después de pasar una muestra de semen.

NaCl

NaCl significa Cloruro de Sodio.

Andrología

La andrología es la especialidad médica que se encarga de la salud masculina, particularmente de los problemas relacionados al sistema reproductivo masculino.

Exactitud

Exactitud de medición es la diferencia entre la medida de un factor y el valor aceptado para ese factor desde una fuente externa confiable, o el porcentaje en que difieren los dos valores.

Acrosoma

El acrosoma es un organelo que cubre la cabeza del espermatozoide animal y contiene enzimas que digieren la cubierta celular del óvulo permitiendo su penetración.

Formaldehído

El formaldehído es un químico que se puede usar para conservar los espermatozoides para su evaluación.

Inmersión en aceite (microscopía)

En microscopía óptica, la inmersión en aceite es una técnica que se utiliza para aumentar el poder de resolución de un microscopio. Esto se logra sumergiendo los lentes del objetivo y el cubreobjetos en un aceite transparente de alto índice refractivo, lo que aumenta la apertura numérica de los lentes del objetivo.

TDS

TDS siglas en Inglés para Total de Sólidos Disueltos y es una medida del contenido combinado de todas las sustancias inorgánicas y orgánicas contenidas en un líquido.

Isotérmico

Isotérmico quiere decir que algo sucede a la misma temperatura. En el caso de la conservación del semen significa mezclar una muestra de semen con diluyente a la misma temperatura.

SECCIÓN 3

Calibración

Calibración es la comparación entre los valores de medición entregados por un instrumento bajo control y uno de calibración estándar de exactitud conocida.

Aseguramiento de la Calidad – QA

QA es una manera de evitar errores o defectos en los productos manufacturados y se enfoca en garantizar el cumplimiento de las especificaciones de calidad.

Control de Calidad – QC

QC es un procedimiento o un conjunto de procedimientos cuyo objetivo es controlar que un producto manufacturado se adhiera a un conjunto definido de criterios de calidad.

Precisión

Precisión es la medida en que un conjunto de mediciones de la misma muestra concuerda con su media.

Sensibilidad

Sensibilidad es la cantidad mínima de cambio que puede ser detectada mediante una medición.

Exactitud

La exactitud de medición se refiere a la diferencia entre la medida de un factor y el valor aceptado para ese factor desde una fuente externa, o el porcentaje en el que difieren dos valores.

Tolerancia

Tolerancia se refiere al error total permitido dentro de una medición.

Hemocitómetro

Hemocitómetro es un instrumento que se usa para el conteo manual de los espermatozoides y células sanguíneas, y consiste en una cámara para conteo de profundidad uniforme que se cubre con un cubreobjetos para que la región bajo cada zona cuadrículada contenga un volumen conocido de la muestra diluida.

Citometría de flujo

La citometría de flujo es una tecnología basada en un láser -o resistencia- y se usa para el recuento o clasificación de células mediante la suspensión de células en un flujo de líquido que pasa a través de un aparato de detección electrónico. El citómetro de flujo permite el análisis simultáneo de varios parámetros de las características físicas y químicas de hasta miles de partículas por segundo.

Biofilm

Biofilm (biopelícula) es una capa fina, generalmente resistente, de microorganismos (como bacterias) que se forma sobre y cubre varias superficies, como tuberías de agua.

Esterilización UV

La esterilización UV es el proceso de esterilización de un material mediante la exposición a la luz ultravioleta.

Ósmosis Inversa -OI

La ósmosis inversa es una tecnología de purificación del agua que utiliza una membrana semipermeable para eliminar del agua los iones, moléculas y partículas de mayor tamaño.

Bacterias coliformes

Las bacterias coliformes son un tipo de bacterias comúnmente usadas como indicador de la calidad sanitaria del agua o alimento. Los coliformes fecales son bacterias que generalmente se originan en el intestino de los animales de sangre caliente.

EPA

EPA son las siglas en Inglés para Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos.

Nivel de Confianza

Nivel de confianza es una medida de la confiabilidad de un resultado. Un nivel de confianza del 95 por ciento o 0.95 significa que la probabilidad de que el resultado sea confiable es de al menos 95 por ciento.

Nivel de desviación

El nivel de desviación es una medida que se usa para cuantificar la cantidad de variación o dispersión de un conjunto de datos.

HACCP

HACCP siglas en Inglés para Análisis de Peligros y Puntos Críticos de Control. Es un sistema de monitoreo originado en la industria alimenticia para identificar y controlar los peligros sanitarios. Apunta a la prevención de la contaminación, en lugar de una evaluación del producto final.

UFC

Significa Unidad Formadora de Colonias. Es una medida que refleja la contaminación bacteriana y generalmente se expresa por ml o cm².

SECCIÓN 4

Semental Terminal

Semental terminal se refiere a un verraco que se usa para producir una generación de cerdos comerciales, o para matadero, para la producción de carne.

Semental abuelo (GP)

Un semental abuelo es un verraco que se usa para producir hijas que serán utilizadas como madres.

Semental bisabuelo (GGP)

Un semental bisabuelo es un verraco usado para producir progenie de línea pura.

Camborough®

Camborough es una madre PIC producto de la cruce entre PIC L02 (Landrace) y PIC L03 (Large White).

OBL

OBL son las siglas en Inglés para Vida Óptima del Semental. Es una herramienta usada por Servicio Técnico de PIC para recomendaciones de eliminación en el centro de sementales.

MANEJO DE LOS EDIFICIOS Y SEMENTALES PARA UN MEJOR DESEMPEÑO



Esta sección comienza con las características y las metas de una excelente operación del centro de sementales. Además, describe las prácticas para ayudar a alcanzar esas metas incluyendo recomendaciones generales de manejo, consideraciones de bioseguridad y consejos de cómo entrenar y recolectar/colectar a los sementales.

REVISIÓN DEL DESEMPEÑO DEL SEMENTAL

El buen desempeño del semental para IA es el resultado del buen manejo del semental el cual incluye cuarentena y entrenamiento adecuado, altos estándares de nutrición y excelentes prácticas de higiene y recolección de semen. Tabla 1.1 define las metas para un excelente programa de manejo del centro de sementales.

TABLA 1.1: METAS DEL PROGRAMA DE MANEJO DEL CENTRO DE SEMENTALES

CARACTERÍSTICA	META	NIVEL DE INTERVENCIÓN
Verracos entrenados después de 4 semanas	>90 %	<80%
Verracos no entrenables	≤3%	>10%
Edad en la que se produce la primera dosis para ser usada	≥220 días - <300 días	<200 días - >300 días
Sementales recolectados por técnico de recolección por hora ¹	≥5	≤3
Promedio de producción de semen por semental por semana ²	≥90B células	<75B células
Sementales no productivos (cojos, enfermos, calidad del semen...) ³	≤5%	>10%
Eyaculados de mala calidad ⁴	6-10%	>12%
Mortalidad anual de sementales	<5%	>5%

- Depende del diseño del edificio: distancia entre corral/jaula y área de recolección, Proximidad entre la ventana de transferencia y el área de recolección, etc. Los sistemas de recolección semiautomáticos podrían aumentar a hasta 10 sementales por técnico de recolección por hora.
- Dependiendo de la raza y edad del semental. Los números mostrados consideran un centro solo con machos terminales y una tasa de reemplazo del 70%.
- Los números son promedios anuales y dependen de la ubicación geográfica, así como de las temperaturas en el edificio. Durante el verano, el número de sementales no productivos podría aumentar a >10%.
- Mala calidad se define como un eyaculado con <70% motilidad y/o >30% de células anormales. El valor dado se considera como un promedio de todo el año. Las tasas de desecho mensual podrían ser mayores, especialmente durante el verano.

BIOSEGURIDAD

La mayoría de los centros de sementales sirven a un gran número de cerdas/granjas; y las enfermedades transmitidas a través del semen (por ejemplo, PRRS, Peste Porcina Clásica) pueden producir un significativo daño económico. Por lo tanto, es crucial proteger el estado sanitario del rebaño de sementales. La ubicación correcta, la cuarentena y el manejo del edificio pueden ayudar a reducir el riesgo de introducir patógenos al centro de sementales y a las granjas de cerdas de los clientes. La Tabla 1.2 resume las mejores prácticas de bioseguridad. Instrucciones y prácticas adicionales deben ser documentadas e implementadas con la ayuda de su veterinario.

TABLA 1.2: RECOMENDACIONES DE BIOSEGURIDAD

ÁREA	CARACTERÍSTICAS DE BIOSEGURIDAD DE UN CENTRO DE SEMENTALES
Ubicación de la instalación	<ul style="list-style-type: none">• Establecer el centro lo más lejos posible de otras granjas de cerdos, carreteras, etc.;• Mantener el centro protegido del ingreso de visitas no deseadas (casilleros, cerco/vallas,...)
Personal	<ul style="list-style-type: none">• Garantizar un tiempo de vacío sanitario mínimo de 48 horas;• Usar cubre calzados o desinfectar los zapatos;• Ducharse al entrar y cambiarse todo el vestuario y los zapatos;• Garantizar una noche de vacío sanitario si se traslada desde la cuarentena al edificio de producción
Visitantes	<ul style="list-style-type: none">• Solo permitir el ingreso a visitas esenciales (personal de mantenimiento, etc.);• Aplicar las mismas reglas usadas para el personal del edificio;• Firmar el libro de visitas (nombre, motivo de la visita, cuándo/dónde tuvo el último contacto con cerdos, confirmar las reglas de bioseguriad);• Mantener en el centro un stock de las herramientas de mantenimiento frecuentemente usadas;• Limpiar y desinfectar todas la herramientas/suministros que necesitan ingresar el centro
Suministros	<ul style="list-style-type: none">• Limpiar y desinfectar los suministros antes de su ingreso; nebulizar con desinfectante;• Considere un área de entrega fuera del sitio para reducir el ingreso de tráfico externo al centro de sementales;• Desembalar los productos (es decir, sacar la caja de cartón externa) para potenciar el proceso de desinfección
Vehículos/remolques	<ul style="list-style-type: none">• Limpiar, desinfectar y secar antes de aproximarse al edificio de producción (transporte de animales);• Establecer los estándares de tiempo de vacío adecuado para los camiones entre transporte de animales
Otros	<ul style="list-style-type: none">• Establecer procedimientos de control de roedores y control de otras plagas;• Instalar filtración de aire a presión positiva en el edificio;• Antes de su ingreso al rebaño; establecer una cuarentena independiente, por un periodo de tiempo establecido, para todos los sementales de reemplazo

Para mayor información sobre las estrategias de bioseguridad consulte con Aseguramiento de Salud de PIC.

RECOMENDACIONES GENERALES DE MANEJO

En esta sección entregamos una descripción general de las estrategias de manejo que deberían funcionar bien en cuarentena y en el edificio de producción. La Tabla 1.3 muestra la información clave

Renuncia de responsabilidad: Bajo cualquier circunstancia, los productores deben cumplir con las leyes locales vigentes que regulan el manejo y las prácticas de alojamiento, incluso si dichas leyes difieren de las recomendaciones presentadas en este manual.

TABLA 1.3: RECOMENDACIONES GENERALES PARA EL MANEJO DEL CENTRO DE SEMENTALES

FACTOR	CUARENTENA	EDIFICIO DE PRODUCCIÓN
ALOJAMIENTO		
Temperatura del Edificio ¹	<ul style="list-style-type: none"> • <20°C (<68°F) 	
Humedad	<ul style="list-style-type: none"> • >40% - <70% 	
Gases (máx. ppm por m ³ de aire)	<ul style="list-style-type: none"> • Amoníaco: 20ppm; • Dióxido de Carbono: 3,000ppm; • Sulfuro de Hidrógeno: 5ppm 	
Ventilación (CFM por cabeza)	<ul style="list-style-type: none"> • Mín (frío): 14CFM; • Máx: 150CFM 	
Velocidad del Aire (FPM)	<ul style="list-style-type: none"> • 400-800 FPM 	
Alojamiento ²	<ul style="list-style-type: none"> • Alojarlos individualmente; • Mantener contacto visual y/o directo con otros animales; • Alojar a los sementales de la misma edad/raza cerca para facilitar la comparación visual 	
Pisos ²	<ul style="list-style-type: none"> • Piso Sólido: Con pendiente para evitar la acumulación de excremento y líquidos; • Zona de descanso aislada; • Piso ranurado (antideslizante): Mantenerlo seco y limpio; • Paja: Cambiarla al menos una vez a la semana. Se recomiendan pruebas regulares para micotoxinas. Asegurar una fuente segura (sin excremento de cerdos); • Aserrín: Cambiarlo 1-3 veces/año (dependiendo de la humedad); • Mantener la zona de descanso lo más seca y limpia de excremento como sea posible 	
MANEJO DE LA ALIMENTACIÓN		
Agua	<ul style="list-style-type: none"> • Tener siempre disponible agua limpia y fresca; • Usar bebederos de chupete/chupón (80-90 cm sobre el piso) o bebederos de canal; • Demanda diaria aproximada 17L (4.5 Galones) por semental/día; • Tasa de flujo mínima 1L/minuto (0.26 Galones). Revisar mensualmente; • Revisar los bebederos de chupete/chupón cuando se limpien los comederos; • Calidad del agua de acuerdo a Apéndice A. (Revisar dos veces al año) 	
Dieta	<ul style="list-style-type: none"> • Específica para edad/peso con el fin de mantener la condición corporal requerida. Consulte la información sobre la aspectos específicos y demanda de energía en Apéndice B. Para mayor información contacte Servicios de Nutrición de PIC • Promedio de tamaño de partícula de grano 750-900 micras; • Evitar el uso de subproductos o coproductos donde pueden estar concentradas las micotoxinas. El alimento/pienso para los sementales debe ser elaborado de materias primas probadas; • Puede ser beneficioso el uso de aglutinantes de micotoxinas; • Revisar regularmente por contaminación por micotoxinas; • Puede ser beneficioso agregar antioxidantes; • Para mayor información o asistencia contacte a Servicios de Nutrición de PIC. 	
Estrategia de Alimentación	<ul style="list-style-type: none"> • Alimentar 1-2 veces al día; • Limpiar los comederos antes de la alimentación; • Si se utilizan comederos automáticos, comprobar la precisión pesando y haciendo ajustes cada 2 semanas; 	<ul style="list-style-type: none"> • Ajustar la alimentación individual en función de la evaluación visual de la puntuación de la condición corporal; • La meta es >95% de los sementales en condición corporal normal³.
	<ul style="list-style-type: none"> • Para ayudar a la adaptación al nuevo alimento/pienso y ambiente ofrezca una porción pequeña (2/3 de la cantidad regular) por 2-3 días; Después de los primeros 2-3 días alimente a los sementales para mantener una condición corporal de 2; • Con pesos al ingreso de 160 Kg, es normal entregar alrededor de 2.5 Kg de alimento con 7.9 Mcal/EM de alimento por día 	

FACTOR	CUARENTENA	EDIFICIO DE PRODUCCIÓN
SALUD		
Tratamientos	<ul style="list-style-type: none"> • El veterinario a cargo debe cumplir con las regulaciones locales; • Reducir al máximo los tratamientos ya que pueden tener un efecto negativo en la calidad del semen; • Si es posible, se prefiere la administración oral a la inyectable. Los fármacos se disuelven en solventes o agua estéril. Los solventes pueden tener un efecto adverso en la producción y/o calidad del semen. Generalmente las drogas no son probadas para estos efectos; • Nunca se debe inyectar en el corral de recolección; • Mantener registros de todos los tratamientos administrados. 	
	<ul style="list-style-type: none"> • Vacunar después del 3er día desde su llegada; • Algunas vacunas tienen efecto negativo sobre la calidad del semen. Administrar esas vacunas lo más temprano posible para que el semental tenga tiempo de recuperarse antes de que empiece la recolección de semen. Los efectos negativos se pueden ver hasta 8 semanas después del tratamiento. 	<ul style="list-style-type: none"> • Divida las vacunaciones del rebaño en varios grupos con tiempo para mitigar los posibles efectos negativos sobre la calidad del semen; • Reduzca el número de vacunaciones al mínimo.
Pruebas de Diagnóstico ⁴	<ul style="list-style-type: none"> • Llevar a cabo pruebas de diagnóstico de enfermedades y con métodos de prueba aprobados por el veterinario y regulaciones locales; • Tomar las muestras con mucho cuidado. Considere análisis de saliva, toma de muestras de sangre de la pierna (vena tarsal) en lugar de la vena yugular, etc.; • Contacte a su veterinario para instrucciones detalladas. 	
	<ul style="list-style-type: none"> • Realizar las primeras pruebas en los sementales dentro de siete días de arribo; • Tener el 100% de la población analizada al final de periodo de cuarentena. 	<ul style="list-style-type: none"> • Realizar pruebas regulares para enfermedades transmisibles a través del semen y las pruebas obligatorias.
Monitoreo Clínico	<ul style="list-style-type: none"> • Recorrer diariamente los edificios para observar a los sementales e identificar a aquellos que no comen todo el alimento o que muestran signos de enfermedad; • Tomar y registrar la temperatura de cada semental sospechoso; • En caso de fiebre ($\geq 39^{\circ}\text{C}$ o $\geq 102^{\circ}\text{F}$) contacte inmediatamente a su veterinario y no recolecte semen de ese macho ese día. Se recomienda realizar un examen de diagnóstico de muestras de sangre incluyendo PRRSV PCR; • Hacer que los sementales se pongan de pie todos los días al momento de la alimentación para observar cojeras; • En caso de dudas, consulte con su veterinario; • Mantenga registros de todos los sementales que han sido tratados o que no comen. 	
Manejo de la recolección de semen en animales enfermos	<ul style="list-style-type: none"> • No recolecte semen de animales cojos hasta que se hayan recuperado completamente y después de terminado el tratamiento con analgésicos; • No recolecte de animales con sangre en el semen por 2 semanas. Si la sangre sigue presente después del periodo de descanso, se debe llevar a cabo una investigación médica y realizar el tratamiento adecuado indicado por su veterinario; • No recolectar de animales decaídos hasta que se hayan recuperado completamente. 	

FACTOR	CUARENTENA	EDIFICIO DE PRODUCCIÓN
RECOLECCIÓN DE SEMEN		
Inicio de la recolección ⁵	<ul style="list-style-type: none"> No comience el entrenamiento para recolección antes de los 180 días de edad o después de los 270 días de edad; No comience el entrenamiento de recolección antes de 5 días desde su llegada. 	<ul style="list-style-type: none"> No comience la recolección de semen para su uso en IA antes de los 220 días de edad; Antes de usar una dosis para IA, se deben recolectar 2 eyaculados que pasen los requisitos mínimos (se puede usar la 2da si es buena).
Frecuencia de recolección	<ul style="list-style-type: none"> Realizar el entrenamiento de recolección 2 días consecutivos y dejar 1 día de descanso, repetir hasta que el semental haya sido exitosamente recolectado por 2 días consecutivos de entrenamiento; Después del entrenamiento exitoso, recolectar a los sementales una vez cada 7 días. 	<ul style="list-style-type: none"> Recolección en sementales menores a 12 meses de edad: 1/semana; Recolección en sementales mayores a 12 meses de edad: Mín.: 1/semana Máx.: cada 3 días; La respuesta a la frecuencia de recolección puede variar según el semental.
No aptos para recolección	<ul style="list-style-type: none"> No recolectar en sementales cojos o enfermos hasta que se recuperen; Los sementales con sangre en el semen deben descansar 2 semanas. 	
Calendario de recolección	<ul style="list-style-type: none"> Durante el entrenamiento, primero recolecte a los machos con alta libido, y a continuación a los animales más difíciles. 	<ul style="list-style-type: none"> Manejar el calendario de recolección mediante una planificación y programación proactiva; Priorizar por índice y elegibilidad (recolectar primero a los sementales con los índices más altos, con los días de reposo adecuado y buena calidad del semen).

1 Estamos conscientes que temperaturas de edificio menores a 20°C/68°F son difíciles de lograr en algunas regiones o durante el verano. Sin embargo, está demostrado que este es el umbral crítico antes de un impacto negativo sobre la producción de semen.

2 Siempre cumpla con la legislación local en cuanto a los requisitos de alojamiento y cama para los sementales de IA.

3 En el capítulo de a continuación hay ejemplos para categorías de condición corporal.

4 Debe definirse en conjunto con su veterinario.

5 Pueden haber diferencias dependiendo de si los sementales son entrenados en cuarentena o en el centro.

CONDICIÓN CORPORAL

Las estrategias nutricionales que se muestran en la Tabla 1.3 y Apéndices A, B y C ayudarán a mantener la buena condición corporal de los sementales. En el Gráfico 1 se muestra la puntuación de PIC para la condición corporal de los sementales. Sin embargo, existen diferencias entre líneas genéticas que no pueden ser consideradas en esta ilustración. En condición corporal normal (puntuación 2), las vértebras no se ven pero se pueden sentir aplicando presión firme con la palma de la mano (especialmente cerca de la cola).

Tenga en cuenta que se debe ajustar la cantidad de alimento para cada semental individual y las características nutricionales específicas de la dieta local. Los sistemas de alimentación automáticos ayudan a ejecutar un régimen de alimentación más consistente. Idealmente, y para efectos de consistencia, la estimación de la puntuación de la condición corporal debería realizarla siempre la misma persona.

GRÁFICO 1.1: CONDICIÓN CORPORAL DEL SEMENTAL

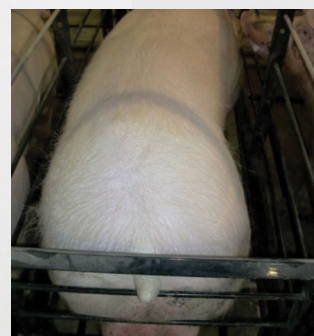
Condición Corporal Delgada



Condición Corporal Ideal



Condición Corporal Gordo



ENTRENAMIENTO EXITOSO DEL SEMENTAL

La base para una alta productividad del inventario de sementales es una sólida preparación para IA. Los errores durante el entrenamiento de recolección pueden tener efectos adversos persistentes en la "calidad de la monta" y causar que algunos sementales no puedan ser recolectados en absoluto. A continuación se enumeran los elementos clave para un entrenamiento exitoso de los sementales.

PREPARACIÓN

- Usar un sistema de registro para mantener un seguimiento del entrenamiento y éxito individual de los sementales.
- Eliminar las fuentes de distracciones en el área de recolección.
- Garantizar que el corral de recolección no le permita al semental pasearse mucho.
- Corral de precalentamiento localizado al lado o detrás del área de recolección.
- Garantizar la seguridad del personal. Asegurarse de que el semental se sienta cómodo con el contacto humano.
- El entrenamiento debe llevarlo a cabo personal con experiencia y paciencia.
- Ajustar el potro/maniquí a la altura del tamaño del semental (ángulo entre las piernas traseras y el abdomen ~120°).

RECOLECCIÓN

- Apretar el prepucio para estimular al semental y hacer todos los esfuerzos para que el semental le preste atención al potro/maniquí de monta.
- Una vez que el semental monta el potro, fije el pene y colecte el eyaculado.
- Durante este proceso observar los posibles problemas anatómicos con el semental (es decir, pene flácido, frenillo persistente) y reportarlo a su proveedor de sementales.

FLUJO DE TRABAJO

- Mientras el personal está recolectando al primer semental, el siguiente semental debe ser puesto en el área de precalentamiento para alistarlos para el entrenamiento.
- Si el semental no monta el potro después de ~5 minutos, suspenda el entrenamiento y continúe al día siguiente.
- Como alternativa, considere la administración de prostaglandina natural (si está permitido en su país; consulte con su veterinario).
- Evitar cualquier tipo de manipulación en el área de recolección (administración de vacunas, corte de colmillos, etc.).
- Una vez que el semental esté entrenado, repetir el proceso por 2 días seguidos para reforzar lo aprendido.
- Una vez terminado el entrenamiento exitosamente, recolectar al semental una vez cada 7 días hasta que cumpla un año de edad.

ENTRENAMIENTO USANDO UN SISTEMA DE RECOLECCIÓN AUTOMATIZADO

Esto requiere de un enfoque ligeramente diferente. A continuación se indican los detalles.

- Un sistema de recolección automatizado incluye un cérvix artificial (CA), brazo deslizante, soporte para el CA y un potro/maniquí de monta.
- El CA imita el cérvix (cuello uterino) de la cerda y proporciona presión para estimular al semental.
- El brazo deslizante permite movimiento libre hacia adelante y hacia atrás durante la recolección.
- Seguir los pasos de recolección indicados en este manual (señalados anteriormente) para el primer día de recolección.
- El día 2, recolectar manualmente la primera porción del eyaculado por aproximadamente 1 minuto con la mano izquierda.
- Después de 1 minuto, colocar el pene en el sistema de recolección automático y dejarlo que termine la recolección.
- Repetir el proceso después del día de descanso, es decir, día 3 de entrenamiento.
- Cada semental se aclimatará al sistema a su propio ritmo. No todos los sementales aceptan la recolección automática. Si después de 4 semanas el semental no se acostumbra al sistema debe considerar recolectarlo manualmente.

Para más detalles sobre el entrenamiento de los sementales para una recolección exitosa revise el código QR de a continuación (Lleva a la presentación de Entrenamiento Exitoso del Semental)



RECOLECCIÓN DE SEMEN

A continuación se describen todos los aspectos de un proceso eficiente de recolección de semen.

DISEÑO DEL ÁREA DE RECOLECCIÓN

Un área de recolección adecuada ayuda a que la extracción de semen sea más rápida, segura, higiénica y productiva. Comparado con la recolección en el área de alojamiento ofrece una ventaja significativa en términos de higiene. A continuación se indican los elementos clave de un área recolección efectiva:

- Separada del área de alojamiento de los animales.
- Lo más pequeña posible.
- Fácil de limpiar (superficies/paredes/piso/potro de monta).
- Piso con buena tracción.
- Que permita recolectar al semental desde el exterior o con una buena ruta de escape para el personal.
- Que permita recolectar al semental desde un pozo de recolección para reducir las lesiones por esfuerzo y problemas en las rodillas y espalda del técnico.
- Potro de monta fácil de limpiar (fácil de dar vuelta) con altura ajustable.
- Con sistemas (semi) automáticos para aliviar al técnico de lesiones por esfuerzo reiterado.
- Operado en combinación con un "área de pre-calentamiento"
 - Mientras un semental está siendo recolectado, el siguiente se estimula observando/escuchando/ oliendo a su predecesor.

PROCEDIMIENTO DE RECOLECCIÓN DE SEMEN

El procedimiento de recolección de semen es uno de los componentes clave para la producción de semen de alta calidad. Si este proceso se realiza de manera correcta, se reduce al máximo la contaminación bacteriana del eyaculado. En la Tabla 1.4 se muestran las mejores prácticas de recolección de semen.

TABLA 1.4: RECOMENDACIONES PARA LA RECOLECCIÓN DE SEMEN

MOMENTO	RECOMENDACIÓN
Antes de la recolección	<ul style="list-style-type: none">• Para información sobre la frecuencia/programación de la recolección de semen consultar la tabla de manejo (Tabla 3);• Almacenar todos los suministros necesarios como guantes, copas de recolección, bolsas, etc. en un gabinete limpio, cerrado;• Usar una copa de recolección con aislamiento (pre-calentada a 37°C/100°F) con una bolsa plástica en la que se colecta el eyaculado;• Cubrir la copa con un filtro (gaza, filtro de leche, productos comercialmente disponibles) para separar la secreción bulbouretral (fase como gel) del eyaculado;• Por motivos de higiene, no coloque la copa de recolección sobre el piso o sobre cualquier otra superficie contaminada;• Para una mejor estimulación se recomienda trabajar con un área de pre-calentamiento. Los sementales que ingresan al corral de pre-calentamiento se estimularán al oler, escuchar y observar a otro macho siendo recolectado;• Los sementales deben montar el potro/maniquí antes de 5 minutos de haber entrado al área de recolección.
Durante la recolección	<ul style="list-style-type: none">• El método de doble guante mejora la higiene de la recolección:<ul style="list-style-type: none">○ El guante externo se saca después de evacuar el prepucio y estimular al semental hasta que el pene está expuesto;○ El guante externo se saca antes de fijar el pene. El pene solo puede ser tocado con el guante interno limpio.• Fijar el pene con una mano, dejando la punta descubierta;• Mantener el pene con la punta por encima (más alto) del nivel del abdomen del semental para evitar que fluya fluido prepucial hacia la copa de recolección;• No tocar el filtro ni la punta del pene con la mano;• No recolectar la primera fracción transparente del eyaculado, tirar esta fracción al suelo. Esto elimina la mayoría de los posibles contaminantes del eyaculado;• Continuar con la recolección de semen hasta que el semental termine de eyacular y retire su pene.
Después de la recolección	<ul style="list-style-type: none">• Después de la recolección, la prioridad es preparar el eyaculado para enviarlo al laboratorio;• No exprimir el filtro para sacar líquido de la fracción gelatinosa. El filtro podría estar contaminado y dañado y podrían caer partículas de gel al eyaculado afectando negativamente la calidad del semen.

MANEJO DE SEMENTALES CON MALA CALIDAD DE SEMEN

El manejo de sementales con mala calidad de semen puede ayudar a aumentar la probabilidad y oportunidad de que vuelvan a producir. Tenga en cuenta que los sementales con daño persistente en los testículos no se recuperarán.

- Marcar al semental si se recolectan dos eyaculados consecutivos de calidad menor al criterio mínimo. Esto también se conoce como poner al semental "en espera" hasta que sea sometido a más pruebas;
- Hacer que los sementales marcados sigan un programa separado como se describe a continuación;
- Eliminar a los sementales con índice muy bajo o aquellos programados para reemplazo por mostrar mala calidad de semen;
- Inspeccionar al animal por signos que podrían ayudar a explicar la mala calidad del semen, como:
 - Cojera/dolor
 - Mala condición corporal
 - Testículo/epidídimo anormal (asimetrías, inflamaciones, lesiones, atrofas, etc.)
- Aplicar tratamiento, si procede;
- Factores tales como estrés por calor, vacunaciones, micotoxinas, etc pueden tener un efecto negativo sobre la calidad del semen.

PROGRAMA PARA SEMENTALES MARCADOS:

1. Antes de la recolección, tomar la temperatura corporal del semental. La fiebre puede ser un motivo de la mala calidad del semen.
2. Revisar los registros de salud y tratamientos del semental. ¿Hay ahí una posible causa? Preste particular atención a los registros de las últimas 3-4 semanas;
3. Sacar al semental de la programación regular de recolección, pero siga recolectándolo:
 - < 12 meses: estrictamente 1 vez por semana
 - >12 meses: mínimo 1 vez por semanaHacer excepciones para sementales con problemas de salud/cojeras/ sangre en el eyaculado (ver Tabla 1.3). Programe la recolección de los sementales marcados para los días de baja producción con el fin de disponer del tiempo suficiente para revisar el eyaculado;
4. Para hacer un seguimiento de la recuperación, evaluar cada eyaculado por motilidad y morfología. Realizar una evaluación detallada de la morfología con alto aumento (consultar la Sección II, Capítulo "Evaluación del Semen"), para confirmar los porcentajes de cada tipo de defecto celular. También revisar la densidad celular, si el problema del semental es la baja concentración de eyaculado;
5. Si es necesario, envíe una muestra de eyaculado a un laboratorio externo para pruebas microbiológicas;
6. Si se obtienen dos eyaculados consecutivos con semen de buena calidad, regrese al semental a la programación normal de recolección;
7. Haga controles para ver si se normalizó la calidad del semen después de aproximadamente 6-8 semanas de haber resuelto la causa de la disminución en la calidad.

HIGIENE

La contaminación bacteriana del eyaculado tiene un efecto negativo sobre la calidad del semen y la vida útil de las dosis de semen producidas. Aunque es difícil recolectar eyaculados estériles bajo condiciones comerciales, es muy importante reducir al máximo la contaminación bacteriana durante la recolección de eyaculados frescos. En la Tabla 1.5 se describen las áreas clave en las que hay que enfocarse para maximizar la higiene.

TABLA 1.5: RECOMENDACIONES GENERALES PARA UNA RECOLECCIÓN HIGIÉNICA

ÁREA	RECOMENDACIÓN
Alojamiento del semental	<ul style="list-style-type: none"> • Asegúrese de que el área de descanso de los sementales esté limpia; • Cambie regularmente el material de cama; • Limpie y desinfecte regularmente todo el edificio. La programación difiere dependiendo de factores como material de cama y humedad. Mínimo 1 vez al año
Semental	<ul style="list-style-type: none"> • Haga que el semental ingrese al área de recolección sin excremento, material de cama, etc.; • Si es necesario, limpie y seque su abdomen/parte inferior; • Corte regularmente los pelos del prepucio.
Área de recolección/Potro de monta	<ul style="list-style-type: none"> • Si es posible, debe estar separada del área de alojamiento; • Limpie, desinfecte y seque después de cada día de producción (lavado a presión, detergente, desinfectante); • Haga hincapié en la limpieza de la parte inferior del potro de monta/maniquí (si es posible, póngalo boca abajo para limpiarlo); • Reemplace los potros con rasguños profundos en su superficie
Utensilios (Copas, guantes, ...)	<ul style="list-style-type: none"> • Almacene todo el material cerca del área de recolección. en un gabinete cerrado para reducir al máximo la contaminación; • Prepare las copas de recolección (poliestireno y gaza/filtro) en un ambiente limpio; • Si se usan bolsas de recolección con filtros integrados, considere la preparación en el edificio; • No toque con sus manos los filtros de recolección y el interior de la copa/bolsa; • Use un frasco tibio y aislado para sostener la copa/bolsa de recolección.
Técnica de recolección	<ul style="list-style-type: none"> • Consultar el párrafo "Recolección de Semen" al principio de esta sección
Gabinetes de calentamiento	<ul style="list-style-type: none"> • Limpiar, desinfectar y secar después de cada día de producción (detergente-secar-alcohol).
Frascos aislados	<ul style="list-style-type: none"> • Limpiar, desinfectar y secar después de cada día de producción (detergente-secar-alcohol).

RESOLUCIÓN DE PROBLEMAS

En esta sección presentamos los problemas más frecuentes en los centros junto con algunas estrategias de intervención. Por favor, tenga en cuenta que esta es una lista no exclusiva. Para recomendaciones sobre otros problemas o indicaciones más detalladas contacte a su Jefe de Cuenta PIC o a Servicio Técnico de PIC.

PROBLEMA: ALTO NÚMERO DE SEMENTALES NO ENTRENABLES

La Tabla 1.6 incluye estrategias de intervención si tiene menos del 80% de los sementales entrenados después de 4 semanas o más de 5% de sementales no entrenables. Tenga en cuenta que puede haber una diferencia entre líneas genéticas.

TABLA 1.6: PUNTOS A REVISAR E INTERVENCIONES CUANDO SE TIENE UN NÚMERO DE SEMENTALES NO ENTRENABLES.

POSIBLE CAUSA	INTERVENCIÓN
Falta de estimulación	<ul style="list-style-type: none"> • Permita que un semental de alta libido monte primero el potro para que deje su olor; • Permita que el semental observe la recolección del semental antes que él; • Un potro/maniquí portátil puede ayudar a "imitar mejor a la cerda" e interactuar con el semental
Incomodidad	<ul style="list-style-type: none"> • Ajuste el potro a la altura adecuada (aproximadamente en un ángulo de 120° entre las piernas traseras y el abdomen); • Ajuste el potro al suelo con buena tracción – sin que se resbale; • Coloque el potro de monta en posición segura (sin golpeteo de las patas)
Programación del entrenamiento	<ul style="list-style-type: none"> • Durante la primera semana realice varias sesiones de entrenamiento. Intente 2 días consecutivos seguido por 1 día de descanso y otros 2 días de entrenamiento.
Distracción	<ul style="list-style-type: none"> • No realice otras actividades durante el entrenamiento (como alimentar, lavar a presión, etc.).
Efecto primado (priming) negativo	<ul style="list-style-type: none"> • No administre tratamientos a los sementales en el corral de recolección y evite los pisos/potro resbaladizos y otros factores estresantes.
Edad a la recolección	<ul style="list-style-type: none"> • Los sementales responden mejor si se les empieza a entrenar después de los 6.5 meses de edad; • Después de los 9 meses de edad el entrenamiento puede ser más difícil.

PROBLEMA: MAYOR CANTIDAD DE CÉLULAS ANORMALES

Existen varios motivos por los que los sementales producen eyaculados con mayor número de células anormales. En la Tabla 1.7 se enumera una selección de las posibles causas y estrategias de intervención. En muchos casos esto se puede deber a varios motivos coexistentes, por lo que no se puede identificar una causa única. Especialmente durante el verano, puede disminuir la calidad general del semen debido a efectos estacionales y a la temperatura. Tenga en cuenta que la intensidad de respuesta a tales factores estresantes puede diferir entre individuos y líneas genéticas.

TABLA 1.7: PUNTOS A REVISAR E INTERVENCIONES CUANDO SE TIENEN EYACULADOS CON UN MAYOR NÚMERO DE CÉLULAS ANORMALES.

POSIBLE CAUSA	INTERVENCIÓN
Temperatura ambiental del edificio sobre 22°C/72°C	<ul style="list-style-type: none"> • Equipe el edificio con paneles de enfriamiento u otros aparatos para bajar la temperatura; • Aumente la tasa de ventilación para mejorar la convección de calor; • Coloque a los sementales/razas más sensibles cerca de los paneles de enfriamiento; • Realice la recolección, entrenamiento, alimentación durante las horas más frías de la mañana; • Alimente con porciones más pequeñas de manera más frecuente; • Revise el suministro de agua; • No vacune durante las horas más calurosas en verano; • Si es posible, evite transportar a los sementales durante las horas más calientes del verano (hágalo temprano en la mañana o en la noche).
Temperatura corporal elevada (fiebre)	<ul style="list-style-type: none"> • Divida a los sementales en grupos para vacunaciones y administre tratamiento de grupo con 4-6 semanas de diferencia; • Administre antipiréticos si la temperatura central es mayor a 39°C/102°F (tomar muestras de diagnóstico para descartar infección con virus PRRS); • Si están enfermos/cojos, administre tratamiento de acuerdo a lo recomendado por su veterinario.
Tratamientos/Vacunas	<ul style="list-style-type: none"> • Consulte "Temperatura Corporal Elevada".
Edad del semental	<ul style="list-style-type: none"> • Los sementales menores a 220 días de edad todavía están desarrollando la producción de células espermáticas y, por lo tanto, pueden tener un porcentaje más bajo de células normales. Ellos pueden ser entrenados/recolectados, sin embargo, se recomienda no usar su semen hasta que el semental tenga aproximadamente 220 días de edad; • Los sementales mayores a 3 años de edad muestran generalmente un ligero aumento en el número de células anormales.
Micotoxinas	<ul style="list-style-type: none"> • Analice el alimento/pienso por micotoxinas; • Limpie los comederos antes de alimentar (para evitar moho/hongos); • Use aglutinantes de micotoxinas en el alimento/pienso; • Consulte con su nutricionista para opciones de intervención adicionales.
Error en la frecuencia de recolección	<ul style="list-style-type: none"> • Evite programas de <1 y >2 recolecciones/semana en sementales adultos; • Evite programas de >1 recolección/semana en sementales <12 meses de edad; • Recolecte a los sementales al menos cada 7 días.
Cojeras/enfermedad	<ul style="list-style-type: none"> • Haga tratamiento de acuerdo a las recomendaciones del veterinario y no los recolecte hasta que se hayan mejorado.
Testículos Patológicos (lesiones, asimetría marcada, inflamación,...)	<ul style="list-style-type: none"> • Consulte con su veterinario para el tratamiento adecuado. Si el daño fue persistente, sin posibilidades de recuperar la calidad del semen, elimine al semental.

PROBLEMA: AUMENTO EN LA CANTIDAD DE ANIMALES CON COJERAS O PEZUÑAS AGRIETADAS

Las cojeras y pezuñas agrietadas se producen por múltiples causas. En la Tabla 1.8 se describen las causas mas comunes junto con las estrategias de intervención.

TABLA 1.8: CAUSAS Y ESTRATEGIAS DE INTERVENCIÓN PARA COJERAS/PEZUÑAS AGRIETADAS

POSIBLE CAUSA	INTERVENCIÓN
Infección, daño físico de las articulaciones	<ul style="list-style-type: none"> Administre tratamiento según las indicaciones de su veterinario (antibióticos y antiinflamatorios); No recolecte al semental hasta que se recupere.
Alta humedad/ pezuñas blandas	<ul style="list-style-type: none"> Preste atención al secado del piso. Aumente la ventilación para mejorar el secado.
Piso inadecuado/bordes cortantes	<ul style="list-style-type: none"> Busque los puntos críticos en el corral/jaula; Revise que el piso no sea muy áspero/con bordes cortantes (especialmente en instalaciones nuevas); Revise los comederos metálicos por bordes cortantes; Revise la jaula/cerco por bordes cortantes/partes sobresalientes; Revise el anclaje del potro/maniquí al piso (tornillos)

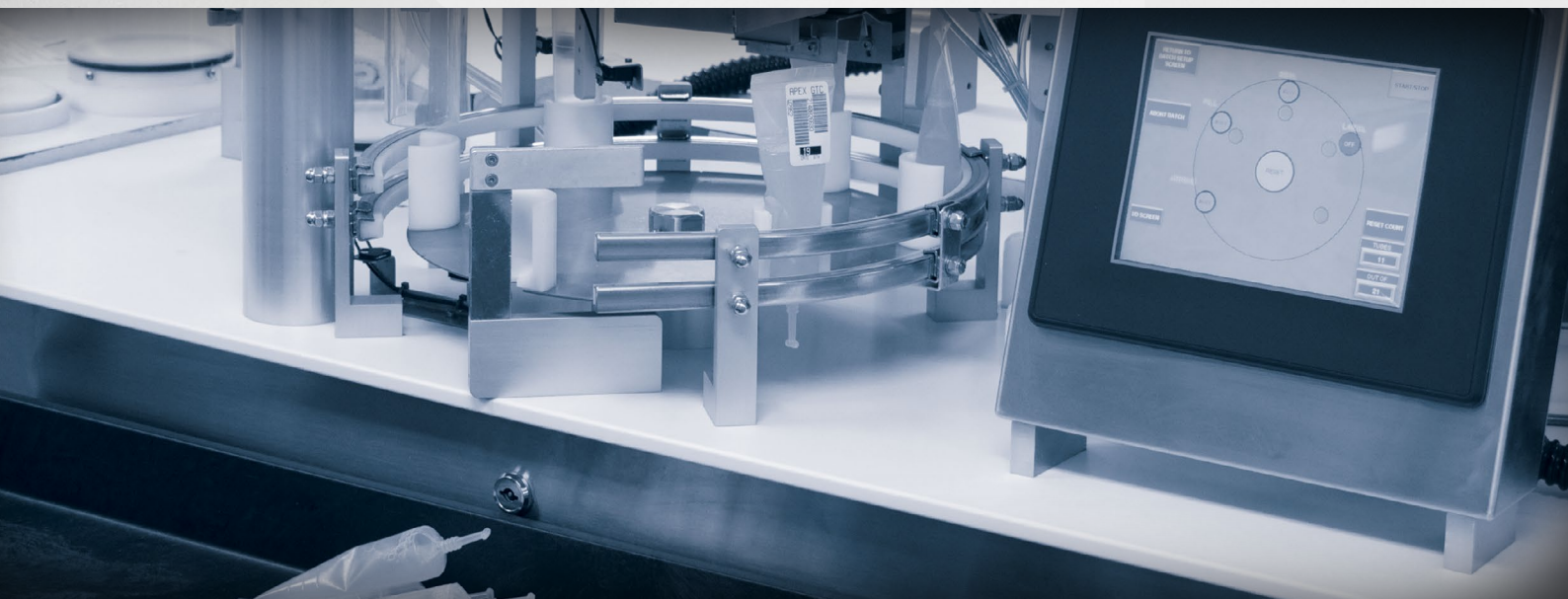
PROBLEMA: ALTOS NIVELES DE CONTAMINACIÓN BACTERIANA EN LOS EYACULADOS

Si las pruebas microbiológicas de las dosis de semen indican que el edificio es el lugar donde se produce la contaminación, realice una revisión completa basado en la Tabla 1.9.

TABLA 1.9: CAUSAS E INTERVENCIÓN DE LA CONTAMINACIÓN BACTERIANA DEL EYACULADO

POSIBLE CAUSA	INTERVENCIÓN
Alta carga bacteriana en la superficie del semental debido a un área de alojamiento sucia	<ul style="list-style-type: none"> Mantenga el área de alojamiento de los sementales lo más seco posible sacando frecuentemente el material de cama, aumentando el flujo de aire a nivel del suelo, ajustando los chupetes/chupones para que no mojen el piso; Limpie el área de alojamiento con mayor frecuencia; Antes de recolectar, limpie el abdomen/área prepucial de los sementales con una toalla de papel desechable seca
Alta contaminación bacteriana en el área de recolección	<ul style="list-style-type: none"> Limpie y desinfecte el potro/maniquí después de cada día de producción, con especial hincapié en la parte inferior del potro de monta; Use corrales de pre-calentamiento para que los sementales orinen y defequen antes de ingresar al área de recolección; Evacue el prepucio en el área de pre-calentamiento; Con una pala, elimine el excremento del área de recolección entre recolecciones
Suministros contaminados	<ul style="list-style-type: none"> Almacene los guantes de recolección, copas y filtros limpios y secos hasta su uso; No coloque las copas de recolección en el piso; No toque con la mano los filtros de recolección ni el interior de la bolsa de recolección
Contaminación producto de una mala técnica de recolección	<ul style="list-style-type: none"> Consulte las instrucciones dadas en esta sección, capítulo “recolección de semen” e “higiene”
Mala elección de detergentes/ desinfectantes o mala técnica de aplicación	<ul style="list-style-type: none"> Verifique que los agentes son efectivos contra la flora bacteriana sospechosa; Use los productos de acuerdo a las instrucciones del fabricante.

GESTIÓN DE LA CALIDAD DEL LABORATORIO



Esta sección entrega una descripción general de las estrategias de manejo para garantizar que solo se procesa el semen de calidad aceptable y, a la vez, entrega detalles de las mejores estrategias de procesamiento e higiene en el laboratorio.

EXPECTATIVAS

El objetivo principal de un laboratorio de IA es producir dosis de semen de buena calidad para fertilizar a las cerdas. La meta del proceso de laboratorio es la evaluación eficiente de los eyaculados para determinar si cumplen con los estándares de calidad descritos en la Tabla 2.1; y la producción de dosis que cumplan con los requisitos internos y de los clientes.

TABLA 2.1: RESULTADOS ESPERADOS DE UN PROGRAMA DE GESTIÓN DEL LABORATORIO

CARACTERÍSTICA	META	NIVEL DE INTERVENCIÓN
Cantidad uniforme de células por dosis de IA	$\leq \pm 5\%$ fuera de la meta	$> \pm 10\%$ fuera de la meta
Volumen uniforme de la dosis de IA	$\leq \pm 1$ ml fuera de la meta	$> \pm 2$ ml fuera de la meta
Motilidad total mínima de la dosis de IA a la fecha de caducidad/ expiración	$\geq 70\%$	$< 60\%$
Motilidad progresiva mínima de la dosis de IA a la fecha de caducidad	$\geq 60\%$	$< 50\%$
Cantidad máxima de células anormales en la dosis de IA (defectos primarios y secundarios)	$\leq 30\%$	$> 30\%$
Cantidad máxima de gotas citoplasmáticas en la dosis de IA	$\leq 20\%$	$> 20\%$
Recuento de bacterias en la dosis de IA	< 1 cfu/ml	> 1 cfu/ml

MONTAJE DEL LABORATORIO

El diseño adecuado del laboratorio, como se describe en la Tabla 2.2, entrega las condiciones para la producción eficiente y de alta calidad de las dosis de semen. El diseño del laboratorio afecta la producción higiénica y los flujos de trabajo eficientes. Los detalles del diseño del laboratorio generalmente deben decidirse caso a caso dependiendo de las situaciones específicas presentes en cada centro (espacio, personal, etc.).

TABLA 2.2: PRINCIPIOS Y OBJETIVOS PRINCIPALES DEL DISEÑO DE LOS LABORATORIOS PARA IA

PRINCIPIO	
Separación entre laboratorio de producción y: <ul style="list-style-type: none"> • Área de limpieza (laboratorio húmedo) • Sala de almacenamiento de suministros • Sala de almacenamiento de semen (fría) • Oficina • Sala de descanso • Baños • Sala de servicios (agua, energía, compresor, etc) 	El laboratorio de producción se usa exclusivamente para la evaluación y procesamiento del semen. Está diseñado para que sea fácil de limpiar y desinfectar. Para evitar la contaminación del semen procesado, se requiere que todas las otras actividades se lleven a cabo en salas separadas del área de producción.
Colocar en el laboratorio solo los artículos/máquinas esenciales para la producción.	Mientras menos artículos y equipos tenga el laboratorio, más fácil de limpiar.
Tener distancias cortas entre las estaciones de trabajo.	Permite un procesamiento más rápido.
Flujo de trabajo en línea	Sin cruce de las líneas de trabajo desde el área "sucia" (llegada del eyaculado, evaluación) al área "limpia" (diluyente, llenado) para evitar la contaminación cruzada.
Reemplazar regularmente los filtros del aire acondicionado	Reduce la distribución de suciedad y bacterias a través del aire.
Muebles de laboratorio móviles (con ruedas)/espacio abierto	Permite limpiar el área bajo los muebles.
Evitar tener los gabinetes de almacenaje en el laboratorio de producción. Trabajar con carros móviles que contengan los suministros diarios	También se deben limpiar los gabinetes, y esto generalmente no lo hacen de manera regular.
Todas las superficies (cielo, paredes, piso, cubiertas de los muebles, muebles) deben estar construidas y compuestas de materiales adecuados para una limpieza fácil y compatible con la desinfección	Facilita la limpieza y desinfección adecuada.
Dejar espacio entre los cables/tuberías y el piso/paredes	Fácil acceso para limpiar.
Sin ángulos de 90° entre la pared y el piso	Facilita la limpieza.
Revestimiento para pisos sin uniones ni desagües	Fácil de limpiar y no acumula suciedad y bacterias.
Tomas de corriente más arriba que los equipos	Facilita la limpieza sin cables sobre el piso, contra la pared o sobre las superficies horizontales.
Habitaciones separadas para el almacenaje de las dosis de semen llenas y los suministros para el laboratorio.	Facilita la limpieza.

HIGIENE DEL LABORATORIO

Además de las reglas mencionadas anteriormente para montar un laboratorio adecuado, existen varias prácticas que ayudan a reducir la carga bacteriana y la contaminación cruzada durante el procesamiento del semen:

- Ingresar al laboratorio solo después de cambiarse el vestuario (bata de laboratorio, pantalones y zapatos, malla para el cabello/barba).
- Hacer obligatorio el lavado y desinfección de manos antes de ingresar al laboratorio (Gráfico 2).
- No permitir el ingreso de comida o bebidas al laboratorio (pueden consumirse en la sala de descanso).
- Lavar y desinfectar las manos después de comer y después de ir al baño.
- Si el semen ingresa a través de la ventana de transferencia, nunca abrir ambos lados al mismo tiempo.
- No almacenar artículos innecesarios en la ventana de transferencia.
- No puede ingresar al laboratorio nada proveniente del edificio, excepto el eyaculado (en una bolsa plástica o similar).
- Si las personas se tienen que desplazar desde el edificio al laboratorio el mismo día (no aconsejable), debe ser obligatorio el ducharse y cambiarse de ropa.
- Desembalar los suministros de su empaque externo (si es posible) antes de su ingreso al laboratorio.
- No tocar con la manos descubiertas nada que esté en contacto directo con el semen/diluyente.
- Usar bolsas plásticas desechables para forrar los jarros que contendrán el eyaculado/semen. Esto reducirá el riesgo para contaminación cruzada y limitará la limpieza.
- Limpiar inmediatamente los derrames de semen/diluyente en la cubierta de los muebles/encimera con toallas/pañuelos de papel y desinfectar con toallitas con alcohol.
- Filtrar el aire presurizado antes de su uso (es decir, sistemas de tubo neumático, maquinas de llenado/envasado).
- Después de la producción, colocar el semen eliminado y el resto de diluyente en el inodoro o en un lugar alternativo de eliminación de desechos fuera del laboratorio o en el fregadero que se usa solo para limpieza.
- Desinfectar las manos entre eyaculados que están siendo procesados y cada vez que exista la posibilidad de contaminación.
- Limpiar regularmente el laboratorio como se explica en la Sección III, capítulo "Limpieza y Desinfección".

GRÁFICO 2.1: INSTRUCCIONES PARA UN CORRECTO LAVADO DE MANOS



EVALUACIÓN DEL SEMEN

La base de la producción de dosis de semen es la medición del número de células espermáticas en el eyaculado fresco, así como la evaluación de dos importantes parámetros de calidad, motilidad del semen y morfología celular. Solo se deberían procesar los eyaculados que cumplen con los criterios mínimos enumerados en la Tabla 2.3. Eliminar los eyaculados que no cumplen con estos estándares mínimos.

TABLA 2.3: UMBRALES PARA LA EVALUACIÓN DE SEMEN

VARIABLE DEL SEMEN	VALOR NORMAL	UMBRAL MÍNIMO
Apariencia	Consistencia lechosa a cremosa	
Color	Color blanco grisáceo a blanco	
Volumen	100 – 500 ml	> 50 ml
Nº total de células espermáticas	20-120 Billones	>15 Billones
Células espermáticas móviles (eyaculados frescos) ¹	80-95%	Para satisfacer los requisitos mínimos de motilidad a la fecha de caducidad
Movilidad progresiva de las células espermáticas (eyaculado fresco) ¹	60-90%	Para satisfacer los requisitos mínimos de motilidad a la fecha de caducidad
Aglutinación	0-10%	≤ 30%
Células espermáticas anormales (defectos primarios y secundarios)	10-15%	≤ 30%
Gotas citoplasmáticas (como parte de las células anormales)	5-10%	≤ 20%
Pérdida máxima de motilidad/24 horas	2.5 – 3.0%	≤ 3%
Pérdida máxima de motilidad progresiva/24 horas	2.5 – 3.0%	≤ 3%
Células espermáticas móviles a la fecha de caducidad		≥ 70%
Movimiento progresivo de las células espermáticas a la fecha de caducidad		≥ 60%

¹ Los resultados de la medición pueden variar dependiendo del sistema CASA utilizado

EVALUACIÓN MACROSCÓPICA

La evaluación macroscópica es un paso simple pero muy importante. El objetivo es eliminar los eyaculados inadecuados, especialmente aquellos contaminados, antes de que pasen al flujo de análisis y procesamiento. La Tabla 2.4 enumera los factores a evaluar.

TABLA 2.4: EVALUACIÓN MACROSCÓPICA DEL SEMEN

FACTOR	NORMAL	ANORMAL
Color	Blanco, blanco grisáceo, blanco amarillento	Rojo o marrón/café (todas sus variantes)
Consistencia	Cremosa, lechosa	Aguado, escamoso
Impurezas	Ninguna	Sangre, pus, orina, heces, otros
Olor	Neutro	Orina, heces, putrefacto

MEDICIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE ESPERMA/RECuento TOTAL DE CÉLULAS

Existen diferentes métodos para medir la concentración de células espermáticas en el eyaculado. En la Tabla 2.5 se enumeran los requisitos para la medición precisa de la concentración de esperma con diferentes instrumentos. La concentración celular multiplicada por el volumen de eyaculado (medido con una escala; 000.0g) entrega el número total de células en el eyaculado.

Los equipos comúnmente usados para la medición de la concentración en los centros de IA son los equipos de análisis de semen asistidos por computadora (CASA) y los fotómetros (es decir, espectrofotómetros).

Las mediciones se realizan generalmente en eyaculado fresco o eyaculado pre-diluido (dependiendo del protocolo del laboratorio y del equipo).

TABLA 2.5: REQUISITOS PARA MEDICIONES PRECISAS CON SISTEMAS CASA Y FOTÓMETROS

FOTÓMETRO	CASA
PREPARACIÓN DE LA MUESTRA	
Sin colores anormales/purificación del eyaculado	
Mezcla completa y correcta del eyaculado antes del muestreo	
Pipeteo preciso de la muestra. Como alternativa, usar un sistema de pipeteo automático.	
Dependiendo del sistema, puede ser necesario diluir la muestra de eyaculado antes de medirlo. La exactitud y precisión de este paso tiene un gran impacto en los resultados de la medición.	
Mezclar la muestra en el tubo de ensayo invirtiéndolo suavemente 5 veces (para evitar contaminación, cubrir el tubo de ensayo con una tapa o parafilm en lugar del dedo)	Llenar la cámara de recuento estándar (según las instrucciones del fabricante). Evitar el sobrellenado o subllenado.
MEDICIÓN	
Cada serie de medición comienza con calibración 0 del instrumento (de acuerdo a las instrucciones del fabricante. Normalmente se realiza con una solución de NaCl al 0.90%).	<ul style="list-style-type: none"> • Adecuada configuración del programa/software (especies, dilución de la muestra, tipo de cámara para el recuento, valores límite de motilidad, etc.). • Revisar todas las configuraciones antes de su uso
Evitar tocar el área de medición/campo de la cubeta/cámara	Revisar los ajustes de luz y configuración de contraste
Medir inmediatamente después de preparar la muestra	
CONSIDERACIONES	
Las burbujas de aire en la muestra o una cubeta sucia/rayada puede alterar las mediciones.	Las cámaras de medición deben estar sin polvo, humedad y moho.
Evitar obstrucciones al haz del fotómetro.	
Los fotómetros generalmente tienen una curva de absorción de la luz sigmoide. La medición es confiable solo en la parte lineal de la curva.	Como mínimo cuente 400-600 células (dependiendo de la cámara y fabricante del CASA).
Realizar servicio y calibración regular del instrumento (mín. 2 veces al año) con muestras estándar (según el fabricante).	Mantenimiento regular (mín. 1 vez al año) por un técnico especializado.

EVALUACIÓN DE LA MOTILIDAD ESPERMÁTICA

Le evaluación de la motilidad espermática es un paso importante en el control general de la calidad de los eyaculados frescos. En la Tabla 2.6 se enumeran todas las especificaciones para una buena medición de la motilidad. Solo se recomienda mayor evaluación y procesamiento a los eyaculados con 70% o más de motilidad. La evaluación de la motilidad se realiza en un microscopio con fase de contraste y platina caliente (38°C/100°F). La evaluación puede hacerse por estimación manual o automática con la ayuda de un sistema CASA.

TABLA 2.6: ESPECIFICACIONES PARA LA CORRECTA MEDICIÓN DE LA MOTILIDAD

VALORACIÓN DEL TÉCNICO	MEDICIÓN CON SISTEMA CASA
PREPARACIÓN DE LA MUESTRA	
<ul style="list-style-type: none"> Entibiar a 38°C todos los equipos (porta objetos de vidrio, platina del microscopio, etc.) Todos los insumos nuevos y sin uso previo (portaobjetos de vidrio, cubreobjetos, puntas de pipetas, cámaras de recuento, etc.); No limpiar/volver a usar los artículos. 	
Mezcla correcta del eyaculado antes de preparar la muestra	
Usar portaobjetos de vidrio y cubreobjetos pre-entibiados	Usar cámaras de recuento/portaobjetos del microscopio pre-entibiado
<ul style="list-style-type: none"> Muestra de eyaculado fresco de 5-15µl. Si la concentración es alta (>500x106 células/ml) una gota de diluyente o NaCl al 0.9% puede ayudar a diluirlo. 	<ul style="list-style-type: none"> Prediluir la muestra con diluyente tibio para lograr la concentración celular óptima para realizar la medición (según el manual del fabricante de CASA); La predilución se puede realizar en un tubo de muestra tibio. Las muestras preparadas deben volver a mezclarse (Vortexed) antes del análisis.
	Cargar la cámara de recuento con micropipetas de punta fina. El volumen de carga debe ser $\pm 0.5 \mu\text{l}$ más que el volumen real de la cámara. Los volúmenes de la cámara dependen del fabricante (Cámara MOFA® $\approx 2.2 \mu\text{l}$; cámara Leja® $\approx 3 \mu\text{l}$).
MEDICIÓN	
Las muestras se miden inmediatamente después de pipetearlas al portaobjetos o cámara CASA.	
Evaluar mínimo 5 campos diferentes con aumento de 200-400 x y fase de contraste.	Configuración adecuada del programa (especies, tasa de dilución de la muestra, tipo de cámara de recuento, etc.).
Evaluar en la región central del cubreobjetos.	Comprobar el adecuado ajuste de luz y contraste.
Evaluar una nueva muestra si la motilidad en el campo varía considerablemente.	Cámaras de medición sin polvo, residuos, humedad.
Evaluación en una escala de 0-100%	Si los campos de medición se seleccionan manualmente, los campos de observación seleccionados deben estar en el centro de la cámara.

EVALUACIÓN DE LA AGLUTINACIÓN

La aglutinación se puede evaluar al mismo tiempo que se evalúa la motilidad/morfología. La mayoría de los laboratorios de andrología usan las categorías descritas en la Tabla 2.7 en donde los eyaculados con puntuación 3 no se recomiendan para procesamiento. El diluir la muestra evaluada puede ayudar a reducir la aglutinación.

TABLA 2.7: PUNTUACIÓN DE LA AGLUTINACIÓN DEL EYACULADO

PUNTUACIÓN	DESCRIPCIÓN (PORCENTAJES EXPRESADOS EN CÉLULAS AGLUTINADAS DENTRO DEL CAMPO DE VISIÓN)
0	Ninguna
1	Leve (<10%)
2	Moderada (10-30%)
3	Severa (>30%)

EVALUACIÓN DE LA MORFOLOGÍA ESPERMÁTICA

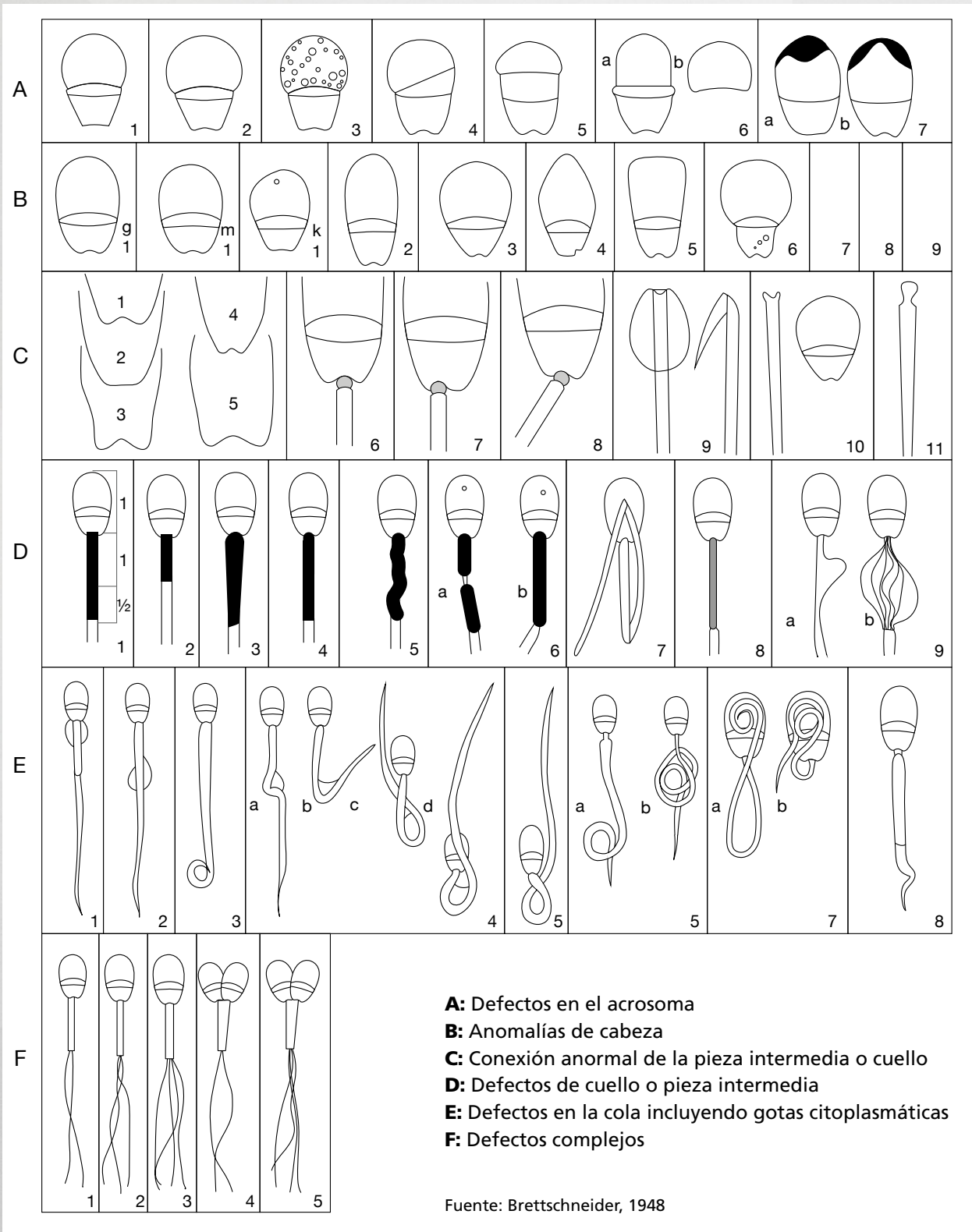
La morfología espermática se puede evaluar usando un sistema CASA con evaluación automática de la morfología o con métodos microscópicos manuales. La precisión de los resultados depende del número de células analizadas. El ejemplo que se muestra en la Tabla 2.8 destaca cómo las células anormales mínimas y máximas contadas depende del número total de células observadas. En términos generales, a mayor número de células contadas más cercano será el resultado al valor real. Esta relación se vuelve crucial a medida que los resultados de la evaluación del eyaculado se acercan a los umbrales mínimos (ver el área enmarcada en la tabla).

TABLA 2.8: PRECISIÓN DE LOS RESULTADOS DE LA EVALUACIÓN MORFOLÓGICA DE LAS CÉLULAS ESPERMÁTICAS

CÉLULAS CONTADAS % ANORMAL	100		200		500	
	MÍN	MÁX	MÍN	MÁX	MÍN	MÁX
0	0.00	3.60	0.00	1.80	0.00	0.70
1	0.00	5.40	0.10	3.60	0.30	2.30
2	0.20	7.00	0.60	5.00	1.00	3.60
3	0.60	8.50	1.10	6.40	1.70	4.90
4	1.10	9.90	1.70	7.70	2.50	6.10
5	1.60	11.30	2.40	9.00	3.30	7.30
6	2.20	12.60	3.10	10.20	4.10	8.50
7	2.90	13.90	3.90	11.50	4.90	9.60
8	3.50	15.20	4.60	12.70	5.80	10.70
9	4.20	16.40	5.40	13.90	6.60	11.90
10	4.90	17.60	6.20	15.00	7.50	13.00
15	8.60	23.50	10.40	20.70	12.00	18.40
20	12.70	29.20	14.70	26.20	16.60	23.80
25	16.90	34.70	19.20	31.60	21.30	29.00
30	21.20	40.00	23.70	36.90	26.00	34.20
35	25.70	45.20	28.40	42.00	30.80	39.40
40	30.30	50.30	33.20	47.10	35.70	44.40
45	35.00	54.30	38.00	52.20	40.60	49.50
50	39.80	60.20	42.90	57.10	45.50	54.50

Es importante mencionar que la evaluación automática de la morfología por los sistemas CASA depende de las configuraciones y de capacidad del equipo para detectar diferentes anomalías. La mayoría de los sistemas CASA son capaces de detectar gotas citoplasmáticas y colas dobladas/enrolladas, pero no defectos en el acrosoma o alteraciones de la cabeza. El Gráfico 2.2 entrega un resumen de las diferentes anomalías espermáticas.

GRÁFICO 2.2: RESUMEN DE LAS DIFERENTES ANOMALÍAS ESPERMÁTICAS



En los procedimientos normales del centro no se requiere diferenciar todas las anomalías mencionadas en la tabla anterior. Para simplificarlo, se puede usar la Tabla 2.9 para tomar nota de eyaculados evaluados manualmente.

TABLA 2.9: TABLA RUTINARIA DE MORFOLOGÍA

MORFOLOGÍA	RECuento	% DEL TOTAL
Células normales		
Alteraciones de cabeza (incluyendo acrosoma)		
Gotas citoplasmáticas (proximal y distal)		
Defectos de cola		
Otros defectos		

PREPARACIÓN DE MUESTRAS FIJADAS/TEÑIDAS

Existen dos métodos para preparar las muestras que serán analizadas para detectar células anormales: sin tinción, preparación húmeda; y las con tinción y preparación seca. Ambas técnicas tienen ventajas y desventajas las cuales son enumeradas en la Tabla 2.10 de a continuación.

TABLA 2.10: COMPARACIÓN ENTRE PREPARACIÓN HÚMEDA SIN TINCIÓN Y FROTIS/EXTENDIDO TEÑIDO

SIN TINCIÓN, PREPARACIÓN HÚMEDA	FROTIS TEÑIDO
Rápido/fácil de hacer	Buen contraste para detectar anomalías celulares
Células flotan → diferenciar las gotas citoplasmáticas "reales" de gotas flotando libremente	La preparación de la muestra es ligeramente más compleja/requiere más tiempo
Células en movimiento → evaluación ligeramente más difícil	Las células son fáciles de analizar ya que están en una posición fija
Sin almacenamiento de portaobjetos fijados	Almacenamiento de muestras fijadas
Almacenar la muestra de semen fijado en un tubo de muestra	

SIN TINCIÓN, PREPARACIÓN HÚMEDA

La técnica sin tinción, preparación húmeda, es adecuada para el examen por contraste de fases o iluminación de contraste diferencial interferencial (DIC). Las células espermáticas se pueden examinar en cualquier medio transparente. La motilidad se puede detener agregando 10µl de formaldehído¹ al 1.5% a 1ml de suspensión espermática (fresca) (para eyaculados diluidos use solo 500µl). Colocar una gota pequeña (por ejemplo, 5µl) en el portaobjetos y taparlo cuidadosamente con un cubreobjetos grande (por ejemplo, 22x40mm). La monocapa delgada que se forma indica que los espermatozoides se mantendrán en el mismo plano focal y moviéndose menos que si estuvieran en una capa más gruesa. Cuando se usa inmersión en aceite, se transfiere un poco de presión a través del aceite al cubreobjetos al enfocar. Si la capa de suspensión de esperma es gruesa, el esperma será desplazado fuera del campo de visión.

¹El formaldehído solo debe ser usado por veterinarios o después de recibir un entrenamiento especial en cuanto a las normas de salud y seguridad que se deben seguir al manipular este producto químico

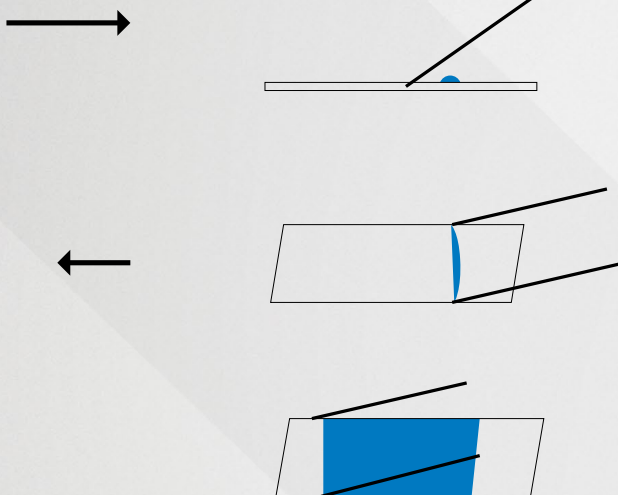
PREPARACIÓN TEÑIDA

Esta técnica solo usa portaobjetos de vidrio lisos para la preparación. El portaobjetos y la tinción deben estar a temperatura ambiente. Colocar una gota de semen fresco y dos gotas de tinción (la más usada es Eosina-Nigrosina) sobre un portaobjetos de microscopio. Mezclar las gotas suavemente con el borde de otro portaobjetos. Usando el borde o la esquina del portaobjetos, transfiera un pequeño volumen del semen fijo y teñido a un portaobjetos limpio, colóquelo cerca de uno de los extremos, dejando espacio para etiquetarlo.

Usando otro portaobjetos nuevo (extensor) coloque el borde corto del extensor por delante de la gota. Mantenga todo el borde en contacto con el portaobjetos y retroceda hasta que haga contacto con la gota de semen teñido. Espere hasta que el semen se extienda por todo el ancho del portaobjetos y luego deslice el extensor en un ángulo de 45° a lo largo de todo el portaobjetos para crear el frotis. El frotis no debe ser muy delgado (este no es un frotis de sangre) o demasiado grueso (puede dificultar la apreciación de la tinción diferencial).

Inmediatamente después de que el frotis se haya secado con el aire (sin calor adicional), revíselo usando un objetivo de bajo poder. Si contiene demasiados o muy pocos espermatozoides, o insuficiente o demasiado contraste, prepare un nuevo frotis. El frotis debe tener apariencia homogénea. Cada campo de bajo poder (bajo aumento) debería contener espermatozoides. Campos de bajo poder con cero, o solo uno o dos espermatozoides, significa que en un portaobjetos bajo inmersión en aceite será muy difícil encontrar espermatozoides. En el otro extremo, la densidad del esperma no debe ser tan alta como para que los espermatozoides estén superpuestos unos sobre otros. Esto haría muy difícil el examinarlos claramente.

GRÁFICO 2.3: INSTRUCCIONES DE CÓMO PREPARAR UN FROTIS



Se requiere práctica para preparar y evaluar los frotis. Un buen frotis se caracteriza por:

- Suficientes células por campo de visión (mín. 5 con aumento de 1,000x)
- Sin células superpuestas
- Suficiente contraste para ver todos los detalles de las células
- Fácil de enfocar (solo una capa de células)

EVALUACIÓN MANUAL DE LAS MUESTRAS

La evaluación de muestras se debe hacer con un microscopio de luz y platina móvil y aumento de 1,000x e inmersión en aceite. Requiere práctica el "encontrar" células con este aumento. Comience enfocando células espermáticas con un aumento de 100x o 200x. Al cambiar a 1,000x desde un aumento más bajo, solo se necesita un pequeño ajuste para enfocar las células. Para estimar el porcentaje de células anormales en el eyaculado, se deberían contar y evaluar como mínimo 100 células (preferiblemente 2 x 100 células). Como punto de partida, encuentre un punto en el frotis donde las células no estén superpuestas. Comience en el extremo superior izquierdo del campo, siga una línea imaginaria hacia la derecha y evalúe cada célula sobre esa línea. Luego baje una línea y continúe evaluando de derecha a izquierda en zigzag a través del campo. Luego muévase al siguiente campo y continúe el proceso hasta que haya evaluado el número seleccionado de células. Si una célula muestra más de una anomalía, solo cuente la más severa. Las anomalías de cabeza y acrosoma tienen la mayor probabilidad de ser seguidas por gotas citoplasmáticas y defectos de cola.

El tiempo es un factor crítico cuando se realiza la evaluación morfológica durante la producción de semen. En este caso, una evaluación con aumento 650x y sin inmersión en aceite sería suficiente.

CONSIDERACIONES PARA TRABAJAR CON SISTEMAS DE ANÁLISIS AUTOMÁTICO DE LA MORFOLOGÍA CASA

Los sistemas CASA difieren en los tipos de anomalías espermáticas capaces de detectar. La mayoría identifica las gotas citoplasmáticas (proximal y distal) y colas dobladas/enrolladas. Generalmente, no identifica defectos en el acrosoma y anomalías de cabeza. Tenga esto en cuenta cuando configure el umbral máximo permitido de porcentaje de espermatozoides anormales. Contacte al proveedor CASA para mayor información sobre la función automática de análisis de morfología. La gran ventaja del análisis automático de la morfología es que se puede analizar una mayor cantidad de células en menor tiempo y las estimaciones calculadas tienen mayor exactitud.

CONSERVACIÓN DEL SEMEN

Los eyaculados frescos tienen corta vida después de su recolección, por lo tanto, es necesario agregar diluyente de semen para conservar su capacidad para fertilizar a los oocitos. Generalmente, los diluyentes conservan el semen por hasta 3-7 días después de la recolección. La tasa de dilución del eyaculado fresco (cuántas dosis de semen se producen) depende del recuento de células predeterminado por dosis de IA. El diluyente de semen es como la "columna vertebral" de las dosis de semen y debe prepararse con cuidado.

El agua usada para preparar el diluyente debe ser purificada (agua tipo I ASMA o equivalente) y sin bacterias. Puede producirse en el sitio con un sistema de purificación de agua o comprarse a un proveedor confiable. En la Sección III, Tabla 3.5-3.6 se encuentran las especificaciones mínimas para la calidad del agua.

El diluyente se debe preparar para el día de producción en contenedores de acero inoxidable el cual puede estar equipado con un revestimiento desechable de plástico para mayor higiene.

Las instrucciones básicas para preparar el diluyente son:

- Coloque en un contenedor la cantidad necesaria de agua purificada
- Cuando el agua alcance la temperatura adecuada (según instrucciones del fabricante; normalmente alrededor de 35°C/95°F), agregue la cantidad indicada de polvo y mezcle bien. La agitación manual y/o recirculación de agua ayudará a disolver el polvo.
- El momento para usar la preparación de diluyente varía según el producto (consultar las instrucciones del fabricante).
- Antes de usarlo, verifique que se haya disuelto todo el diluyente en polvo
- Antes de usar el diluyente, compruebe que esté correcta la proporción agua-diluyente usando un medidor de conductividad o TDS o un refractómetro (Para instrucciones ver Apéndice D).
- Use un medidor de pH como un control adicional de la preparación del diluyente. Determine el valor adecuado de acuerdo a las especificaciones del fabricante.
- Después de diluir el primer eyaculado del día, verifique que la motilidad espermática esté dentro del rango normal. Repita estos procedimientos 2 horas después de la dilución como control adicional de la calidad del diluyente.
- Una vez que termina la producción, asegúrese de limpiar todos los contenedores, tubos y pipetas que estuvieron en contacto con el diluyente. Encontrará mayores detalles en la Sección III, Capítulo "Limpieza y Desinfección".

CANTIDAD DE CÉLULAS DESTINADAS POR DOSIS

El número de células por dosis varía entre centros y está influenciado por múltiples factores. No se puede dar una recomendación general para esto. Lo más común alrededor del mundo son recuentos entre 1.5 y 3 billones por dosis y un volumen de 30-100 ml. La concentración de células por dosis no debe ser mayor a 60 millones de células por milímetro, ya que podría reducir la vida útil.

Existen dos maneras distintas de expresar la cantidad de células por dosis:

1. TOTAL DE CÉLULAS ESPERMÁTICAS POR DOSIS

Calcular el total de células espermáticas por dosis y verificarlo días después de que la dosis ha sido producida es simple, ya que el número de células no cambia con el tiempo. El número de dosis, con una cantidad definida de células totales, que se producen a partir de un eyaculado se calcula de la siguiente manera:

Volumen Eyaculado (ml) * Concentración de células espermáticas (Mill/ml)

Recuento de células destinadas por Dosis (Millones de células cells)

La cantidad de diluyente (en ml) que se debe agregar al eyaculado fresco se calcula de la siguiente manera:
(Dosis a producir to produce (ver arriba) * volumen de la dosis (ml)) – volumen del eyaculado (ml)

2. CÉLULAS ESPERMÁTICAS VIABLES¹ POR DOSIS

El objetivo de células espermáticas viables por dosis define un cierto número de células móviles con morfología normal por dosis. Generalmente hay una correlación entre las células no-móviles y aquellas con defectos morfológicos. Para definir el número de células "no-viables" se usa una puntuación compuesta calculada (ver fórmula de abajo). Ya que esperamos que solo las células normales móviles sean capaces de fertilizar un oocito, este cálculo tiene más sentido que la expresión del total de células espermáticas por dosis. Sin embargo, es difícil evaluar las dosis para el correcto recuento de células viables ya que la motilidad disminuye con el tiempo. Cuanto más tarde se analice la dosis después de la producción, menor será el número de células viables presentes. No hay manera de determinar si la cantidad destinada de células viables fue agregada inicialmente. El número de dosis con un destinado recuento de células viables que se producen a partir de un eyaculado se calcula de la siguiente manera:

$$\begin{aligned} \text{Puntuación Compuesta} &= \text{Células móviles (\%)} * \text{Células con morfología normal (\%)} \\ \text{Células viables (Millones)} &= \text{Puntuación Compuesta} * \text{Volumen (ml)} * \text{Concentración (M/ml)} \end{aligned}$$

Los cálculos para el número de dosis a producir y la cantidad de diluyente a agregar son iguales a lo mencionado anteriormente para los cálculos de células totales.

¹Tenga en cuenta que la definición original/científica de "células viables" difiere de la descrita en los párrafos anteriores, la que fue establecida en jerga de centros de IA. Células viables en el contexto científico son la que todavía están intactas (acrosoma y membrana plasmática intactas).

PROCESO DE DILUCIÓN DEL SEMEN SEMEN

Las estrategias más comunes para diluir el semen son la dilución en una fase y en dos fases. La diferencia está en la temperatura del diluyente cuando se agrega al semen fresco. Los pasos iniciales son iguales en ambos procesos:

- Realice la primera dilución del eyaculado fresco lo más rápido posible, pero máximo 15 minutos después de terminar la recolección.
- Garantice que la primera dilución se realiza en condición isotermal; eyaculado fresco y diluyente deben estar a la misma temperatura
- Mezcle el diluyente y el eyaculado en un recipiente adecuado y limpio. Lo más efectivo son jarros o cubetas especiales para mezclar el semen con un revestimiento desechable de plástico.

1. DILUCIÓN EN UN PASO

- Termine de diluir el eyaculado con diluyente a temperatura similar, dentro de 15 minutos después de la recolección.
- Alternativa cuando no es posible hacerlo en 15 minutos: Rápidamente prediluya el eyaculado fresco con diluyente a la misma temperatura (la proporción más común de eyaculado-diluyente es 1:1 a 1:3) y realice la dilución final a la misma temperatura tan pronto como sea posible.
- Envase rápidamente el semen.
- Enfríe a temperatura de almacenaje ($17 \pm 2^\circ\text{C}/63 \pm 3.6^\circ\text{F}$).

2. DILUCIÓN EN DOS PASOS

- Pre-diluya el eyaculado fresco con diluyente a la misma temperatura (proporción eyaculado-diluyente 1:1 a 1:3).
- Espere unos 15-20 minutos para que se equilibre a temperatura ambiente.
- Realice la dilución final con diluyente a temperatura no inferior a la temperatura ambiente ($20^\circ\text{C}/68^\circ\text{F}$).
- Envase rápidamente el semen.
- Enfríe a temperatura de almacenaje ($17 \pm 2^\circ\text{C}/63 \pm 3.6^\circ\text{F}$).

Estudios recientes (SCHULZE et al., 2013) indican una leve ventaja en la calidad de los eyaculados diluidos con el método isotérmico de un paso.

ENVASADO DEL SEMEN

La mayoría de las veces, el semen diluido se envasa en tubos o bolsas plásticas con la ayuda de máquinas de envasado. Debido al costo de las máquinas de envasado automático y a la baja producción, los centros de sementales más pequeños generalmente envasan manualmente las dosis de semen.

En general, los volúmenes de las dosis están entre 30 y 90 ml, dependiendo del tipo de IA que se debe realizar. Para la IA convencional, se recomienda un volumen de dosis de al menos 70 ml. La Tabla 2.11 resume las áreas más importante en las que hay que enfocarse al envasar las dosis de semen.

TABLA 2.11: ÁREAS CRÍTICAS DEL ENVASADO DE SEMEN

HIGIENE

Almacene las mangueras/bolsas limpias y secas hasta su uso

Garantice que todo lo que entra en contacto con el semen diluido esté:

- Limpio (desechable o desinfectado)
- No ha sido tocado con las manos (a menos que hayan sido recién desinfectadas)
- No es tóxico para el esperma

Cambiar las mangueras, platinas y agujas para envasar el semen diluido después de cada lote de eyaculado/semen.

Establezca protocolos de desinfección y esterilización adecuados para mangueras, platinas y agujas.

HOMOGENEIDAD

- Mezcle bien el semen diluido antes de envasar
- Si el proceso de envasado excede los 10 minutos, mezcle una vez más para evitar que se asiente el semen lo que causa variación en el número de células espermáticas por dosis.

VOLUMEN DE ENVASADO

- Revise el volumen predeterminado de envasado de las dosis durante el proceso de envasado para garantizar la precisión.
- Variaciones $> \pm 1$ ml deberían desencadenar la calibración/mantenimiento de las máquinas envasadoras

MANTENIMIENTO

- Limpie y desinfecte las máquinas envasadoras al final de cada día de producción.
- Cumpla con los intervalos de mantenimiento según las especificaciones del fabricante.

ENFRIAMIENTO DEL SEMEN

Las salas frías se usan para enfriar y almacenar el semen antes de su despacho. Mantenga la temperatura a $17 \pm 2^\circ\text{C}/63 \pm 3.6^\circ\text{F}$ y use ventiladores para garantizar la circulación de aire. Registre diariamente las temperaturas alta y baja en la sala de enfriamiento mediante el uso de un equipo de registro automático.

Para mover, almacenar y enfriar el semen se usan estantes de alambre o carros de transporte. El diseño de estas unidades favorece el flujo adecuado de aire frío y un enfriamiento uniforme de las dosis desde temperaturas de dilución a conservación.

Para bajar la temperatura de las dosis al rango deseado durante un periodo de tiempo apropiado es indispensable un sistema de enfriamiento con una adecuada circulación de aire dentro de la sala de frío.

EMPAQUE Y DESPACHO DE SEMEN

El objetivo de empacar el semen es proteger a las dosis contra temperaturas ambientales frías o tibias durante el proceso de envío y entrega, así como del daño físico, incluyendo la luz solar. La meta es mantener las dosis de semen a una temperatura de $17 \pm 2^\circ\text{C}/63 \pm 3.6^\circ\text{F}$ con fluctuaciones no mayores a $1^\circ\text{C}/2^\circ\text{F}$ hasta que sean usadas en la granja.

Si el semen es transportado por el mismo centro de sementales, la mejor opción es equipar el vehículo de entrega con neveras conectadas a la corriente del vehículo. Las unidades deberían tener la capacidad de enfriar y entibiar y tener una pantalla externa para controlar regularmente la temperatura interna. Un ventilador ayuda a la circulación del aire y a que la temperatura al interior de toda la nevera sea uniforme. Al colocar el semen en las neveras, deje suficiente espacio para la circulación de aire. El semen transportado en estas neveras no necesita materiales aislantes especiales de embalaje como cajas de espuma de poliestireno (hieleras). Para esta modalidad de transporte solo se requiere una doble bolsa plástica o de papel (sacar la bolsa externa antes de la entrega).

Si el semen se envía a través de servicios de envío (correos, UPS®, FEDEX®, etc.), o correo aéreo, estos vehículos por lo general no cuentan con temperatura controlada y el paquete puede estar expuesto a temperaturas extremas y/o fluctuaciones de la temperatura. Las siguientes medidas pueden atenuar las fluctuaciones de temperatura para proteger las dosis de semen:

- Asegúrese de que el semen esté a la temperatura final de almacenamiento antes de empacarlo.
- Empaque las dosis en una hielera de espuma de poliestireno con pared gruesa o en doble hielera.
- Use una lámina de papel de aluminio para cubrir la hielera interna (sistema de dos cajas) o la hielera única en el sistema de una caja. Además, la lámina de papel de aluminio también se puede usar como una capa interna para envolver directamente las dosis.
- Use paquetes de gel alrededor de las dosis para estabilizar el ambiente de transporte, ya que aportan tanto volumen como regulación de la temperatura para ayudar a mitigar las fluctuaciones. Los paquetes de gel a temperatura ambiente fría se deben colocar en contacto directo con las dosis de semen. Para mitigar la temperatura ambiente alta se pueden colocar paquetes de gel congelados en el espacio entre las dos hieleras (es decir, sistema de dos cajas). Por el contrario, cuando el envío se realiza con temperaturas ambientales bajas se pueden colocar paquetes de gel tibios en el espacio entre las hieleras.
- Coloque la hielera externa dentro de una caja de cartón para mayor protección.
- Agregue un pequeño aparato electrónico de registro de la temperatura para rastrear la temperatura interna durante el envío, el que ayuda a solucionar problemas en los procedimientos de embalaje y envío.
- Mantenga los tiempos de transporte del semen lo más cortos posible.

En el Apéndice E puede encontrar instrucciones detalladas.

ALMACENAMIENTO DEL SEMEN EN LA GRANJA

Idealmente, los servicios de mensajería o envío comercial deberían dejar el semen en un lugar fuera del sitio con el fin de mantener los altos niveles de bioseguridad, tanto para el sitio como para el centro de sementales. El punto de entrega puede tener una unidad de almacenamiento a 17°C/63°F donde el conductor deja la caja de envío. El personal de la granja debe saber cuando se produce la entrega para que se realice de manera oportuna su retiro y transferencia a la unidad de almacenamiento final, después del proceso de desinfección para los productos que ingresan (ver Sección I, Tabla 1.2).

A continuación se enumeran los puntos clave para el adecuado almacenamiento del semen en la granja:

- Almacene el semen a 17±2°C/63±3.6°F. Evite usar el semen almacenado fuera de este rango.
- Use refrigeradores con ventilador y protección de sobretensión que pueda entibiar y enfriar.
- Para un funcionamiento efectivo, coloque el refrigerador a una distancia mínima de 2.5cm/1 pulgada de la pared.
- Las rejillas del refrigerador deben ser abiertas para permitir el completo flujo de aire.
- Desempaque las dosis antes de colocarlas en la nevera/refrigerador para el semen.
- Almacene las dosis de semen horizontalmente y separadas unas de otras.
- Registre la temperatura del refrigerador del semen y quién revisa el inventario diario.
- Use varios termómetros digitales con lectores externos. Coloque los sensores en diferentes lugares del refrigerador (cerca del elemento de enfriamiento/calor, cerca de la puerta y al medio).
- Si es posible, use el semen dentro de los primeros tres días de producción y ordene nuevas dosis en base a sus existencias actuales.
- Lleve el semen al edificio de servicios en un contenedor aislado y use paquetes de gel a 17°C/63°F para mantener la temperatura.
- Solo lleve al edificio la cantidad de dosis que se usarán dentro de 1 hora. No devuelva dosis desde el edificio al refrigerador.
- Investigación reciente ha demostrado que no es necesario rotar diariamente las dosis de semen.

ASEGURAMIENTO DE LA CALIDAD Y CONTROL DE CALIDAD



Esta sección entrega información sobre cómo usar, calibrar y mantener los instrumentos de medición, así como su precisión. Además, entrega información sobre los procedimientos de limpieza y desinfección, así como de los programas adecuados de monitoreo por terceros.

DEFINICIONES

El aseguramiento de la Calidad (QA, sus siglas en Inglés) es una manera de prevenir errores, evitar problemas y crear confianza en que se cumplirán los requisitos de calidad. La prevención de problemas de calidad (es decir, proceso proactivo) difiere sutilmente del control de calidad (QC, sus siglas en Inglés), donde el objetivo es detectar productos de calidad inferior a la norma e implementar los cambios necesarios para mejorar (es decir, proceso reactivo). Mientras que el QC prueba principalmente productos finales, el QA prueba procesos críticos que contribuyen a la calidad del producto final. Usamos dos principios básicos para QA: "Adecuado para sus fines" (el producto debe ser adecuado para el propósito para el que fue creado); y "correcto a la primera" (se deben eliminar los errores). En esta sección discutiremos estos principios en relación a la producción de dosis de semen.

MANTENIMIENTO Y CALIBRACIÓN DE LOS EQUIPOS E INSTRUMENTOS

En los centros de sementales se usan muchos aparatos técnicos. La falla de un equipo puede retrasar el término del día de producción y, también, afectar la calidad del producto, ya que muchos de estos equipos son importantes para determinar la calidad del eyaculado.

Un ejemplo es el uso de pipetas o dosificadores usados medir la concentración de células espermáticas al preparar la muestra de eyaculado diluido. Si los volúmenes dispensados no son exactos, la dilución será incorrecta y la medición de la concentración dará como resultado una sub o sobreestimación de la concentración. Esto puede resultar en dosis que no contienen la suficiente cantidad de células espermáticas para una óptima fertilización.

Cuanto más dependemos de un equipo, más importante es el uso de una lista de control diario, semanal o mensual para los diferentes equipos y el desarrollo de un plan de calibración y mantenimiento. Además, es importante contar con un protocolo alternativo para cuando fallen los equipos. En la Tabla 3.1 se entrega un ejemplo para la programación de control, limpieza, mantenimiento y calibración de los equipos importantes del laboratorio. Para QA esta programación debe ir acompañada de instrucciones específicas por equipo/instrumento en cuanto a cómo realizar los controles, limpieza, mantenimiento y cuándo es necesario calibrar y cómo se debe hacer.

TABLA 3.1: PROGRAMA DE CONTROL, LIMPIEZA, MANTENIMIENTO Y CALIBRACIÓN

SERVICIO/CALIBRACIÓN EN LA FECHA PREVISTA	REVISAR	LIMPIEZA ¹	MANTENIMIENTO INTERNO ²	SERVICIO ²	CALIBRACIÓN ³	OBSERVACIÓN
Balanzas	Diariamente	Diariamente		1 vez al año	1 vez al año	Requiere pesos estándar
Pipetas y dosificadores manuales	Diariamente	Diariamente	Mensualmente	2 vez al año	2 vez al año	
Dosificadores automáticos	Diariamente	Diariamente	Semanalmente	1 vez al año	1 vez al año	Según instrucciones del fabricante
Espectrofotómetro	Diariamente	Diariamente	Trimestralmente	2 vez al año		
Platina del microscopio temperada	Diariamente	Diariamente				Se requiere termómetro calibrado
Placas calefactoras	Diariamente	Diariamente	Mensualmente			
Artefactos de calentamiento contenedores/cubetas para diluyente	Diariamente	Diariamente	Mensualmente			
Bloques de calentamiento	Diariamente	Diariamente	Mensualmente			
Esterilizador calor seco	Diariamente	Diariamente	Semanalmente			Según instrucciones del fabricante
Refrigeradores y unidades de almacenamiento de semen	Diariamente	Mensualmente	4 veces al año			Termómetro mín-máx
Termómetros	Diariamente	Diariamente	Mensualmente	Reemplazar		
Medidor de TDS-conductividad	diariamente	Diariamente	Mensualmente	2 vez al año		
pH-metro	Diariamente	Diariamente	Mensualmente	2 vez al año		
Microscopios (CASA)	Diariamente	Diariamente	Semanalmente	1 vez al año		
Aire acondicionado	Diariamente	Mensualmente	4 veces al año	2 vez al año		Reemplazar los filtros mensualmente

¹Limpieza completa mínima requerida

²Siga las instrucciones del fabricante y contemple la intensidad de uso

^{3,4}Tasa de calibración mínima; Se requiere calibración adicional cada vez que el equipo esté fuera de la meta

BALANZAS

La precisión de una balanza indica la capacidad de entregar consistentemente resultados lo más cercano posible al valor real. En la mayoría de los centros de sementales hay muchas balanzas, todas con distintas especificaciones y capacidades para rangos de pesos. Las especificaciones dependen de lo que se necesite pesar y qué tan precisa debe ser la medición. La Tabla 3.2 enumera las balanzas más usadas en los laboratorios.

TABLA 3.2: DESCRIPCIÓN DE VARIAS BALANZAS

A MEDIR	RANGO DE PESAJE	SENSIBILIDAD
Precisión de la pipeta/dosificador y repetibilidad del técnico	0-50 g (balanza analítica/balanza de precisión) ¹	0.0001 g / 0.1 mg
Peso diluyente en polvo	0-5,000 g;	1 g / 1,000 mg
Volumen eyaculado	0-1,000 g	1 g
Administración de diluyente al eyaculado	0-5,000 g;	1 g / 1,000 mg
Volumen tubo/bolsa	0-100 g	0.1 g / 100 mg
Peso del paquete	0-20 kg/0-20,000 g	0.1 kg / 100 g

¹Esta es la escala usada para verificar la precisión y repetibilidad de las pipetas/dosificadores

Revisar cada día de producción todas las balanzas antes de su uso, usando pesos estándar. Coloque en la balanza uno o más pesos estándar igual a la carga (rango de), lea la medición y retire el peso de la balanza. Compruebe la precisión. Este procedimiento se debe repetir varias veces antes de usar las lecturas para producción. Una vez que la balanza esté encendida y pre-calentada se logrará mejor repetibilidad.

Las balanzas pueden ser muy precisas, incluso si se usan sin ejercitarlas primero, pero se obtienen mejores resultados realizando el procedimiento de "pre-calentamiento". La precisión se puede calcular tomando 5-10 mediciones y calculando el promedio. La diferencia relativa (%) entre el promedio y el peso estándar es la precisión.

EJEMPLO DE CÁLCULO DE PRECISIÓN PARA UNA BALANZA ANALÍTICA/DE PRECISIÓN:

Precisión (%) = $100 \times ((\text{Peso promedio} - \text{peso estándar}) / \text{peso estándar})$

Peso estándar = 2.00g

Peso promedio = 2.02g

Precisión (%) = $100 \times ((2.02 - 2.00) / 2.00)$ (%) = $100 \times ((0.02) / 2.00)$ (%) = $100 \times ((0.01))$ (%) = 1%

La Tabla 3.3 muestra las tolerancias para los pesos estándar (máxima desviación tolerada de la lectura versus el peso estándar). Si el promedio cae fuera de la desviación tolerada, la balanza necesita calibración. En nuestro ejemplo anterior, la balanza está un 1% fuera de la meta mientras que la tolerancia (máxima) es 0.06% (ver Tabla 3.3). Por lo tanto, la balanza necesita ser calibrada nuevamente. La decisión de volver a calibrar depende de cuánto afecta la imprecisión al producto final.

Por ejemplo, si prueba una balanza (5 kg) para administrar diluyente, la tolerancia es 0.01%. Por lo tanto, si la falta de precisión es 0.1% (5 grs), el efecto sobre el producto final es insignificante. Estaría dentro del volumen de variación aceptable de una máquina envasadora.

TABLA 3.3: TOLERANCIAS PARA VALORES DE MEDICIÓN DE PESOS ESTÁNDAR

PESO	TOLERANCIA	TOLERANCIA (%)	PESO	TOLERANCIA	TOLERANCIA (%)
5kg	0.5g	0.01%	2g	1.1mg	0.06%
3kg	0.3g	0.01%	1g	0.9mg	0.09%
2kg	0.2g	0.01%	500mg	0.72mg	0.14%
1kg	0.1g	0.01%	300mg	0.61mg	0.20%
500g	70mg	0.01%	200mg	0.54mg	0.27%
300g	60mg	0.02%	100mg	0.43mg	0.43%
200g	40mg	0.02%	50mg	0.35mg	0.70%
100g	20mg	0.02%	30mg	0.3mg	1.00%
50g	10mg	0.02%	20mg	0.26mg	1.30%
30g	6mg	0.02%	10mg	0.21mg	2.10%
20g	4mg	0.02%	5mg	0.17mg	3.40%
10g	2mg	0.02%	3mg	0.14mg	4.67%
5g	1.5mg	0.03%	2mg	0.12mg	6.00%
3g	1.3mg	0.04%	1mg	0.1mg	10.00%

Fuente: Instituto Nacional de Estándares y Tecnología (NIST, sus siglas en Inglés); Instructivo NIST 2003 105-8

CALIBRACIÓN

Calibración es la comparación entre el resultado de una balanza o pesa y el valor estándar. La calibración requiere de un peso estándar y el peso se debe ajustar a "modo calibración". Dependiendo de la balanza puede hacerlo usted mismo (siguiendo las instrucciones del manual) o hacer que lo haga una compañía especializada (lo más recomendable).

DOSIFICAR CON PIPETAS O DOSIFICADORES AUTOMÁTICOS

En la mayoría de los casos se deben diluir las muestras de semen fresco antes de medir la concentración o analizar la motilidad y morfología. Errores en la dilución pueden tener un profundo efecto en el número de células por dosis.

Ya sea que use un dosificador automático, una botella con punta dosificadora o pipeteas, es importante revisar la precisión del instrumento antes de la producción diaria, para probar la repetibilidad de un técnico, y para probar la reproducibilidad entre técnicos de manera frecuente (se sugiere mínimo 1 vez al mes). Los puntos de a continuación describen cómo probar la precisión y repetibilidad de un dosificador:

- Use una balanza de precisión/analítica (probada con pesos estándar) y haga 5-10 mediciones antes de comenzar el procedimiento.
- Dosifique 10 veces el volumen requerido (agua) cambiando la punta de la pipeta (si aplica) antes de cada aspiración de líquido.
- Registre los resultados en un programa de hoja de cálculo.
- Calcule el promedio y desviación estándar para las 10 mediciones
 - Exactitud (error sistemático %) = $100 \times ((\text{peso promedio} - \text{peso esperado}) / \text{peso esperado})$.
 - Variación (error aleatorio) expresado como coeficiente de variación (CV %) (CV %) = $100 \times (\text{Desviación Estándar de la mediciones} / \text{Promedio de las mediciones})$.
 $100 \times (\text{Standard Deviation measurements} / \text{Average measurements})$.
- Tenga en mente lo siguiente cuando interprete los resultados The smaller the dispensing volume, the larger the systematic and random error to be expected.
 - A menor volumen de dosificación, mayor es el error sistemático y aleatorio esperado.
 - La exactitud depende de la calidad, uso correcto y mantenimiento adecuado de las pipetas/dosificadores.
 - La repetibilidad depende de la técnica de dosificación, calidad de la pipeta/dosificador y puntas de pipetas (si aplica). La Tabla 3.4 ilustra el error permisible máximo, tanto para exactitud (error sistemático) y repetibilidad (error aleatorio).

TABLA 3.4: ERROR SISTEMÁTICO Y ALEATORIO PERMISIBLE PARA DOSIFICADORES Y PIPETAS

MÁXIMO PERMISIBLE		ERROR SISTEMÁTICO		ERROR ALEATORIO	
VOLUMEN (µL)	VOLUMEN (ML)	± %	± µL	± %	± µL
1	0.001	5.0%	0.05	5.0%	0.05
2	0.002	4.0%	0.08	2.0%	0.04
5	0.005	2.5%	0.125	1.5%	0.075
10	0.01	1.2%	0.12	0.8%	0.08
20	0.02	1.0%	0.2	0.5%	0.1
50	0.05	1.0%	0.5	0.4%	0.2
100	0.1	0.8%	0.8	0.3%	0.3
200	0.2	0.8%	1.6	0.3%	0.6
500	0.5	0.8%	4.0	0.3%	1.5
1,000	1	0.8%	8.0	0.3%	3.0
2,000	2	0.8%	16	0.3%	6.0
5,000	5	0.8%	40	0.3%	15
10,000	10	0.6%	60	0.3%	30

Fuente: ISO 8655:2002

ESPECTROFOTÓMETRO

Muchos centros de sementales usan un espectrofotómetro para medir la concentración espermática del eyaculado, también conocida como densidad del eyaculado. La concentración se calcula en función de la cantidad de transmitancia de luz a través del semen versus la absorbancia del semen. Dado que esta es una forma indirecta de medición, la precisión del equipo debe medirse contra equipos/muestras de referencia donde la precisión ha sido probada y está dentro de los límites permisibles. Un espectrofotómetro normalmente se calibra usando muestras con diferentes concentraciones que han sido comprobadas con equipos y métodos de referencia.

El espectrofotómetro generalmente muestra una curva sigmoide y las mediciones tomadas solo serán confiables en la porción lineal de la curva. Es importante conocer las concentraciones mínimas y máximas que pueden ser medidas de manera confiable en dicho espectrofotómetro.

Para comprobar si un espectrofotómetro funciona correctamente todos los días, use como referencia muestras fijadas en formalina¹ (tanto de baja como de alta densidad). Las concentraciones espermáticas en semen fijado en formalina¹ (dilución 1:1) permanecen estables, por al menos 5 semanas, a concentraciones de 0.1 M/ml a 100 M/ml a 4°C/40°F (temperatura de refrigerador).

Tome una muestra a partir de las muestras de baja densidad y alta densidad fijadas en formalina¹, mida la concentración con el espectrofotómetro, y evalúe si el espectrofotómetro sigue siendo preciso.

¹Formaldehído solo debe ser usado por veterinarios o después de recibir un entrenamiento especial en cuanto a las normas de salud y seguridad que se deben seguir al manipular este producto químico.

Limpiar el espectrofotómetro todos los días y probarlo al menos una vez a la semana (preferiblemente todos los días). Realizar mantenimiento según las recomendaciones del fabricante y servicio técnico al menos dos veces al año (preferiblemente trimestralmente). Recomendamos analizar mensualmente la concentración de varias muestras de semen con un laboratorio de referencia para garantizar que el espectrofotómetro sigue siendo preciso.

Los laboratorios de referencia usan generalmente cuatro métodos para analizar la concentración de las muestras preparadas con el espectrofotómetro (u otro equipo) de su centro de sementales:

1. Conteo de células con un hemocitómetro

Se coloca una muestra dentro de una cámara de conteo celular. Una rejilla en la cámara representa un cierto volumen. Se cuenta el número de células en una cantidad estándar de rejillas y luego se calcula la cantidad de células por ml. Si por ejemplo una muestra se diluye 1:10 (11x; 1 parte de muestra + 10 partes de diluyente) y se cuentan 325 células en 5 cuadrados, el recuento total de células/ml se calcula de la siguiente manera:

Total de células/ml = $(325 \times 11 \times 10,000)/5 = 7.15$ Millones de células/ml

2. Mediante citometría de flujo
Una muestra se incuba con una sonda fluorescente de ADN de mamífero que se une al ADN de cerdo. Las células emitirán un signo fluorescente una vez que la sonda unida al ADN fluya a través de la máquina y sea medida. El número de células en la muestra se calcula en función de la intensidad total de la señal. Luego, la concentración de la muestra original se calcula usando un factor de dilución apropiado usado para preparar la muestra de citometría de flujo. Por lo general, este método es muy exacto ya que es una medición directa y se cuentan muchas células (>50,000). El citómetro de flujo no se considera un equipo básico para un laboratorio de IA, pero se pueden encontrar en centros profesionales de andrología externos.
3. Usando un Nucleocounter®
El Nucleocounter® sigue el mismo principio del citómetro de flujo. El Nucleocounter® no es tan exacto como el citómetro de flujo ya que cuenta un menor número de células (2,000-5,000). Sin embargo, como el costo del Nucleocounter® es significativamente más bajo que un citómetro de flujo, muchos centros de sementales cuentan con esta máquina y la usan como una referencia "interna" para la densidad de la dosis.
4. Usando CASA y Cámaras de Recuento
Las cámaras de recuento y los sistemas CASA se encuentran rutinariamente en los laboratorios de referencia y se usan para determinar la concentración de las dosis entregadas por los centros de sementales. Para mayor información en cuanto al uso del sistema CASA y cámaras de recuento vea Sección II, Capítulo "Evaluación del Semen".

ARTEFACTOS DE CALENTAMIENTO Y TERMÓMETROS

En la producción de semen muchos de los elementos usados necesitan ser entibiados o calentados. Esto se logra mediante dispositivos eléctricos de calentamiento en equipos tales como platina de microscopios, cubetas de diluyente y plataformas/bloques de calentamiento. El dispositivo de caliente puede ser programado a cierta temperatura, pero esto no garantiza que la temperatura programada es la temperatura deseada. Cuando la superficie es grande se pierde calor al medio ambiente y, por lo tanto, puede ser necesario hacer ajustes de temperatura para compensar. Al mismo tiempo, el ajuste de temperatura en el equipo puede ser incorrecta. Por lo tanto, es importante verificar diariamente la temperatura real con un termómetro calibrado.

Muchos centros de sementales usan termómetros infrarrojo (es decir, láser) porque son rápidos, prácticos y tienen bajo riesgo de contaminación comparado con los termómetros tipo varilla tradicionales que necesitan contacto directo con el objeto o líquido que se está midiendo. Sin embargo, los termómetros infrarrojos pueden ser menos precisos y menos repetibles que los métodos tradicionales, tales como los termómetros de contacto o de inmersión. La precisión y repetibilidad de los infrarrojos depende en gran medida de cómo se usa el instrumento, de la distancia al objeto/líquido, el ángulo en que se usa y la temperatura ambiente circundante. Un centro de sementales que usa termómetro infrarrojo debe seguir el método de operación descrito en el procedimiento operativo estándar. También se debe comparar con un termómetro calibrado.

CONDUCTIVIDAD/TOTAL DE SÓLIDOS DISUELTOS (TDS, SUS SIGLAS EN INGLÉS)-MEDIDOR

El agua usada para preparar el diluyente debe ser purificada (agua Tipo I). Como parte integral del programa QA de un centro de sementales, se debe verificar la proporción correcta de diluyente en polvo y agua antes de cada día de producción midiendo la conductividad o TDS. Analice el agua antes de agregar el diluyente el polvo. Posteriormente, mezcle bien y pruebe el diluyente preparado. Como la conductividad se ve afectada por la temperatura, la mayoría de los medidores cuentan con una corrección automática para esta variable. Sin embargo, es aconsejable comprobar el correcto funcionamiento del medidor con una solución estándar antes de efectivamente probar las muestras de agua y diluyente.

CALIBRACIÓN DE LA CONDUCTIVIDAD/MEDIDOR DE TDS:

5. Para reducir los errores producto del efecto de la temperatura, asegúrese de que la solución de calibración estándar esté a la misma temperatura que la solución que va a probar.
6. Vierta suficiente solución de calibración estándar (nivel de llenado $\geq 2.5\text{cm}$) dentro de un recipiente limpio y seco.

7. Quite la tapa de protección del medidor, dejando expuestos los electrodos de acero inoxidable.
8. Encienda el medidor y sumerja completamente los electrodos en la solución. Para evitar errores de medición, no atrape burbujas de aire alrededor de los electrodos.
9. Mantenga sumergidos los electrodos en la solución de calibración estándar hasta que se establezca la lectura.
10. Ajuste los botones de calibración para que la pantalla digital indique el mismo valor que la solución de calibración estándar.
11. Enjuague los electrodos con un volumen del líquido que va a ser probado. Para reducir el arrastre de contaminación desde la solución de calibración, no use la porción enjuagada como muestra de prueba. Este proceso elimina la necesidad de secar los electrodos del medidor. Si esto no fuera práctico, enjuague los electrodos con agua destilada y séquelos con papel absorbente limpio.

El medidor está ahora calibrado y listo para medir el TDS del agua y las muestras de diluyente. Diferentes medidores pueden tener leves diferencias en su modo de funcionamiento. Lea cuidadosamente las instrucciones del fabricante antes de usar el medidor.

PH-METRO (MEDIDOR DE PH)

Cada diluyente tiene su propio rango de pH aceptable. La mezcla adecuada/calidad del diluyente debe probarse con un medidor de pH calibrado. La calibración se realiza generalmente midiendo una serie de sustancias de referencia, denominados buffers (tampones de pH), que tienen valores conocidos y precisos a diferentes temperaturas. La prueba se puede realizar de la siguiente manera:

ANTES DE LA CALIBRACIÓN:

Limpie completamente los electrodos antes de la calibración. Si estaba guardado su electrodo, cerciórese que esté limpio y listo para ser usado según las recomendaciones del fabricante.

PRINCIPALES PASOS PARA UN PROCEDIMIENTO GENÉRICO DE CALIBRACIÓN DE PH:

12. Encienda el pH-metro y dele el tiempo necesario para que se caliente (revise el manual de funcionamiento).
13. Seleccione dos buffer de pH que soporten el pH de la muestra esperada (rangos de pH para los diluyentes de semen de sementales es entre 6.8 y 7.2). El primer buffer debe ser de pH 7.00 (cero punto de ajuste). El segundo buffer debe ser similar al pH de la muestra esperada.
14. Asegúrese que el sensor y la solución buffer estén a la misma temperatura. Si no es así, dé tiempo para que se igualen las temperaturas.
15. Vierta la cantidad requerida de solución buffer (tampón) dentro de vasos de vidrio o vasos precipitados individuales. La solución buffer permanecerá estable en un vaso precipitado por un máximo de 2 horas. Para minimizar la contaminación, no calibre el electrodo directamente en el contenedor de almacenamiento del buffer. Mantenga los contenedores del buffer cerrados para evitar la absorción de CO₂. No devuelva el buffer usado a la botella de almacenamiento.
16. Coloque el electrodo en el primer buffer. Cuando se establezca la lectura, fije al pH-metro al valor pH del primer buffer a la temperatura medida. La mayoría de los pH-metros modernos tienen una función de lectura automática para una detección temprana de la lectura estabilizada.
17. Enjuague el electrodo entre diferentes buffers con agua destilada seguido por el siguiente buffer. Otra alternativa es enjuagar el electrodo con agua destilada y secarlo suavemente con un pañuelo de papel absorbente sin pelusas. No frote o limpie el bulbo del electrodo.
18. Repita el paso 5 para la segunda solución buffer.
19. Cuando el pH-metro esté calibrado, enjuague el electrodo con el líquido de muestra y luego coloque el electrodo dentro de la muestra y mida el pH.

Consejos

- Entre usos, almacene los electrodos de pH en una solución de almacenamiento; guarde las sondas de TDS y de conductividad en un embalaje seguro según las instrucciones del manual de referencia.
- Use los manuales de instrucciones de todos sus equipos técnicos como material de referencia.
- Tenga a mano los repuestos de las piezas más importantes de los equipos.
- Para equipos y procedimientos importantes, practique métodos alternativos una vez al mes para tener una rutina de respaldo en caso de que ocurriera algo inesperado.

CALIDAD DEL AGUA

Para la preparar el diluyente de semen se requiere agua calidad tipo I A (normas ASTM). La Tabla 3.5 muestra las especificaciones químicas y microbiológicas para el agua Tipo I A.

TABLA 3.5: ESPECIFICACIONES DE LA CALIDAD DEL AGUA PARA LA PRODUCCIÓN DE DILUYENTE:

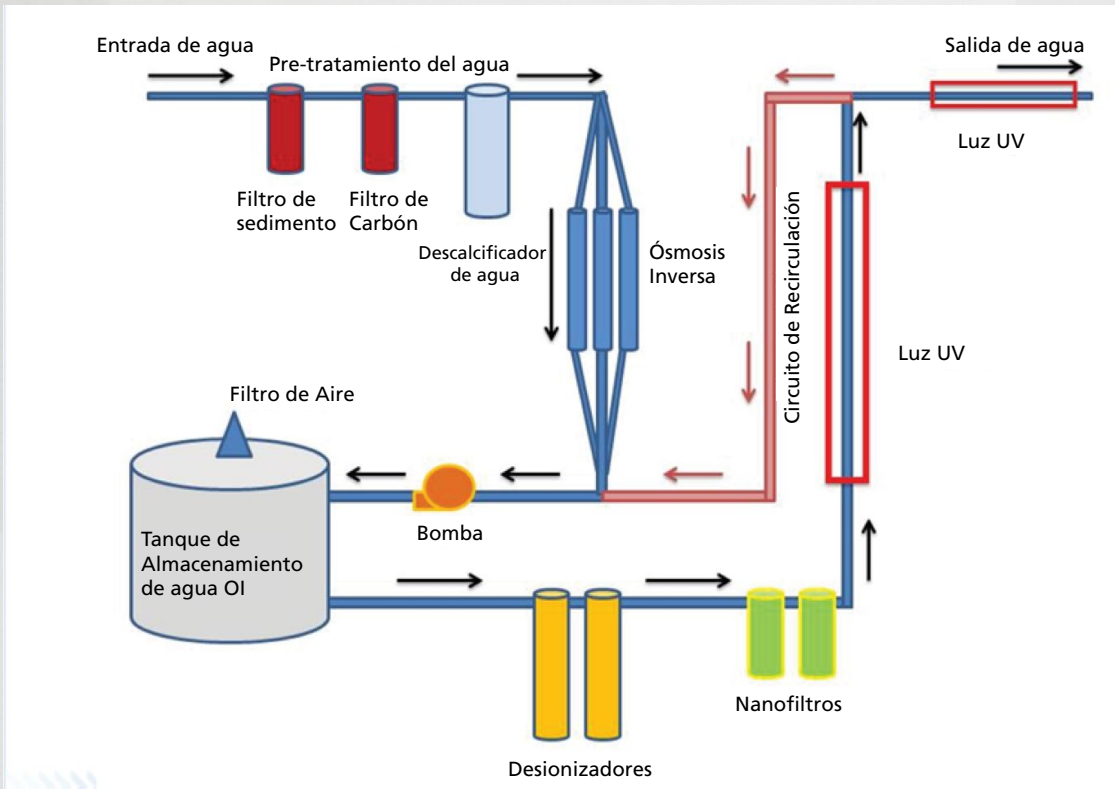
ESPECIFICACIONES QUÍMICAS	TIPO I
Resistividad (MΩ -cm) a 25° C	>18
Conductividad (μS/cm)	< 0.056
Carbono orgánico total (ppb)	<50
Sodio (ppb)	<1
Cloruro (ppb)	<1
Silicio total (ppb)	<3
ESPECIFICACIONES MICROBIOLÓGICAS	TIPO A
Recuento de Bacterias Heterótrofas (CFU/ml)	<1
Endotoxinas (unidades por ml)	<0.03

SISTEMA DE PURIFICACIÓN DE AGUA

La selección del sistema de purificación de agua se basa frecuentemente en factores tales como rentabilidad, calidad del agua local, evaluación de riesgos, disponibilidad de proveedores locales y servicio/repares de rutina. En general, la elección se debería basar en la calidad del sistema, disponibilidad local de servicio técnico, capacidad necesaria (agua producida en litros por hora) y en facilidad de uso, incluyendo facilidad de desinfección. Hay varios principios que se deberían seguir para instalar los sistemas de purificación de agua:

- Prevenir la formación de biopelícula (biofilm):
 - Evite las vías sin salida. Instale un circuito de recirculación para el movimiento continuo del agua
 - Use una manguera/tubo flexible para limitar el número de codos
 - Limite el número de conexiones y válvulas
 - Instale un tanque de almacenamiento de agua con forma cónica
- Mantenga lo más corta posible la distancia entre el sistema y el grifo de agua
- Mantenga la esterilización UV (para eliminar el crecimiento microbiológico) y los filtros de 0.2 micras (si es posible 0.1 micra) lo más cerca posible del grifo de agua antes y después del tanque de almacenamiento
- Instale llaves de recirculación especializadas dentro del circuito de recirculación (las llaves de agua están disponibles comercialmente)
- Use un tanque de almacenamiento de agua cónico de fácil acceso y fácil de limpiar
- Siga los procedimientos de limpieza y desinfección adecuados
 - La frecuencia de limpieza y desinfección se basa normalmente en el nivel microbiológico, pero debe realizarse al menos 4 veces al año (incluyendo el tanque y las membranas de ósmosis inversa)
 - Diseñe un procedimiento de desinfección de todo el sistema con la ayuda del fabricante o proveedor, o contrate a un especialista local.
 - Use productos especiales de limpieza y desinfección para las membranas de ósmosis inversa (el producto debe ser compatible con las membranas de OI)
 - Conecte al sistema un tanque de inducción para introducir de manera segura de los productos de limpieza y desinfección
 - Descargue el sistema después de la desinfección para prevenir la presencia persistente de residuos; y use tiras reactivas para garantizar la efectividad del procedimiento
- Lleve a cabo controles microbiológicos por terceros
- Reemplace los filtros después de la desinfección
- Reemplace las resinas desionizadoras después de la desinfección
- Si necesita una manguera en el grifo, use una manguera de silicona fácil de esterilizar después de su uso
- Antes de llenar el contenedor para el diluyente, deje correr el agua del grifo por unos segundos para que arrastre cualquier bacteria presente en la llave de agua

GRÁFICO 3.1: PRINCIPIOS DE UN DISEÑO DE SISTEMA DE PURIFICACIÓN DE AGUA RECIRCULANTE



AGUA DE RESPALDO O CONTINGENCIA

El centro de sementales debe tener una fuente de agua tipo I A de respaldo en caso de que falle el sistema primario. Gerencia debe determinar el volumen de agua de respaldo y debe considerar el volumen de producción, días de producción por semana (es decir, fines de semana versus días de semana y el número de días consecutivos de producción), disponibilidad local de partes y servicio para el sistema de agua, capacidad para reponer rápidamente el agua de contingencia si el sistema primario permanece fuera de servicio por un periodo prolongado, y el periodo de tiempo estimado en que el sistema primario puede estar fuera de servicio antes de ser reparado (es decir, el peor escenario).

El agua de respaldo puede ser traída desde una fuente externa y almacenada en el sitio hasta su fecha de vencimiento, momento en que debería ser reemplazada. Otra alternativa sería mantener en el sitio dos sistemas de agua independientes, cada uno usado para producir agua de la misma calidad. Aún cuando el sistema secundario puede producir menos litros por hora, es capaz de sustituir al sistema primario durante varios días de producción si fuera necesario.

CALIDAD DE LA FUENTE DE AGUA

La calidad de la fuente de agua, también denominada "agua cruda" (agua que se usa para producir agua purificada), es otro factor importante que determina la necesidad de comprar agua o de tener un sistema de purificación de agua en el sitio. Recomendamos realizar análisis frecuentes para determinar y monitorear la calidad de la fuente de agua. Aún cuando se pueden filtrar muchos minerales y sustancias del agua, la mala calidad de la fuente de agua puede poner en peligro la producción de agua y, por ende, la calidad del diluyente. Esto afectará negativamente la calidad del semen. Si la fuente de agua cumple con los requisitos de calidad para agua potable, entonces está apta para su uso en los sistemas de purificación de agua de los centros de sementales. En internet están disponible las normas para el agua potable con extensas tablas y los máximos de contaminantes permitidos. A menudo los proveedores proporcionan los resultados de las pruebas al agua potable pública. Cuando se usa un pozo privado como fuente de agua es necesario analizar frecuentemente la calidad del agua.

Existen tres indicadores principales para la calidad de la fuente de agua:

- Recuento de coliformes totales
Si el recuento de coliformes totales es alto, es muy probable que el agua también contenga virus, bacterias y parásitos dañinos.
- Presencia de Coliformes Fecales o Escherichia coli (E. coli)
Las heces (o excremento) y el sistema digestivo de los humanos y animales de sangre caliente contienen millones de coliformes fecales. La E.Coli pertenece al grupo de coliformes fecales, un tipo específico de coliforme total, y se puede evaluar. Los coliformes fecales y la E.Coli son generalmente inofensivos. Sin embargo, una prueba positiva puede indicar la presencia de gérmenes patógenos en su sistema de agua.
- Nivel de pH
El nivel de pH indica qué tan ácida o básica es el agua. El nivel de pH del agua puede afectar su apariencia y sabor. Si el pH es muy bajo o muy alto, podría dañar las tuberías o causar el paso de metales pesados, como el plomo, desde la cañería hacia el agua.

En la Tabla 3.6 puede encontrar un ejemplo de las especificaciones de la calidad del agua (Agencia de Protección del Medio Ambiente - EPA). Consulte con su departamento de salud/ambiental local qué contaminantes debe analizar.

TABLA 3.6: LISTA DE LAS REGULACIONES SECUNDARIAS DE AGUA POTABLE (USA-EPA)

INORGÁNICOS	NIVEL
Aluminio	<0.05 a 0.2 mg/L
Cloruro	<250 mg/L
Color	<15 (unidades color)
Cobre	<1.0 mg/L
Corrosivo	<no-corrosivo
Flúor	<2.0 mg/L
Agentes Espumantes	<0.5 mg/L
Hierro	<0.3 mg/L
Manganeso	<0.05 mg/L
Olor	<3 número umbral de olor
pH	<6.5-8.5
Plata	<0.10 mg/L
Sulfato	<250 mg/L
Total de Sólidos Disueltos	<500 mg/L
Zinc	<5 mg/L
ORGÁNICOS (SUBPRODUCTOS DE DESINFECCIÓN/ CONTAMINACIÓN CON PESTICIDAS)	NIVEL
Trihalometano TTHM - total	<80 mg/L
Ácidos Haloacéticos HHA5 - total	<60 mg/L
Ácido Cloroacético	<1mg/L
Ácido Bromoacético	<0.01mg/L

Fuente: Agencia de Protección Ambiental (EPA)

LIMPIEZA Y DESINFECCIÓN

Un plan de limpieza y desinfección debe incluir la frecuencia y el método de limpieza y desinfección. Existen procedimientos generales de limpieza y desinfección para graneros, laboratorios (incluyendo techos, paredes, pisos, cubierta de los muebles/encimeras y gabinetes) y edificio/pabellón donde se alojan los sementales. Existen procedimientos de limpieza y desinfección más específicos para los corrales de recolección y potros/maniqués y para los equipos y materiales en el laboratorio. Todos los procedimientos de limpieza y desinfección siguen una serie de pasos simples, pero importantes:

1. Retirar el material orgánico
2. Limpiar usando un detergente (remojar)
3. Restregar la superficie con un cepillo, esponja o paño para desprender la materia orgánica y disolver el biofilm.
4. Enjuagar para diluir y quitar el detergente, grasa y proteínas
5. Secar
6. Desinfectar o esterilizar para matar los microorganismos restantes
7. Después de cada uso, limpiar/desinfectar o reemplazar los materiales de limpieza (cepillos/esponjas/paños)

El paso más importante del procedimiento descrito anteriormente es la limpieza. Desinfectar las superficies sin una limpieza correcta no eliminará a los microorganismos ya que la materia orgánica los protegerá contra los desinfectantes.

Para que los detergentes y desinfectantes sean efectivos se requiere de una concentración, temperatura del agua y tiempo de exposición correcta. Siga estrictamente las instrucciones del fabricante y enjuague bien para eliminar cualquier residuo. Además, es importante usar desinfectantes que sean efectivos contra las bacterias encontradas en el ambiente a tratar. Tenga en cuenta que con el tiempo las bacterias pueden desarrollar resistencia a los desinfectantes, por lo que se recomienda usar varios productos, igualmente eficaces, disponibles comercialmente.

La limpieza y desinfección de los materiales no es tan simple como parece. Si no se realiza correctamente existe el riesgo de que los materiales se contaminen o que queden residuos de detergente/desinfectante. Si el material con residuos entra en contacto directo con el semen, se compromete la calidad del semen. Este es un punto crítico y muy difícil de monitorear, razón por la cual muchos centros de sementales prefieren usar materiales desechables en lugar de reutilizarlos.

Como se señaló en la Sección II, capítulo "Montaje del laboratorio", para facilitar la limpieza y desinfección se debe elegir el diseño y materiales correctos para las paredes, techos, encimeras y mobiliario. Use materiales suaves, sólidos y no corrosivos para las paredes, pisos y cubiertas (es decir, pisos de epóxico/resina vertida, acero inoxidable, compuestos sólidos a base de petróleo y muchos otros). Las áreas que necesitan limpieza diaria (laboratorio de producción, área de recolección y potro) solo deben tener los artículos necesarios para la producción. Por ejemplo: Almacene el exceso de insumos en una sala de almacenamiento y no en el laboratorio, de esta manera elimina la necesidad de tener más gabinetes. Haga el papeleo en otra oficina. Use un carro con ruedas y solo lleve al laboratorio los materiales necesarios para ese día de producción. Use mesas de acero inoxidable con ruedas las cuales son fáciles de mover por el laboratorio y sáquelas para permitir la limpieza completa de las paredes y pisos.

DETERGENTES

Existen muchas opciones de detergentes. El detergente debe ser efectivo para eliminar la materia orgánica, no debe dejar residuos después del enjuague y no debe ser tóxico. Lo más seguro sería usar detergentes para materiales de laboratorio, detergentes de limpieza para la industria de alimentos o incluso los detergentes líquidos que se usan para el lavado manual de los platos. Decon 90® es un detergente muy conocido que se usa para limpiar los materiales y las superficies de los laboratorios. Asegúrese de que todas las superficies y materiales sean enjuagados completamente después de usar el detergente. Para el techo, paredes y pisos se puede usar detergentes de alta resistencia como Simple Green®. Siga las instrucciones de la etiqueta. No use el producto de limpieza en atomizadores/spray ya que algunas gotas podrían alcanzar lugares que no pueden ser enjuagados. Recomendamos preparar una solución que pueda aplicarse con una esponja o paño de limpieza.

DESINFECTANTES

La desinfección se requiere cuando no es posible esterilizar los materiales reutilizables. Al mismo tiempo, se deben desinfectar los equipos y las superficies de trabajo después de la limpieza, al final de cada día de producción. La Tabla 3.7 muestra un listado de los ingredientes activos para los desinfectantes.

TABLA 3.7: NIVEL DE ACTIVIDAD DE LOS GERMICIDAS LÍQUIDOS SELECCIONADOS

PROCEDIMIENTO/PRODUCTO	CONCENTRACIÓN ACUOSA	NIVEL DE ACTIVIDAD
DESINFECCIÓN		
Glutaraldehído	Variable	alta a intermedia
Orto-ftalaldehído (OPA)	0.50%	alta
Peróxido de Hidrógeno	3-6%	alta a intermedia
Formaldehído	1-8%	Alta a baja
Dióxido de Cloro	Variable	alta
Ácido Paracético	Variable	alta
Compuestos de cloro	500 a 5,000 ml/l cloro libre disponible	intermedia
Alcohol (etanol, isopropílico)	70%	intermedia
Compuestos fenólicos	0.5 a 3%	Intermedia a baja
Compuestos Yodados	30-50 mg/l yodo libre a 10,000 mg/l yodo disponible 0.1-0.2%	Intermedia a baja
Compuestos de amonio cuaternario (QUADS)		Baja

Fuente: Centro para el Control y Prevención de Enfermedades (CDC)

Hay pocos desinfectantes que funcionan bien para los centros de sementales:

- Alcohol Isopropílico 70% (preferido)
- Cloro Germicida

Limpiar y desinfectar todos los equipos y materiales usados para la producción de dosis de semen. Esto incluye sistemas CASA, computadores, teclados, dosificadores, microscopios, teléfonos, pipetas, etc. No olvide limpiar y desinfectar las paredes hasta una altura de 35 cm/14 pulgadas sobre la cubierta de los muebles después de cada día de producción. Asegúrese de desarmar los dispositivos tanto como sea posible y limpiar todas sus partes. La facilidad para limpiarlo debería ser un criterio importante cuando se compra un equipo.

Limpiar desde las superficies más altas hacia las superficies más bajas, use materiales de limpieza desechables. Recomendamos usar carros de limpieza, como una plataforma móvil para colocar los baldes/cubetas de limpieza. Esto evita colocar los baldes sobre las mesas del laboratorio, propagando contaminación desde el área sucia al área limpia. Además, un carro y su contenido se pueden sacar del laboratorio después de terminada la limpieza.

Elabore un calendario para la limpieza diaria, semanal y mensual. La Tabla 3.8 muestra un ejemplo de dicha programación. Considere contratar una empresa profesional de limpieza para el aseo de las duchas, sala de descanso, pasillos, baños, oficina y otras áreas generales, para que el personal del centro de sementales se pueda enfocar en la limpieza y desinfección de las áreas de producción.

TABLA 3.8: EJEMPLO DE UNA PROGRAMACIÓN DE LIMPIEZA PARA EL LABORATORIO Y SALAS GENERALES

Where	What	Daily	2x-weekly	Weekly	Monthly	Quarterly	Procedure no.	Product	who
Laboratory	Floor-sweep-mop			X					professional
Laboratory	Anti fatigue mats			X					professional
Laboratory	Ceiling-Walls rotational (1 part every week)-vents - door				X				professional
Laboratory	Pass through windows: ceiling walls bottom and windows (except barn side)			X					professional
Laboratory	Reception window		X						Barn staff
Laboratory	Countertops + aisle		X						lab staff
Laboratory	Cabinet doors and drawer fronts			X					professional
Laboratory	Cabinets inside					X			Lab-staff
Laboratory	Specific lab equipment-machines-materials		X						Lab staff
	- Autodiluter		X						Lab staff
	- Microscope		X						Lab staff
	- Scales		X						Lab staff
	- Autodispensers		X						Lab staff
	- SPS-11		X						Lab staff
	- Conductivity meter		X						Lab staff
	- Heat sterilizer				X				Lab staff
	- 100 liter extender vats		X						Lab staff
	- Extender vat scales/underneath					2X			Lab staff
	- Manual Sealer		X						Lab staff
	- Dish washer				X				Lab staff
	- MOFA storage cabinet				X				Lab staff
	- Refrigerator				X				Lab staff
Laboratory	Underneath equipment and machines (describe in procedure)				X				Lab staff
Laboratory	Office type equipment-machines (computer/keyboard/telephone/copier)			X					professional
Laboratory	Stools/chairs			X					professional
Laboratory	Glass and plastic ware / pitchers / lids (non disposables)		X						lab staff
Laboratory	Sinks		X						Lab staff
Laboratory	Trash cans (small)		X	X					Lab staff
Laboratory	Clean and disinfect racks			X		X			Lab staff
Laboratory	Clean and disinfect carts				X	X			professional
Other rooms	Cool room			X					professional
Other rooms	Shipping room			X					professional
Other rooms	RO-water production system-room (floor and whatever is realistic to clean)			X					professional
Other rooms	Hallway from lab towards the break room			X					professional
Other rooms	Showers				X				professional
Other rooms	Rest rooms				X				professional
Other rooms	Break room				3X				professional
Other rooms	Entry hall-bench (dirty side)					X			staff
Other rooms	Clean Break room Refrigerator					X			staff
Other rooms	RO-water production system					X			Water professional

Escriba los procedimientos específicos de limpieza y desinfección/esterilización por salas, equipos y dispositivos. Revise las instrucciones del fabricante en cuanto a qué detergentes y desinfectantes se pueden usar.

Si se requiere esterilización para aquellos artículos que entran en contacto directo con el semen (es decir, mangueras de las máquinas de envasado), recomendamos usar un autoclave o un horno de secado de alta temperatura. En el comercio existen unas cintas o tiras indicadoras especiales para comprobar si el esterilizador alcanzó la temperatura adecuada y el tiempo de exposición necesario para eliminar los microorganismos. La Tabla 3.9 muestra ejemplos de diferentes métodos de esterilización, temperaturas y tiempos de exposición.

TABLA 3.9: EJEMPLOS DE EQUIPOS DE ESTERILIZACIÓN, TEMPERATURAS Y TIEMPO DE EXPOSICIÓN

TIPO DE ESTERILIZADOR	TEMPERATURA	TIEMPO DE EXPOSICIÓN	TIEMPO DE SECADO
Autoclave por desplazamiento de gravedad	121°C (250°F)	30 min	15-30 min
Autoclave por desplazamiento de gravedad	132°C (270°F)	15 min	15-30 min
Autoclave con pre-vacío	132°C (270°F)		15-30 min
Autoclave de presión de pulsos Flush	132°C (270°F)		15-30 min
Esterilizador de calor seco	170°C (340°F)	60 min	
Esterilizador de calor seco	160°C (320°F)	120 min	
Esterilizador de calor seco	150°C (300°F)	150 min	
Hervir en agua	100°C (212°F)	20 min	15-30 min

En el sitio web de los Centros de Control y Prevención de Enfermedades (CDC) puede encontrar mucha información detallada en cuanto los métodos de limpieza y desinfección, detergentes y desinfectantes: <https://www.cdc.gov/infectioncontrol/guidelines/Disinfection/index.html>

CONTROL Y ASEGURAMIENTO DE LA CALIDAD INTERNO

El monitoreo del control de calidad (QC) es vital para asegurar que el centro de sementales mantiene los altos estándares en la producción de semen. La dosis de semen (producto final) debe monitorearse continuamente, en un calendario predeterminado, para número de células, motilidad post-producción y temperatura. Otros aspectos importantes del programa de monitoreo de QC son los procesos y componentes del laboratorio que contribuyen al producto final. Este programa debe incluir pruebas de motilidad post-dilución del diluyente preparado al inicio del día de procesamiento. En general, el objetivo del monitoreo interno y externo es que el 95% o más de las muestras de producto final analizadas cumplan con el criterio de calidad para la dosis de semen.

CONTROL DE CALIDAD DEL DILUYENTE

Cada diluyente preparado tiene especificaciones para pH y conductividad. Como se describió anteriormente, ambos se pueden evaluar con instrumentos de medición para garantizar que los diluyentes están preparados correctamente. Estas mediciones se deben realizar después de haber mezclado bien el diluyente preparado y de que esté estabilizado. El tiempo de estabilización difiere entre diluyentes. Para referencia, mantenga un registro de los instrumentos de calibración y los resultados de las mediciones.

EVALUACIÓN DE LA MOTILIDAD POST-DILUCIÓN

La evaluación de motilidad post-dilución se realiza en cada cubeta de diluyente, directamente después de la dilución (2-3 muestras) y 2 horas después de la dilución de las mismas muestras. Si hubiera problemas en la calidad del diluyente, estos se deben detectar tempranamente y se debe preparar un nuevo diluyente sin mayor pérdida en la productividad. Si se usa más de un recipiente para preparar diluyente, evalúe cada uno de ellos al inicio del día de producción. Encontrar temprano un problema dará el tiempo suficiente para preparar un nuevo diluyente para usarlo posteriormente.

EVALUACIÓN DE LA MOTILIDAD POST-PRODUCCIÓN

La evaluación de la motilidad post-producción se usa para evaluar la motilidad espermática varios días después de la producción. La reducción en la motilidad por 24 horas es un buen indicador de hasta qué punto la producción de dosis de semen se realizó correctamente. También indica que la calidad de las células espermáticas probablemente se mantendrá a un nivel suficiente hasta su fecha de caducidad. La meta es que a la fecha de caducidad, la motilidad total se mantenga sobre el 70% del total de células espermáticas. Los sementales con problemas de calidad de semen deberían ser identificados antes de la dilución (es decir, desechar los eyaculados frescos; dejar a los sementales en espera para eliminación si el problema persiste) o a través de evaluaciones frecuentes de la motilidad post-producción de eyaculados individuales (de decir, historial de problemas de viabilidad a largo plazo). La frecuencia de las pruebas a sementales individuales se debe basar en una evaluación de riesgos. Para detectar cualquier problema de motilidad post-producción, se necesita analizar al menos cada 4to eyaculado por semental. El número de muestras a analizar depende del total de dosis producidas en un día de producción (ver Tabla 3.10). Para referencia interna, se necesita evaluar un número representativo de muestras para monitorear la calidad del proceso de producción y se debe usar para detectar y abordar problemas con el fin de prevenir problemas a futuro. Finalmente, el sistema debe garantizar que las dosis de semen producidas sigan cumpliendo con los valores mínimos de motilidad a la fecha de vencimiento.

TABLA 3.10: NÚMERO DE MUESTRAS PARA DIFERENTES NIVELES DE CONFIANZA E ÍNDICES DE ERROR

# DOSIS SEMANA	95%	99%	95%	99%	95%	99%	← NIVEL DE CONFIANZA
	10.0%	10.0%	5.0%	5.0%	2.0%	2.0%	← NIVEL DE DESVIACIÓN
100	25	35	44	59	77	90	
150	26	38	48	67	94	94	
200	27	39	51	72	105	117	
250	27	40	52	75	112	149	
300	27	41	53	77	117	159	
400	27	41	54	80	124	174	
500	28	42	55	82	128	183	
750	28	42	56	85	134	194	
1,000	28	43	57	86	138	204	
1,500	28	43	57	87	142	212	
2,000	28	43	58	88	143	215	
3,000	28	43	58	88	145	219	
4,000	28	44	58	89	146	222	
5,000	28	44	58	89	146	223	
6,000	28	44	58	89	146	224	
8,000	28	44	58	89	147	225	
10,000	28	44	58	89	147	225	

PROCEDIMIENTO:

- Guarde un número representativo de muestras (basado en la Tabla 3.10) de los lotes o recolección individual de machos en tubos de muestra de 5 ml (1 tubo por cada día de evaluación). Además, guarde una muestra en el tubo (la última del lote/eyaculado) o bolsa usada para envasar.
- Reactive las muestras para evaluación de acuerdo a las instrucciones del fabricante del diluyente. Pasos para reactivar:
 - Invierta los tubos de muestras hasta que todas las células se re-suspendan homogéneamente.
 - Incube las muestras en un bloque de calor a 38°C/100°F
- Tenga en cuenta que el tiempo de incubación depende del tipo de diluyente y se debe basar en las etiquetas/instrucciones del diluyente o en las recomendaciones directas de su proveedor. Realice evaluaciones de motilidad post-producción, el día de caducidad/vencimiento y un día cualquiera entre el día de producción (día 0) y el día de caducidad. Lo más común es realizar un control adicional el día 1.
- Si la puntuación de la motilidad es menor que el porcentaje de corte aprobado/reprobado, vuelva a evaluar la muestra para confirmar el resultado.
- Si la diferencia en la motilidad entre este análisis y el análisis anterior (normalmente día 0 o día 1) es mayor a 3% por 24 horas, vuelva a analizar la muestra para confirmar el resultado.

En la Tabla 3.11 se enumera el criterio mínimo

MONITOREO DEL NÚMERO DE CÉLULAS POR DOSIS

El monitoreo del número de células espermáticas se realiza para garantizar que se cumple con el umbral mínimo y para determinar la variación entre dosis. El monitoreo se debe hacer a un número representativo de muestras. Lo preferible aquí es usar equipos precisos como Nucleocounter® o Citómetro de Flujo. Estos equipos son costosos y ampliamente usados en los laboratorios comerciales de IA. Si no cuenta con el equipo, puede contratar la evaluación de profesionales. Como se mencionó previamente, otra opción de alta precisión es el uso de la cámara de recuento (hemocitómetro) y microscopio. Sin embargo, esta última opción demanda tiempo y requiere de un técnico con experiencia y habilidad.

MANEJO DE TEMPERATURA

Algunos diluyentes pueden proteger al espermatozoide del daño producto de las fluctuaciones en la temperatura. Sin embargo, sigue siendo importante el manejo de la temperatura durante la recolección, evaluación, procesamiento, almacenamiento y envío. El estrés por temperatura durante la producción, almacenamiento y envío de las dosis de semen debe ser mínimo. Los aspectos críticos del manejo de la temperatura para el proceso de producción de semen incluyen:

- Monitorear la temperatura del eyaculado durante la recolección y transición (tiempo) desde la recolección y dilución. Medir la temperatura del semen en diferentes puntos durante la transición desde la recolección hasta su recepción para dilución. Esto da un indicio de la temperatura requerida para los materiales y diluyente.
- Tenga en cuenta que las temperaturas del eyaculado varían según estaciones del año y centros de sementales. Por lo tanto, es importante medir la temperatura frecuentemente para ajustar en consecuencia la temperatura de los materiales y del diluyente.
- Permita una diferencia máxima de $\pm 2^{\circ}\text{C}/3.6^{\circ}\text{F}$ entre la temperatura del semen y los materiales o diluyente.
- Use un termómetro calibrado o compare su termómetro con uno calibrado para garantizar lecturas precisas.
- Revise los ajustes de temperatura en el equipo de calentamiento (si está presente). Tenga en cuenta que los ajustes de temperatura no siempre son precisos y deben controlarse regularmente con un termómetro.
- Para que el semen exprese su motilidad óptima, los microscopios usados para evaluar la motilidad deben tener una platina temperada a $38^{\circ}\text{C}/100^{\circ}\text{F}$ (controlada/confirmada).
- Después de la dilución, enfríe el semen gradualmente hasta una temperatura de $17 \pm 2^{\circ}\text{C}/63 \pm 3.6^{\circ}\text{F}$ antes del envío. Si bien existen diluyentes con protección a las fluctuaciones de temperatura, recomendamos respetar esta temperatura de almacenaje y envío hasta que haya suficiente evidencia científica que demuestre lo contrario.

PRUEBAS MICROBIOLÓGICAS

Las pruebas microbiológicas las realiza generalmente un laboratorio externo especializado pero también pueden realizarse internamente. Tome muestras del agua, producto final, diluyente y ambiente como potros/maniqués así como cubiertas y fregadero/desagüe. Para mayor información consulte Sección 3, párrafo "Control de Calidad Externo" o consulte con Servicio Técnico de PIC.

CONTROL DE CALIDAD EXTERNO

El control de calidad externo del producto final es necesario por varias razones. Garantiza que los equipos están calibrados correctamente y que la calidad de la dosis está dentro de los límites aceptables. La piedra angular del programa de QC es la evaluación rutinaria del número de células, motilidad y morfología por un laboratorio de andrología certificado e independiente. De preferencia, que el laboratorio de andrología use sistema CASA para la evaluación de la motilidad y un método preciso y validado para determinar la concentración; por ejemplo, uso de Nucleocounter® o de un citómetro de flujo. Se prefiere que la puntuación de la morfología sea mediante la evaluación manual de células espermáticas fijas o teñidas con aumento de 1,000x con un reporte de todas las clasificaciones específicas de anomalías. En la Tabla 3.11 se muestra el criterio mínimo para la buena calidad de la dosis de semen.

TABLA 3.11: CRITERIO MÍNIMO DE LA DOSIS DE SEMEN A LA FECHA DE CADUCIDAD

VARIABLE DEL SEMEN	CRITERIO MÍNIMO
Volumen	$< \pm 1$ ml fuera de la meta
No. células espermáticas/dosis	$< \pm 5\%$ fuera de la meta
Células espermáticas móviles	$> 60\%$
Células espermáticas con motilidad progresiva	$> 60\%$
Pérdida de motilidad (progresiva) por 24 horas	$< 3\%$
Aglutinación	$< 30\%$
Células espermáticas anormales	$< 30\%$
Gotas citoplasmáticas (como parte de las células anormales)	$< 20\%$
Contaminación bacteriana*	$< 1\text{CFU/ml}$

*Medido luego de 48 hrs en incubación aeróbica a 37°C

ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO

Las bacterias en las dosis de semen pueden deteriorar la calidad del semen. Los diluyentes de semen contienen antibióticos que deberían inactivar a las bacterias presentes en el eyaculado. Sin embargo, si la contaminación es mayor, la concentración de antibiótico puede ser insuficiente para inactivar a todas las bacterias. La resistencia a los antimicrobianos por parte de las bacterias es otra causa de la contaminación bacteriana de las dosis de semen. Las pruebas microbiológicas a las dosis de semen entregan una visión del nivel de higiene de la producción de semen. El diluyente se prepara con agua purificada y representa cerca del 75% del volumen de la dosis de semen. Por lo tanto, es importante analizar el agua y el diluyente de manera habitual. La mayoría de las bacterias presentes en las dosis de semen tienen origen animal, humano o ambiental y se desarrollan mejor a temperaturas moderadas entre 20°C/68°F y 45°C/113°F en condiciones aeróbicas. Por lo tanto, los análisis microbiológicos se realizan mejor a una temperatura de 37°C/99°F en condiciones aeróbicas.

- Las pruebas microbiológicas se deben hacer al menos 24 horas después de la dilución del diluyente para que los antibióticos tengan tiempo de inactivar las bacterias
- Debido a la competencia, ciertas bacterias se multiplican más lento y solo si otras están inactivas. Por lo tanto, el analizar más tarde una porción de las muestras puede mostrar crecimiento bacteriano, incluso si no se observó crecimiento en las muestras frescas
- Si se encuentran regularmente bacterias:
 - Se necesita su identificación para encontrar la fuente de contaminación
 - El probar susceptibilidad a un panel de antibióticos, incluyendo los antibióticos del diluyente, dará información del desarrollo de resistencia

HACCP

HACCP son las siglas en Inglés para Análisis de Peligros y Puntos de Control Críticos. HACCP es un enfoque preventivo sistemático usado en la producción de alimentos para garantizar la seguridad de los alimentos desde una perspectiva biológica, química y física. Analiza los riesgos en los procesos de producción que hacen que el producto final sea inseguro y diseña medidas para reducir el nivel de riesgo.

Esta metodología se puede usar perfectamente para la producción de semen. Los 7 principios del HACCP son los siguientes:

1. Realizar un análisis de riesgos:
Identifique los riesgos que hacen que la calidad de las dosis de semen esté bajo el estándar. Piense en choque de frío, contaminación bacteriana, errores en la preparación del diluyente, calidad del agua, contaminación cruzada, variaciones en la temperatura, materiales tóxicos, etc.
2. Identificar los puntos de control críticos:
Analice cada paso y todos los materiales usados desde la recolección del semen hasta el envasado, almacenaje y transporte. Ejemplos de puntos críticos en la producción de semen son: Calidad del agua (química y microbiológica), calidad del diluyente (pH y conductividad), efectividad de los antibióticos, puntos de contaminación, y sustancias peligrosas no intencionales en los materiales que entran en contacto con el semen como guantes de látex o con polvo, gaza de algodón blanqueada, residuos de detergentes en las mangueras, etc.

3. Establecer límites críticos:

Establezca límites críticos para cada punto de control. Por ejemplo:

a. Nivel microbiológico:

- ii. Dosis de Semen: <1 CFU/ml
- iii. Cubiertas de los muebles después de la limpieza: < 3 CFU/cm²
- iv. Diluyente: <1 CFU/ml
- v. Agua purificada (para la preparación del diluyente): <1CFU/ml
- vi. Fuente de agua: Bacterias Coliformes <1 CFU/100ml
- vii. Superficie del potro/maniquí después de la limpieza: < 10 CFU/cm²

b. Temperaturas:

- iii. Copas para recolección: 38°C ± 2°C/100°F±3.6°F
- iv. Plato y bloque para calentamiento de los portaobjetos del microscopio, cubreobjetos y tubos de muestra: 38°C ± 1°C/100°F±1.8°F
- v. Platina de microscopio calentada: 38°C ± 1°C/100°F±1.8°F
- vi. Forros, tubos y bolsas plásticas: si se sacan del almacenamiento, asegure el tiempo de calentamiento suficiente para que la temperatura esté al menos a la temperatura de la sala (20°C/68°F) y no más alta que la temperatura del eyaculado diluido
- vii. Diluyente: a la temperatura del eyaculado antes de la dilución ± 2°C/3.6°F
- viii. Sala de frío: 17°C ± 2°C/63°F±3.6°F

4. Monitorear los Puntos de Control Críticos (PCC):

Una vez identificados los PCC y establecidos los límites críticos, realice pruebas relevantes a un número representativo de muestras

- e. Para el agua usada para preparar el diluyente, mida la conductividad. Para el diluyente, mida conductividad y pH.
- f. Tome la temperatura de los eyaculados a su llegada al laboratorio y revise la temperatura del diluyente.
- g. Analice de manera frecuente (trimestralmente) la fuente de agua (en el punto de entrada) para metales pesados y materia orgánica.
- h. Analice el agua, diluyente y dosis de semen por contaminación microbiológica.
- i. Pruebe la contaminación en las superficies después de la limpieza para comprobar la efectividad de los procedimientos de desinfección.
- j. Antes de su uso, pruebe las balanzas del laboratorio con pesos estándar.
- k. Compruebe siempre la temperatura de los instrumentos de calentamiento antes de la producción.

5. Establecer acciones correctivas:

Las acciones correctivas se deben aplicar cuando exista variación de los límites críticos establecidos. Uno de los propósitos importantes de las acciones correctivas es evitar la distribución de dosis de semen bajo los estándares, las cuales que pueden afectar negativamente la fertilidad. Las acciones correctivas deben incluir los siguientes elementos:

- Determinar y corregir la causa de la no conformidad
- Determinar la disposición del producto no conforme
- Registrar las acciones correctivas que se han tomado

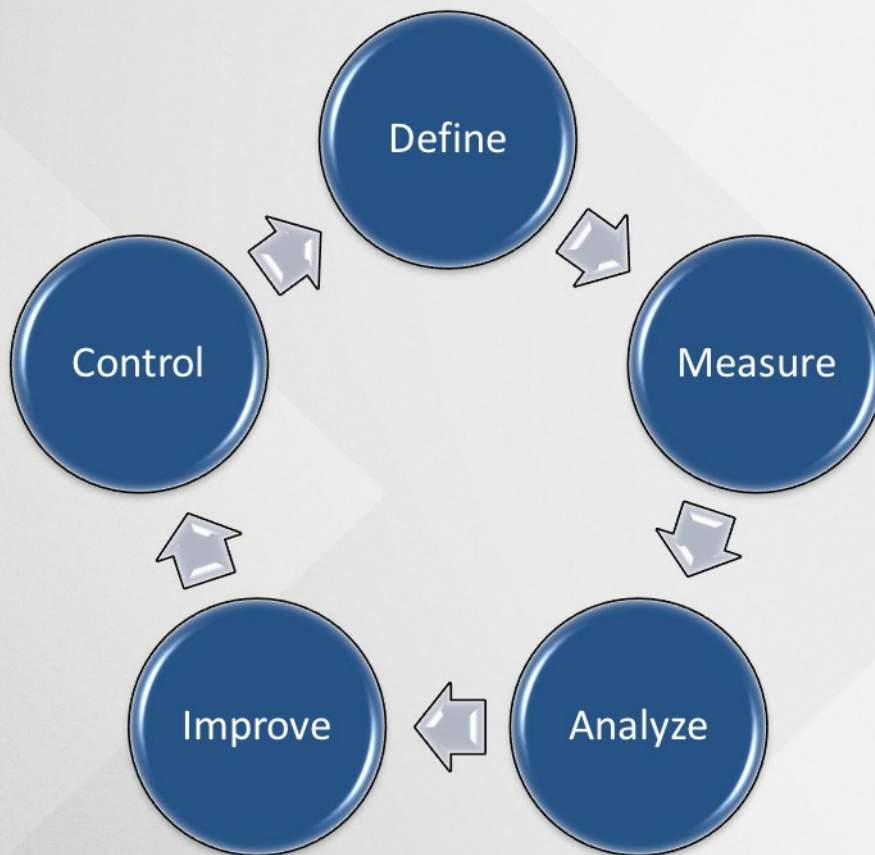
Ejemplos:

- Agua purificada con contaminación bacteriana:
 - o Desinfecte el sistema de purificación de agua
 - o Cambie resinas/filtros
 - o Limpie el tanque de almacenamiento de agua
 - o Revise los filtros UV y reemplace si es necesario
 - o Use agua comprada para producir el diluyente o considere hervir el agua (dependiendo del volumen necesario)
 - o Si la contaminación regresa, debería considerar el rediseño del sistema de purificación de agua usando un sistema de recirculación de agua, reemplazando el tanque de almacenamiento de agua, o cambiando/mejorando la capacidad de luz UV.

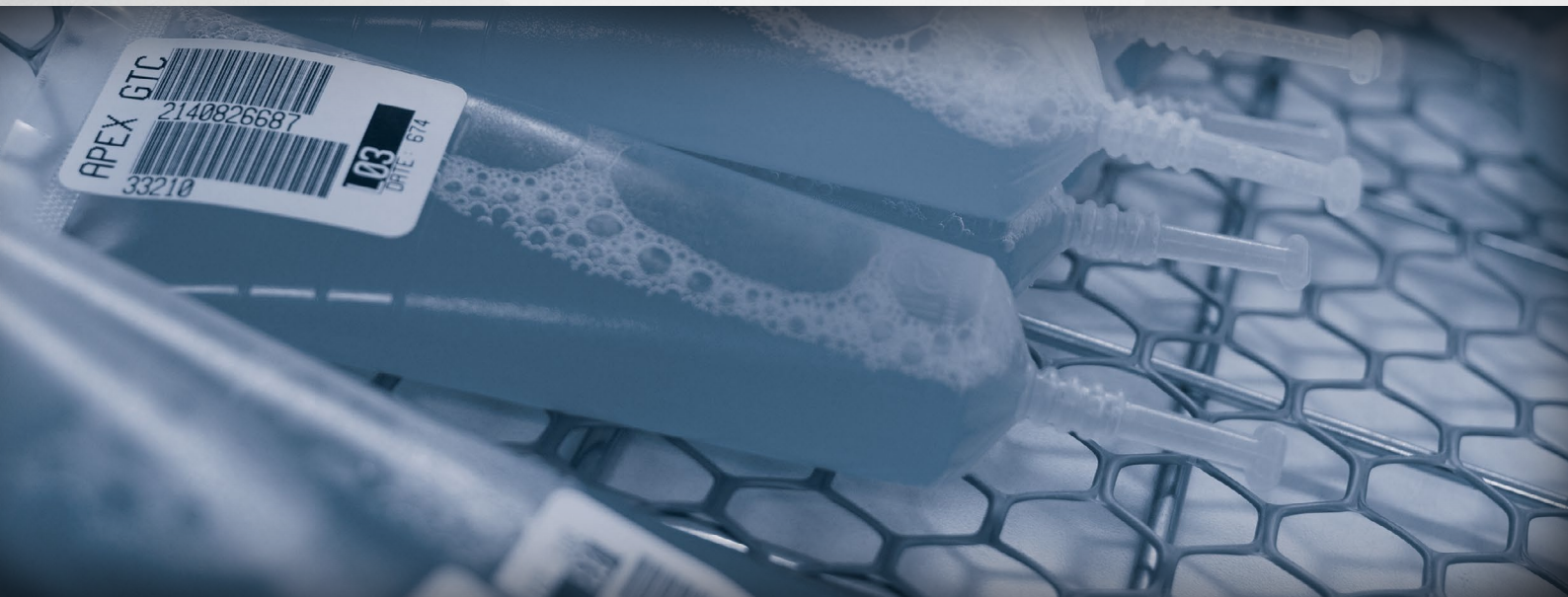
Una vez que se hayan hecho los cambios, registre en un cuaderno la desviación, las acciones correctivas y los resultados de las pruebas.

6. Establezca y verifique los procedimientos para garantizar que la metodología HACCP está funcionando según lo previsto:
Los procedimientos de verificación pueden incluir actividades tales como revisión de los planes HACCP, registros PCC, límites críticos (basado en los resultados monitoreados), número de muestras para las pruebas microbiológicas y frecuencia de las pruebas.
7. Mantener registros
Los registros son importantes. Se deben registrar y analizar los resultados de las pruebas, y la información obtenida debe ser usada para mejorar los procedimientos. Este proceso debe dar como resultado el restablecimiento del criterio mínimo para mejorar el control que se tiene sobre la producción y reducir los riesgos.

GRÁFICO 3.2: PRINCIPIOS HACCP



CONSIDERACIONES GENÉTICAS



Esta sección entregará una visión general de la importancia del manejo genético seguido por algunas recomendaciones y la presentación de las herramientas que ha desarrollado PIC para apoyar a los jefes de los centros de sementales en sus decisiones.

POR QUÉ ES IMPORTANTE EL POTENCIAL GENÉTICO DEL REBAÑO

Cada dosis de semen enviada desde el centro de sementales impacta significativamente el posible desempeño (y, por lo tanto, la rentabilidad) de los cerdos producidos. Si consideramos un promedio de 30 dosis producidas por recolección, el impacto puede ser de hasta ~50,000 cerdos para mercado (Tabla 4.1).

TABLA 4.1: POSIBLES CERDOS PARA MERCADO NACIDOS/INFLUENCIADOS POR RECOLECCIÓN

SEMENTAL TERMINAL	196 CERDOS PARA MERCADO
Semental abuelo (GP)	4 primerizas Camborough seleccionadas por camada → 60 cerdos para mercado durante la vida útil de la Camborough → 3,360 cerdos para mercado por recolección
Semental bisabuelo (GGP)	4 primerizas de línea pura seleccionadas por camada → 15 primerizas Camborough por primeriza de línea pura por vida útil → 60 cerdos para mercado por Camborough Por Vida Útil → 50,400 cerdos para mercado por colección

Supuestos: Dosis por monta = 2, tasa de partos = 93%, nacidos vivos por camada = 14

Los sementales PIC se seleccionan en función al posible desempeño de su progenie en la producción comercial. El programa de selección se enfoca en maximizar la rentabilidad de la genética PIC en las operaciones de nuestros clientes y el Índice PIC representa el potencial genético de un animal en todos los impulsores de rentabilidad. El valor Índice PIC muestra que cada punto índice de mejora de un semental terminal significa un posible valor adicional de \$.10/progenie. Por el lado maternal, cada punto índice vale aproximadamente \$.05/progenie en posible valor adicional. Esto hace que el índice genético sea una consideración clave en el manejo de inventario del centro de sementales. Siguiendo con nuestro ejemplo anterior, 1 punto de aumento en el índice de una recolección proporcionaría un aumento en valor al sistema de producción de hasta \$3,000 por colección (Tabla 4.2)

TABLA 4.2: EJEMPLO DE VALOR AGREGADO PARA AUMENTO DE 1 PUNTO

SEMENTAL	VALOR PARA EL SISTEMA DE PRODUCCIÓN
Semental Terminal	\$19.20 ¡por recolección!
Semental abuelo	\$187 ¡por recolección!
Semental bisabuelo	\$2,808 ¡por recolección!

MANEJO DEL POTENCIAL GENÉTICO DEL CENTRO

Como el potencial genético de un centro aumenta con el tiempo, así también aumenta el valor de los cerdos para mercado producidos por el inventario activo. Esto se maneja introduciendo sementales de alto índice y usándolos para reemplazar a aquellos de bajo índice. Dos estrategias para optimizar la contribución del centro de sementales al sistema de producción de cerdos son:

1. Ordenar sementales de manera proactiva en función a las tasas de reemplazo óptimas proyectadas
2. Manejar activamente la eliminación de sementales en función al mérito genético (después de las eliminaciones de producción necesarias)

Si bien el potencial genético es uno de los principales contribuyentes del impacto que tiene el centro en la economía de la producción de cerdos, los costos para operar el centro también son una consideración importante. Las tasas de reemplazo recomendadas se basan en equilibrar el valor genético mejorado que aportan los sementales jóvenes a los flujos de cerdos para mercado, con la reducción en los costos de producción por dosis a medida que el semental envejece.

- 130% para sementales bisabuelos
- 100% para sementales abuelos
- Hasta 95% para CBV+/Ganancia+, Máx sementales (sementales terminales disponibles de mayor índice)
- 70% sementales terminales para IA estándar

VIDA ÓPTIMA DEL SEMENTAL (OBL, SUS SIGLAS EN INGLÉS)

La herramienta OBL de PIC ayuda a los jefes de los centros a priorizar las decisiones de eliminación en base al valor con que cada semental terminal está contribuyendo al sistema de producción. Este cálculo es impulsado principalmente por el mérito genético actual del semental y su edad (usado para evaluar la vida productiva restante y producción de semen esperada). Durante la vida de un semental en el centro, su contribución total a la rentabilidad es una combinación de estos dos factores, sin embargo, el impacto relativo de cada uno en la rentabilidad total del sistema cambia a medida que el semental envejece:

- Ingreso al inventario de sementales de trabajo:
 - Mérito genético: El semental representa un potencial genético alto/nuevo para el sistema y los cerdos para mercado producidos de estas dosis tendrán un mayor potencial de desempeño durante crecimiento/engorde, en relación a los sementales más viejos del centro. Este es el principal impulsor del valor para los sementales jóvenes de alto índice.
 - Producción de semen: Las primeras semanas en el centro representan los niveles más bajos de producción de semen para un semental. Como resultado, el costo por dosis producida es más alto cuando el semental recién ingresa al centro.
- Después de unos pocos meses en el centro:
 - Mérito genético: El índice del semental comienza a disminuir. Ya que el mérito genético del semental activo se compara con su reemplazo, un semental más joven desde las granjas genéticas de PIC, esto refleja que los nuevos sementales que ingresan al centro producirán cerdos para mercado con un mayor potencial de desempeño, en comparación a los sementales que están envejeciendo.
 - Producción de semen: El semental está alcanzando el máximo en su curva de producción de semen, y está proporcionando mayor valor al sistema de producción a través del menor costo por dosis. En esta etapa, la ventaja en costos del centro equilibra su valor genético decreciente.
- Al final de la vida óptima de un semental en el centro:
 - Mérito genético: El índice del semental sigue disminuyendo, lo que indica que el posible aumento en desempeño que se podría observar en cerdos hijos de un semental nuevo y más joven sigue aumentando.
 - Producción de semen: El macho ha alcanzado un punto estable en la curva de producción. Los menores costos de producción por dosis de este macho maduro ya no equilibra la diferencia en potencial genético que podría traer un nuevo semental. En este momento, el sistema de producción obtendría mayor valor reemplazando el semental viejo por uno nuevo de mayor índice.

El uso de Vida Óptima del Semental garantiza que el mejoramiento genético robusto, en las granjas genéticas de PIC, da como resultado la diferenciación de producto obtenido en cierres comerciales.

HERRAMIENTAS ADICIONALES

PIC está en la búsqueda continua de oportunidades para usar la mejor información disponible para mejorar aún más los servicios y productos destinados a los centros de sementales. Regularmente, diferentes centros de clientes entregan datos de la calidad de semen los que se usan como parte del cálculo general del índice con el objetivo de mejorar de manera continua la calidad del semen de los sementales. Además, en PICtraq® se encuentran disponibles las diferentes herramientas de análisis para los centros de sementales. Para mayor información contacte a su representante de Servicios Genéticos de PIC.

ESPECIFICACIONES DEL AGUA PARA CERDOS

ELEMENTO	PPM (PARTES POR MILLÓN)
Calcio	<1,000
Cloruro	<400
Cobre	<5
Flúor	<2-3
Dureza (Carbonato de Calcio)	< 60 blanda > 200 dura
Hierro	<0.5
Plomo	<0.1
Magnesio	<400
Manganeso	<0.10
Mercurio	<0.003
Nitritos	<10
Nitratos	<100
Fósforo	<7.80
Potasio	<3
Sodio	<150
Selenio	<0.05
Sólidos disueltos	<1,000
Sulfato	<1,000
Zinc	<40
Recuento total de bacterias viables (TVC, sus siglas en Inglés) por ml 37 °C/99 °F	Bajo, pero lo más importante es que no exista fluctuación entre las muestras, meta < 200 TVC/ml
22 °C/72 °F	< 10,000 TVC/ml
Coliformes/100 ml	Cero

Adaptado de NRC (2012) y Grupo de trabajo sobre la Norma de Calidad del Agua, 1987, Norma Canadiense para la Calidad del Agua, Dirección de Aguas Continentales, Ottawa, Ontario

EVALUACIÓN DE LA CALIDAD DEL AGUA PARA CERDOS EN FUNCIÓN AL TOTAL DE SÓLIDOS DISUELTOS (NRC, 2012).

TOTAL DE SÓLIDOS DISUELTOS (MG/L)	CALIFICACIÓN	COMENTARIOS
< 1,000	Seguro	Sin riesgo para los cerdos
1,000 – 2,999	Satisfactorio	Diarrea suave en cerdos no acostumbrados
3,000 – 4,999	Satisfactorio	Puede producir rechazo temporal al agua
5,000 – 6,999	Razonable	Evitar niveles mayores en reproductores
> 7,000	No apto	Peligroso para reproductores y cerdos expuestos a estrés térmico

APÉNDICE B:

NIVEL DE ALIMENTO EN FUNCIÓN AL PESO CORPORAL DEL SEMENTAL¹

PESO CORPORAL, KG	PESO CORPORAL, LB	MCAL EM/D	MCAL EN/D	ALIMENTO, LB/D	ALIMENTO, KG/D
<159	<350	7.2	5.3	5.0	2.3
159	350	7.9	5.9	5.5	2.5
205	450	8.6	6.4	6.0	2.7
250	550	9.5	7.0	6.6	3.0
295	650	10.4	7.7	7.2	3.3
341	750	11.2	8.3	7.8	3.5

Adaptado de Memorando Técnico PIC 142, Asume temperatura ambiental de 17-18oC/62-65°F, Basado en una densidad de energía de la dieta de 2350 kcal NRC EN/kg,

USO DE REFRACTÓMETROS PARA QC DEL DILUYENTE DE SEMEN

La preparación del diluyente líquido de semen es uno de los puntos más vulnerables en el procesamiento del semen. Proporciones incorrectas de agua-diluyente pueden tener un efecto negativo en la viabilidad de las células del semen conservado. Dependiendo del grado de error en la mezcla, esto podría ocasionar efectos negativos mínimos hasta una pérdida del 100% de las células del semen en la dosis. La refractometría es una herramienta económica y fácil de usar para confirmar la correcta preparación del diluyente.

REFRACTÓMETRO

La mejor opción es un refractómetro Brix 18. Tiene una escala de 1 a 18% Brix, dividida en graduaciones de 1%.

CALIBRACIÓN

Calibre el refractómetro semanalmente según el manual de usuario. En la mayoría de los casos, se usa agua purificada para ajustar la escala Brix en 0%.

ESTABLECIENDO EL VALOR DE REFERENCIA (BENCHMARK)

El valor-Brix varía entre diluyentes, dependiendo de sus ingredientes. La calidad del agua también influye en el valor. Para ajustar el valor de referencia se debe conocer el valor específico de su diluyente, el cual debería estar entre 4 y 5% Brix, en la mayoría de los casos. Para definir su rango aceptable, mida su valor Brix cinco días consecutivos de producción. Debe repetir este procedimiento cada vez que cambie de diluyente o de ingredientes del diluyente.

USO DEL REFRACTÓMETRO

Asegúrese de que el instrumento esté calibrado. Con una pipeta coloque una gota de diluyente en el área de medición azul. Toda el área debe quedar cubierta con el fluido. Mire a través del ocular y lea el valor Brix. Si el valor está fuera del rango (más de ± 0.5) asegúrese de que su refractómetro está calibrado y de que se usó correctamente, luego repita la medición. Si el valor sigue fuera del rango, no use el diluyente para la conservación del semen y prepare una nueva cubeta.

PUNTOS CRÍTICOS:

- Refractómetro se debe calibrar regularmente
- El Valor Brix puede cambiar si ha cambiado el diluyente o si se agregan otros ingredientes
- Valor Brix puede cambiar si cambia la calidad del agua
- Las mediciones se debe hacer siempre a temperaturas similares del diluyente
- El fluido debe cubrir toda el área de medición azul

EJEMPLO PARA EMPAQUE DEL SEMEN



1. Preparar los revestimientos y las hieleras



2. Colocar las dosis en la bolsa Thermalast dentro de la hielera interna



3. Colocar una bolsa de gel a temperatura ambiente



4. Tapar la hielera y sellarla con cinta adhesiva



5. Envolver la hielera interna con una bolsa Thermalast



6. Colocar la hielera interna dentro de la hielera externa y agregar bolsas de gel (frías o tibias dependiendo de la estación del año)



7. Poner la tapa y sellarla con cinta adhesiva



8. Coloque en la caja para el envío.

PIC North America

100 Bluegrass Commons Blvd. | Suite 2200 | Hendersonville, TN 37075 | 800-325-3398 | www.PIC.com