

Transferencia embrionaria en équidos



Balerdi, Azpeitia Eñaut

Deontología y veterinaria legal

Curso 2012-2013

Índice:

| | |
|-------------------|-------|
| Índice..... | 2 |
| Introducción..... | 4 |
| Tècnica..... | 5-8 |
| Legislación..... | 9-18 |
| Encuesta..... | 19-20 |
| Entrevista..... | 21-22 |
| Conclusión..... | 23 |
| Bibliografía..... | 24-25 |

Introducción

La transferencia de embriones es la técnica que consiste en extraer un embrión del útero de una yegua, la madre biológica (la donante) y colocarlo en el útero de otra yegua (la receptora). La receptora es la que lleva el embrión / feto y la que da a luz al potr@. Bajo condiciones prácticas, el término transferencia de embriones debe entenderse como un conjunto de técnicas que permiten producir, recuperar y transferir embriones. El grado de éxito, medido en gestaciones y/o crías producidas, depende de la perfección con que cada una de ellas se realice. Algunas de estas técnicas son: Selección de donadoras, de receptoras, superovulación, sincronización del estro entre donadoras y receptoras, recuperación y evaluación de embriones, y finalmente la transferencia.

La transferencia de embriones en equinos fue reportada por primera vez en 1972 en Gran Bretaña por Oguri y Tsutsumi(1). A pesar de los esfuerzos de muchos clínicos y laboratorios que trabajan en el campo equino, el progreso ha sido lento en comparación con lo que se ha logrado en las especies bovina, ovina y porcina. Una de las razones principales de que la transferencia de embriones en equinos haya progresado tan lento es la falta de interés mostrada por la mayoría de las asociaciones de registro caballar (studbooks) durante los años 70-90. Por otro lado, razones técnicas como la mala respuesta del ovario a los tratamientos de superovulación debido a su estructura y baja sensibilidad a las gonadotropinas exógenas han complicado la utilización y difusión de la citada técnica de reproducción asistida. Las mejoras técnicas en cuanto a la sincronización de celos, superovulación, flushing y transferencia de los embriones obtenidos han hecho que la transferencia embrionaria se sitúe nuevamente en el punto de mira de ganaderos de élite(6) y puede que por ello las principales asociaciones de registro caballar exceptuando el del Pura Sangre Ingles (Thoroughbred) han optado por aceptarlo.

Esta técnica es útil para reproducir animales con aptitudes morfológicas o funcionales admirables, pero también se puede utilizar como herramienta en yeguas con ciertos problemas de fertilidad y para reducir la transmisión de ciertas enfermedades al controlar exhaustivamente a los reproductores o incluso mediante lavado de los embriones. La transferencia embrionaria además de lo expuesto puede servir en aquellas razas que se encuentran en peligro de extinción o amenazadas para conseguir una mayor variabilidad genética de la población, basando dicho objetivo en explotar no solo los recursos genéticos del macho (algo que se hace mediante inseminación artificial), sino incrementando la producción reproductiva de la hembra, obteniendo varias crías por año, algo imposible en condiciones naturales de cría.

Por otro lado está la implicación moral y ética de esta técnica. El veterinario bajo ningún concepto puede violar sus principios morales y debe ser sensible con sus pacientes y respetarlos. Por ello el veterinario tiene el derecho de rehusar cualquier intervención que considere inaceptable. El veterinario debe hablar con sinceridad con los clientes que quieran emplear esta técnica en sus animales, y el consentimiento informado debe estar a la altura del nivel especial de responsabilidad profesional establecido por las normas éticas. Por ello, las organizaciones que establecen los reglamentos y normativas, en especial la Unión Europea y los organismos consultores, como la Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE) y la Sociedad Internacional de Transferencia de Embriones (IETS), han incluido la ética, la protección y el bienestar animal como parte de su misión y de sus objetivos, además de la estricta reproducción higiénica de los animales.

Técnica:

1. Manejo de la yegua

Yeguas donantes - Debe realizarse un examen completo de evaluación reproductiva de la yegua donante para saber si esa yegua puede ser usada en un programa de transferencia embrionaria. Si se identifican en el examen anormalidades que necesitan tratamiento (ej: endometritis bacteriana) deben ser tratadas antes de utilizar a la yegua para transferencia embrionaria. El manejo de la donante incluye el recelo (retajeo) para monitorear la conducta reproductiva, la palpación rectal y ultrasonografía para monitorear la actividad folicular durante el ciclo estral. Durante el celo, la donante es examinada diariamente para evaluar el crecimiento folicular que permite saber el momento óptimo de la inseminación con semen fresco, refrigerado o congelado (7). La ovulación es inducida utilizando gonadotrofina coriónica humana (5 UI/kg. EV o IM) o la aplicación de agonistas de la hormona liberadora de gonadotrofinas (GnRH) acetato de deslorelin (); 2.2 mg pellet eficiente para inducir la superovulación en las yeguas y esto limita la eficiencia de la transferencia embrionaria. (8).

Yeguas receptoras - La selección y el manejo de la yegua receptora es posiblemente el factor más importante que afecta el éxito de un programa de transferencia embrionaria. Las yeguas receptoras deben tener ciclos estrales normales, y estar libres de normalidades uterinas y ováricas. La edad óptima de las yeguas receptoras es de 3 a 10 años. La sincronización entre la yegua donante y la yegua receptora puede ser llevada a cabo usando prostaglandina F2 α (PGF2 α) sola o combinada con progesteronona exógena (9). Las yeguas en celo son examinadas diariamente por palpación rectal y ultrasonografía para monitorear el crecimiento folicular y detectar la ovulación. La sincronización de la ovulación entre la yegua receptora y la yegua donante tiene un intervalo de +1 a -3 días (ej: la yegua receptora puede ovular un día antes y hasta 3 días después que la yegua donante) (10). Con el objetivo de eliminar la necesidad de sincronizar yeguas donantes y receptoras, se han utilizado yeguas ovariectomizadas tratadas con progestágenos como receptoras (11-14) sin embargo, el éxito obtenido varía y el método no ha sido ampliamente adoptado.

2. Recuperación embrionaria

Los embriones equinos son selectivamente transportados a través del oviducto hacia el útero entre los días 5½ a 6 postovulación (15), estando en estadios de desarrollo de mórula compacta (a blastocito temprano. Después de entrar al lumen uterino, el tamaño del embrión crece exageradamente hasta blastocito expandido. Aunque los embriones pueden ser recuperados entre los días 6 y 9 después de la ovulación, los días óptimos son el séptimo o el octavo. La principal indicación para recuperar embriones en el día 6 es para realizar el congelamiento de dichos embriones (10). Los embriones no son recuperados en el día 9 porque el porcentaje de transferencia exitosa es generalmente más bajo que para los embriones recuperados en los días 7 u 8 (10).

La recolección embrionaria es realizada por lavado uterino transcervical. Después de colocar a la yegua en el brete, la zona del periné es lavada usando detergente suave, bien enjuagado con agua limpia y secada. El operador se coloca un guante de plástico estéril en el brazo y gel lubricante estéril, luego introduce el catéter (o la sonda) estéril, que

cuenta con un balón en la vagina. El autor utiliza un catéter de silicona de 80 cm con un diámetro interno de 8 mm (Escala Francesa 33); también están disponibles otros catéteres de lavado. Después de meter el catéter en la vagina éste es colocado a través del cérvix en el cuerpo uterino, el balón es insuflado con 80 cc de aire o solución salina estéril y luego se tracciona hacia atrás contra el orificio cervical interno para prevenir la pérdida de líquido. Una vez colocado el catéter, el útero es lavado tres a cuatro veces con solución salina amortiguada con fosfatos puro o modificado (DPBS) previamente entibiado (30 - 35° C) conteniendo 1% (v/v) de suero fetal bovino, penicilina (100 unidades/ml) y estreptomicina (100 µg/ml). El útero es llenado con 1 a 2 litros de DPBS en cada lavado (4 a 8 litros son usados durante todo el proceso de recolección). Después de llenado el útero se le permite al líquido salir y pasar a través de un filtro para embriones de 0.75µ. Es importante que el filtro de embriones no rebase o quede sin líquido; los filtros son ahora diseñados para prevenir ambos problemas. El líquido que pasa por el filtro es recolectado para evaluar cuánto se recuperó. Después del primer lavado el útero es masajeado a través del recto durante los subsiguientes lavados, y esto puede ayudar a que el embrión quede suspendido en el medio y además aumentar la recuperación total del líquido. La mayoría (> 90%) del líquido de lavado debería ser recuperado y estar libre de restos celulares o de sangre. La recuperación de líquido de lavado opaco indica que la yegua tiene un proceso de endometritis activa en el momento del lavado, y necesitará una evaluación diagnóstica futura. La presencia de sangre es asociada con un masajeo vigoroso del útero y/o la manipulación del catéter.

Una vez finalizado el lavado el contenido del filtro es vaciado en una caja de Petri con cuadrícula para la búsqueda y enjuagado con DPBS. El líquido recuperado es revisado utilizando un microscopio estereoscópico a un aumento de 15x. Los embriones de 8 días usualmente se ven a simple vista. Cuando un embrión es identificado, es lavado como mínimo por 3 pasajes sucesivos en gotas de un mililitro de medio DPBS con 10% de suero fetal bovino (esterilizado por pasaje por filtro de 0.22 µ); después del lavado el embrión se coloca en el mismo medio en una placa de Petri de 35 x 10 mm. El embrión es evaluado a mayor aumento (40 - 80x) y calificado usando la escala de 1 (excelente) a 4 (pobre) (16). Los embriones pueden ser tomados utilizando pajuelas de 0,25 o 0,5 cc, pipetas capilares de vidrio de 25 µl, o cualquier otro instrumento adosado a una jeringa. Cada vez que se tome un embrión con un tipo de estos capilares o pajuelas, la columna de líquido que contiene el embrión debe ir rodeada de una burbuja de aire en cada extremo y luego una columna de medio líquido sólo. Esto previene accidentes como el de absorber la columna de medio al tocar con el extremo de la pajuela algún material absorbente. El proceso de levantar y depositar un embrión debería ser realizado bajo lupa estereoscópica.

Una vez que los embriones son colocados en el medio de mantenimiento, estos deben ser rápidamente envasados para el transporte o transferidos a una hembra receptora, dado que la viabilidad del embrión disminuye después del almacenamiento por más de 3 horas en DPBS (17). Mientras los embriones están esperando a ser envasados o transferidos, aparentemente toleran temperaturas que varían entre la temperatura ambiente (25° C) y la temperatura corporal (37° C). Sin embargo es importante prevenir los cambios de temperatura rápidos y/o extremos.

3. Envasado de los embriones para transporte

Los embriones equinos son refrigerados y transportados utilizando el método desarrollado por Carnevale et al., (18), que utiliza al medio F-10 de Ham como medio de mantenimiento y refrigeración. Previo a la utilización del medio éste debe ser amortiguado utilizando una mezcla de gases; 90 % N₂, 5% O₂, y 5% CO₂ gaseando el medio durante 3 a 5 minutos. Luego el medio es suplementado con 10% (v/v) suero fetal bovino, penicilina (100 unidades/ml) y estreptomicina (100 µg/ml). Debido a que el medio F-10 de Ham debe ser gaseado antes de ser usado y esto requiere de un tanque de la mezcla de gases con su válvula reguladora, muchos veterinarios solicitan que el centro de transferencia embrionaria les envíe el medio F-10 de Ham ya gaseado antes de la recuperación del embrión.

Para envasar el embrión, se esteriliza el medio F-10 de Ham por filtrado y se coloca en tubos de 5 ml con tapa a presión, dejando un espacio de aire en la parte superior. Despues se transfiere cuidadosamente al embrión dentro del medio, el tapón es colocado a presión, y el tubo es envuelto en parafilm ®. En seguida se llena un tubo de centrífuga de 50 ml con medio F-10 de Ham (no filtrado) y se coloca dentro el tubo de 5 cc conteniendo el embrión. La tapa del tubo de 50 ml es colocada tratando de eliminar la mayor parte de aire posible y luego es envuelto en parafilm®. El embrión ya envasado es colocado en un Equitainer ® que enfriá lentamente al embrión hasta 5°Celsius. En estas condiciones el embrión puede mantenerse viable como mínimo 24 horas, durante este tiempo puede ser transportado por una línea aérea comercial o despachado en forma urgente hasta el centro de transferencia embrionaria.

4. Transferencia embrionaria

La transferencia embrionaria puede ser realizada en forma quirúrgica o no quirúrgica, sin importar si el embrión es transferido inmediatamente después de ser recuperado o después de ser refrigerado. Históricamente la transferencia embrionaria quirúrgica ha dado los mejores y más consistentes resultados de preñez, aproximadamente 70 a 75% una semana después de la transferencia (19). Comunicaciones recientes de la técnica de transferencia no quirúrgica han demostrado un porcentaje de éxito igual y hasta superior al obtenido con la transferencia quirúrgica (20-21). La transferencia quirúrgica es realizada con la yegua en estación, por laparotomía por el flanco utilizando sedación y tranquilización en conjunto con anestesia local. Utilizando una técnica quirúrgica convencional se exterioriza el cuerno uterino a través de la incisión en el flanco, se perfora la superficie usando una aguja y luego se agranda colocando un fórceps de iris a través de la incisión hasta la luz uterina. El embrión contenido en un pequeño volumen de medio (< 250 µl) en una pajuela o en otro tipo de capilar, es depositado en la luz uterina. El orificio en el cuerno uterino no es suturado, el útero es colocado nuevamente en el interior del abdomen y la pared abdominal es suturada con la técnica estándar. Debido a la movilidad del embrión equino en el lumen uterino, este puede ser transferido en el cuerno uterino ipsilateral o contralateral a la ovulación. La transferencia embrionaria no quirúrgica es usualmente realizada utilizando: 1) pipeta de inseminación artificial estándar, 2) pistola de inseminación plástica desechable, o 3) pistola de inseminación de acero inoxidable reusable. En todos los casos se utiliza una camisa sanitaria plástica estéril para cubrir los instrumentos de transferencia. Para realizar la transferencia no quirúrgica, la yegua es colocada en un brete, sedada y luego se prepara el área perineal como fue descrito para la recolección embrionaria. El

operador se coloca un guante plástico estéril en el brazo y encima un guante de látex estéril. Se coloca gel lubricante estéril en el dorso de la mano del operador y sobre la vulva de la yegua. La punta del instrumento de transferencia (cubierto por la camisa sanitaria estéril) es colocada en la palma de la mano y la punta es protegida por el pulgar. El instrumento es colocado a través de la vagina y la punta introducida en el orificio cervical externo aproximadamente 0.5 cm y en este momento se adelanta hacia la luz del cuerpo uterino. El embrión puede ser depositado en el cuerpo uterino o en alguno de los cuernos uterinos. Para depositar el embrión en el cuerno uterino el instrumento es guiado por palpación transrectal. Ubicado correctamente, el instrumento de transferencia es retirado lentamente de manera que la punta no sea obturada por la pared del endometrio mientras se descarga el embrión.

5. Resumen

La transferencia embrionaria equina es una valiosa técnica de reproducción asistida en la yegua. Aunque inicialmente el uso de la transferencia embrionaria en los programas comerciales fue obstaculizado por la necesidad de tener un grupo de yeguas receptoras en el lugar de la recolección embrionaria, o transportar a las yeguas donantes a los centros de transferencia embrionaria, el desarrollo de métodos exitosos de transporte de embriones refrigerados eliminó la necesidad de mantener a las yeguas receptoras en el mismo sitio. El transporte de embriones y el hecho de que los materiales necesarios para la recolección y transporte son accesibles, permite que más veterinarios ofrezcan el servicio de transferencia a los clientes que solicitan esta técnica. Aunque el servicio de transferencia embrionaria es accesible a más propietarios y criadores de caballos, la eficiencia de la transferencia embrionaria se ve limitada por la inhabilidad de inducir la superovulación en las yeguas.

Legislación:

Legislación española:

Real Decreto 1316/1992 del 30 de octubre por el que se establecen los controles veterinarios y zootécnicos aplicables en los intercambios intracomunitarios de determinados animales vivos y productos con vistas a la realización del mercado interior.

Real Decreto 1881/1994 del 10 de septiembre por el que se establecen las condiciones de policía sanitaria aplicables a los intercambios intracomunitarios ya las importaciones procedentes de países terceros de animales, esperma, óvulos y embriones no sometidos, respecto a estas condiciones, a las disposiciones contenidas en la sección 1^a del anexo A del RD 1316/1992.

Real Decreto 1133/2002 de 31 de octubre, el presente Real Decreto establece las condiciones zootécnicas y genealógicas de los équidos de pura raza y équidos registrados, el régimen jurídico referente a la gestión de los libros genealógicos, procedimientos y criterios de inscripción.

Ley 8/2003 de 24 de abril, de sanidad animal.

Real Decreto 1429/2003 de 21 de noviembre, por el que se regulan las condiciones de aplicación de la normativa comunitaria en materia de subproductos de origen animal no destinados al consumo humano.

Real Decreto 517/2005 de 6 de mayo, por el que se modifica el Real Decreto 1133/2002 de 31 de octubre, por el que se regulan en el ámbito de las razas equinas, el régimen jurídico de los libros genealógicos, las asociaciones de criadores y las características zootécnicas de las diferentes razas.

Real Decreto 662/2007 de 25 de mayo de 2007, sobre selección y reproducción de ganado equino de razas puras. (Vigente hasta el 28 de enero de 2009). Este Real Decreto tiene por objeto establecer:

- o El régimen jurídico del reconocimiento oficial de las asociaciones de criadores de équidos registrados para la gestión de los libros genealógicos.
- o Las condiciones zootécnicas y genealógicas que regulan los intercambios comunitarios de équidos y las importaciones de terceros países.
- o El régimen jurídico de los libros genealógicos de équidos así como los criterios de inscripción de los animales, y de selección de reproductores en los mismos.

Real Decreto 2129/2008 de 26 de diciembre, por el que se establece el Programa nacional de conservación, mejora y fomento de las razas ganaderas.

Legislación europea:

Directiva 91/496/CEE, de 15 de julio de 1991, por la que se establecen los principios relativos a la organización de controles veterinarios de los productos que se introduzcan en la Comunidad procedentes de países terceros y por la que se modifica las Directivas 89/662/CEE, 90/425/CEE y 90/675/CEE. En esta directa se establece que cada lote de animales procedentes de terceros países serán sometidos por las autoridades competentes a un control documental, a un control de identidad ya un control físico, en un puesto de inspección situado en la inmediata proximidad del punto de entrada en el territorio comunitario o, en su caso, en una estación de cuarentena. Entonces, cuando se cumplen los requisitos veterinarios de importación y no hay peligro para la salud pública y la sanidad animal, el veterinario responsable del puesto de inspección expide un certificado. En lo que respecta los sistema de datos, la Comisión trabaja con un conecta los servicios de los sitios de inspección de las fronteras y las autoridades veterinarias de la misma. Este sistema, llamado Traces (sistema que ha sustituido al antiguo SHIFT), incluye los elementos relativos a las importaciones de animales procedentes de terceros países y está conectado con el sistema de intercambio de datos entre las autoridades veterinarias, establecido por la Directiva 90/425/CEE.

Directiva 92/65/CEE, del Consejo de 13 de julio de 1992. Establece las condiciones de policía sanitaria aplicables a los intercambios y las importaciones en la Comunidad de animales, esperma, óvulos y embriones no sometidos, con respecto a estas condiciones, a las normativas comunitarias específicas a la que se refiere la sección. En el artículo 4 del capítulo II, sobre las disposiciones aplicables a los intercambios, dice que se deberán hacer examinar con regularidad los animales, deberá declarar cualquier enfermedad de declaración obligatoria. Concretamente, para caballos sementales y hembras donantes se someterse a pruebas para la detección de anemia infecciosa equina y metritis contagiosa equina. También se deberá declarar la aparición de enfermedades en las que se haya establecido un programa de lucha o vigilancia en el Estado miembro y deberán respetarse las medidas nacionales impuestas por la lucha de la enfermedad. En cuanto a la comercialización, sólo se podrá llevar a cabo con aquellos animales que no presenten signos de enfermedad y que procedan de explotaciones o de zonas que no sean objeto de ninguna medida de prohibición por motivos de policía sanitaria. También pueden entrar en el comercio aquellos que no tengan certificado sanitario, pero que lleven un autocertificado del empresario, que acredite que los animales de que se trate no presentan ningún signo aparente de enfermedad y que su explotación no está sometida a medidas de restricción de policía sanitaria.

Directiva 94/28/CE, de 23 de junio de 1994, por la que se establecen los principios relativos a las condiciones zootécnicas y genealógicas aplicables a la importación de animales, esperma, óvulos y embriones, procedentes de terceros países y por la que se modifica la Directiva 77/504/CEE referente a animales de la especie bovina de raza selecta para reproducción.

Decisión 95/294/CE, de la Comisión de 6 de abril de 1995 (se modifican los anexos CI D de la Directiva 92/65/CEE del Consejo en lo que establece el modelo de certificado sanitario para el comercio de óvulos y embriones de la especie equina).

Decisión 96/79/CE de la Comisión de 12 de enero de 1996. establecen certificados zootécnicos relativos al esperma, óvulos y los embriones de los équidos registrados.

Reglamento (CE) 1802/2002, de la Comisión de 10 de octubre de 2002 (rectifica el Reglamento (CE) 1282/2002 y determinados anexos de la Directiva 92/65/CEE del Consejo). Establece las condiciones de policía sanitaria aplicables a los intercambios y las mimportaciones en la Comunidad de animales, esperma, óvulos y embriones no

sometidos, con respecto a estas condiciones, a las normativas comunitarias específicas a que se refiere la sección I del anexo A de la directiva 90/425/CEE.

Decisión 2004/211/CE, de la Comisión, de 6 de enero de 2004. Establece la lista de terceros países y partes de su territorio a partir de los cuales los Estados miembros autorizan la importación de équidos vivos y esperma, óvulos y embriones de la especie equina y por lo que se modifican las decisiones 93/195/CEE y 94/63/CE. El anexo 1 de la presente Decisión se ve modificada por la Decisión 2011/686/UE, de la Comisión de 13 de octubre de 2011.

Decisión 2004/186/CE, de la Comisión del 16 de febrero de 2004 (se modifican determinados anexos de la decisión 96/510/CE). Se refiere a los requisitos zootécnicos para la importación de esperma, óvulos y embriones de la especie equina.

Reglamento (CE) 668/2004, de la Comisión de 10 de marzo de 2004 (modifica algunos anexos del Reglamento (CE) 1774/2002 del Parlamento Europeo y del Consejo). habla de la importación de subproductos animales de terceros países.

Decisión 2007/240/CE, de la Comisión de 16 de abril de 2007. establecen nuevos certificados veterinarios para la introducción en la Comunidad de animales vivos, esperma, embriones, óvulos y productos de origen animal, en el marco de las decisiones 79/542/CEE, 92/260/CEE, 93/195/CEE, 93/196/CEE, 93/197/CEE, 95/328/CE, 96/333/CE, 96/539/CE, 96/540/CE, 2000/572/CE, 2000/585/CE, 2000/666/CE, 2002/613/CE, 2003/56/CE, 2003/779/CE, 2003/804/CE, 2003/858/CE, 2003/863/CE, 2003/881/CE, 2004/407/CE, 2004/438/CE, 2004/595/CE, 2004/639/CE y 2006/168/CE. dispone que los diferentes certificados veterinarios, sanitarios y zoosanitarios exigidos por la introducción en la Comunidad de animales vivos, esperma, embriones, óvulos y productos de origen animal, así como los certificados por el tráfico a través de la Comunidad de productos de origen animal, se presentarán tomando como base los modelos únicos de certificado veterinario que figuren en el anexo I de esta decisión.

Directiva 2008/73/CE, del Consejo de 15 de julio de 2008. Simplifica los procedimientos para confeccionar listas y publicar información en los ámbitos veterinarios y zootécnicos y modifica las Directivas 64/432/CEE, 77/504/CEE, 88/407/CEE, 88/661/CEE, 89/361/CEE, 89/556/CEE, 90/426/CEE, 90/427/CEE, 90/428/CEE, 90/429/CEE, 90/539/CEE, 91/68/CEE, 91/496/CEE, 92/35/CEE, 92/65/CEE, 92/66/CEE, 92/119/CEE, 94/28/CE, 2000/75/CE, la Decisión 2000/258/CE y las Directivas 2001/89/CE, 2002/60/CE y 2005/94/CE. Establece que los óvulos y embriones de las especies ovina, caprina, equina y porcina deben ser extraídos por equipos de recogida o producidos por un equipo de producción autorizados por la autoridad competente de un Estado miembro. Las condiciones de autorización de estos equipos están especificadas en la Directiva 92/65/CEE al anexa D.

- o Capítulo I: condiciones aplicables a los centros de recogida de esperma, centros de almacén de esperma, equipos de recogida de embriones y equipos de producción de embriones.
- o Capítulo II: condiciones aplicables a los animales donantes.
- o Capítulo III: requisitos aplicables al esperma, óvulos y embriones.
- Según esta directiva, los Estados miembros deben redactar y mantener al día las listas de los establecimientos zoosanitarios y ponerla a disposición del resto de los Estados miembros y del público. por uniformizar los modelos de esas listas y facilitar el acceso a las actualizaciones, es necesario

establecer criterios comunes siguiendo el procedimiento de comitología. Los procedimientos se han simplificado en la Decisión 2009/436/CE. Al anexa I de la Decisión 2007/240/CE expone un modelo de certificado veterinario para la UE para esperma, embriones y óvulos. Este nuevo procedimiento se aplicará también a el ámbito zootécnico, en particular a las asociaciones de cría autorizadas para llevar o crear libros genealógicos en los Estados miembros.

Decisión 2009/436/CE, del Consejo de 5 de mayo (corrige la directiva 2008/73/CE). se habla de simplificar los procedimientos para confeccionar listas y publicar información en los ámbitos veterinarios y zootécnicos.

Reglamento (UE) 176/2010, de la Comisión de 2 de marzo de 2010 (se modifica el anexo D de la Directiva 92/65/CEE del Consejo). Hace referencia a los centros de recogida y almacenamiento de esperma, los equipos de recogida y producción de embriones y las condiciones aplicables a los animales donantes de las especies equina, ovina y caprina y la manipulación de esperma, óvulos y embriones de estas especies.

La Sociedad Internacional de Transferencia de Embriones (IETS, en sus siglas inglesas) es una organización internacional y un aforo profesional que, entre otras cosas, fomenta la ciencia de producción de embriones y coordina a nivel internacional las actividades de normalización relacionadas con la manipulación de embriones y los procedimiento de registro. Una de sus funciones principales es la formulación de protocolos de carácter práctico y de base científica, con el fin de evitar los riesgos de transmisión de enfermedades a la transferencia de embriones de los donantes a los receptores. Estos protocolos están basados, en gran medida, en los métodos higiénicos de manipulación de embriones, expuestos a la tercera edición del Manual de la IETS y al Código Terrestre. En algunas enfermedades, estos métodos pueden llegar a servir para sustituir métodos tradicionales o para reforzarlos y complementarlos.

Código sanitario para los animales terrestres, de la OIE (Organización Mundial de la Salud Animal). Los capítulos 4.7, 4.8 y 4.9, de su última versión, de 2011, contienen las recomendaciones sobre la recogida y transformación de embriones obtenidos *in vivo*, de embriones producidos *in vitro* y de embriones micromanipulats, respectivamente. Concretamente, en el artículo 4.7.14 se habla sobre las recomendaciones relativas al riesgo de transmisión de enfermedades por embriones recolectados *in vivo*, basadas en las conclusiones extraídas por la IETS (Sociedad Internacional de Transferencia de Embriones). En el capítulo 04:11 habla sobre la transferencia nuclear de células somáticas en el ganado y los caballos de cría. Otros puntos a destacar de esta edición es el hecho de que se propuso como definición del término "Biotecnología reproductiva" la generación de animales mediante el uso de tecnologías reproductivas asistidas, que abarquen desde la inseminación artificial hasta tecnologías que impliquen un componente *in vitro*, entre las que se encuentra la transferencia de embriones.

C A P Í T U L O 4 . 7 .

RECOLECCIÓN Y MANIPULACIÓN DE EMBRIONES DE GANADO Y ÉQUIDOS RECOLECTADOS *IN VIVO*

Artículo 4.7.1.

Objetivos del control

El objetivo del control sanitario oficial de los embriones recolectados *in vivo* o para la exportación es garantizar la ausencia de gérmenes patógenos específicos que pueden hospedar los embriones y evitar la contaminación de las hembras receptoras y de su descendencia.

Artículo 4.7.2.

Condiciones aplicables al equipo de recolección de embriones

El equipo de recolección de embriones es un grupo de técnicos capacitados para proceder a operaciones de recolección, tratamiento y conservación de embriones, que comprende por lo menos un *veterinario* y que reúne las siguientes condiciones:

1. El equipo deberá ser aprobado por la *Autoridad Competente*.
 2. El equipo debe estar supervisado por un *veterinario* miembro del mismo.
 3. El *veterinario* del equipo es responsable de todas las actividades del equipo, que incluyen la inspección sanitaria de los animales donantes, la manipulación y cirugía de las hembras donantes en condiciones sanitarias apropiadas y los procedimientos de *desinfección* e higiene.
 4. El personal del equipo debe estar debidamente adiestrado a aplicar las técnicas y los principios de control de *enfermedades* y debe respetar reglas de higiene estrictas para evitar la introducción de *infecciones*.
 5. El equipo de recolección debe trabajar en instalaciones adecuadas y disponer del material necesario para:
 - a) la recolección de embriones;
 - b) el tratamiento y la manipulación de embriones en un laboratorio fijo o móvil;
 - c) el almacenamiento de embriones.
- No es necesario que estas instalaciones estén situadas en el mismo lugar.
6. El equipo de recolección de embriones debe llevar un registro de sus actividades que conservará durante, por lo menos, los dos años consecutivos a la exportación de los embriones para presentarlo a la *Autoridad Veterinaria* en caso de inspección.
 7. El equipo de recolección de embriones debe ser inspeccionado por un *veterinario oficial* periódicamente y, a lo mínimo, una vez al año para asegurarse de que respeta las normas sanitarias durante la recolección, la manipulación y la conservación de los embriones.

Artículo 4.7.3.

Condiciones aplicables a los laboratorios de manipulación

El laboratorio de manipulación utilizado por el equipo de recolección puede ser móvil o fijo. Es un local en el que los embriones son extraídos del medio de recolección, examinados y sometidos a los tratamientos necesarios, como el lavado, y examinados y preparados para su congelación y conservación.

Un laboratorio fijo puede formar parte de una unidad de recolección y tratamiento específicamente diseñada para ese fin o ser una parte expresamente acondicionada de un edificio existente, y puede estar situado en el lugar en que residen las hembras donantes. En cualquier caso, el laboratorio debe estar físicamente separado de los *animales* y, tanto en los laboratorios fijos como en los móviles, el sector sucio (mantenimiento de los *animales*) debe estar separado de forma patente del sector limpio destinado a las manipulaciones.

Además:

1. El laboratorio de manipulación debe estar bajo la supervisión directa del *veterinario* del equipo y ser inspeccionado periódicamente por un *veterinario oficial*.
2. Durante las manipulaciones que preceden la conservación de los embriones destinados a la exportación en ampollas, frascos o pajuelas, no deberá efectuarse ninguna operación con embriones de condición sanitaria inferior.
3. El laboratorio de manipulación debe estar protegido contra roedores e insectos.
4. El laboratorio de manipulación debe estar construido con materiales que permitan una limpieza y una *desinfección* eficaces. Estas operaciones deberán efectuarse con frecuencia, y siempre antes y después de cada manipulación de embriones para la exportación.

Artículo 4.7.4.

Condiciones aplicables a la admisión de los animales donantes

1. Hembras donantes

- a) La *Autoridad Veterinaria* debe tener datos y autoridad sobre el *rebaño* del que proceden las hembras donantes.
- b) Las hembras donantes no deben provenir de un *rebaño* o *manada* sujeto a restricciones veterinarias relacionadas con cualquiera de los agentes o las *enfermedades de la Lista de la OIE* que afectan a los *animales* de su especie (véase el Capítulo 1.2. del presente *Código*), aparte de los que la IETS clasifica en la categoría 1 para la especie de embriones que se desea recolectar (véase el Artículo 4.7.14. y la nota 1).
- c) En el momento de la recolección, las hembras donantes deben ser examinadas clínicamente por el *veterinario* del equipo o por un *veterinario* responsable ante el *veterinario* del equipo, el cual deberá certificar que están libres de signos clínicos de *enfermedad*.

2. Reproductores donantes

- a) El semen utilizado para la inseminación artificial de hembras donantes debe haberse obtenido y tratado de conformidad con lo dispuesto en el Capítulo 4.6.
- b) En caso de que el reproductor donante del semen utilizado para la inseminación de hembras donantes y la producción de embriones haya muerto, o de que en el momento de la toma del semen se desconozca el estado de salud del reproductor donante respecto de una *enfermedad* infecciosa o de *enfermedades* contra las cuales conviene protegerse, se podrán exigir exámenes complementarios de las hembras donantes inseminadas después de la recolección de los embriones, para comprobar que no les han sido transmitidas esas *enfermedades* infecciosas. Otro método puede consistir en analizar una parte alícuota del semen tomado en la misma fecha.
- c) En caso de monta natural o de utilización de semen fresco, los reproductores donantes deberán reunir las condiciones sanitarias descritas en el Capítulo 4.6., según su especie.

Artículo 4.7.5.

Gestión del riesgo

En lo que concierne la transmisión de *enfermedades*, la transferencia de embriones recolectados *in vivo* es un método de intercambio de material genético animal que entraña muy poco *riesgo*. Independientemente de la especie animal considerada, el proceso de transferencia de embriones comprende tres fases que determinan el nivel final de *riesgo*:

- 1.** La primera fase, que se aplica a las *enfermedades* no inscritas en la categoría 1 de la clasificación de la IETS1 (Artículo 4.7.14.), está relacionada con el riesgo eventual de *infección* de los embriones, la cual depende:
 - a) de la situación zoosanitaria del *país exportador* y/o de la zona de exportación;
 - b) del estado sanitario de los *rebaños* y de las hembras donantes de las que son extraídos los embriones;
 - c) del poder patógeno de los agentes patógenos específicos que preocupan a la *Autoridad Veterinaria del país importador*.
- 2.** La segunda fase corresponde a la disminución del *riego* mediante la utilización de procedimientos de tratamiento de embriones internacionalmente reconocidos y definidos en el Manual de la IETS2. Dichos procedimientos son los siguientes:
 - a) Los embriones serán lavados 10 veces por lo menos con diluciones de 1/100 por lo menos entre cada lavado, y para transferir los embriones de un lavado a otro se utilizará una pipeta nueva.
 - b) Sólo se lavarán juntos los embriones procedentes de una misma hembra donante, y no más de diez embriones a la vez.
 - c) Cuando la inactivación o la supresión de ciertos virus (herpesvirus-1 de los bovinos y virus de la enfermedad de Aujeszky, por ejemplo) sea necesaria, se modificará el procedimiento estándar de lavado y se harán lavados suplementarios con tripsina, de acuerdo con las indicaciones del Manual de la IETS2.
 - d) Después del lavado se examinará toda la superficie de la zona pelúcida de cada embrión con lentes que aumenten por lo menos 50 veces su tamaño y se certificará que está intacta y exenta de materia adherente.

[NO TA: todos los embriones expedidos deberán ir acompañados de una declaración firmada por el veterinario del equipo responsable del laboratorio, en la que éste certifique que todos

estos procedimientos de tratamiento de los embriones han sido respetados.]

3. La tercera fase, que se aplica a las *enfermedades* no inscritas en la categoría 1 de la clasificación de la IETS1 (Artículo 4.7.14.) y que preocupan a la *Autoridad Veterinaria del país importador*, abarca incluye las reducciones del riesgo resultantes de:

- a) la *vigilancia* de los animales donantes y de sus *rebaños* o *manadas* de origen después de la recolección de los embriones, basándose en los períodos normales de incubación de las *enfermedades* consideradas, para determinar retrospectivamente el estado de salud de los animales donantes mientras los embriones son almacenados en el *país exportador* (si se trata de especies que pueden ser conservadas mediante crioconservación);
- b) el análisis en un laboratorio de los líquidos de recolección de los embriones (enjuague) y de los embriones inviables, o de otras muestras, como la sangre, para detectar la presencia de agentes patógenos específicos.

Artículo 4.7.6.

Condiciones aplicables a la recolección y al almacenamiento de los embriones

1. Medios

Todos los productos biológicos de origen animal presentes en los medios y soluciones utilizados para la recolección, el tratamiento, el lavado o la conservación de los embriones deberán estar exentos de microorganismos patógenos. Los medios y soluciones utilizados para la recolección y la conservación de los embriones se esterilizarán con métodos reconocidos, de conformidad con las indicaciones del Manual de la IETS2, y se manipularán de forma que permanezcan estériles. Se agregarán antibióticos a los medios de recolección, manipulación, lavado y conservación, de conformidad con las recomendaciones del Manual de la IETS2.

2. Material

- a) Todo el material utilizado para la recolección, la manipulación, el lavado, la congelación y la conservación de los embriones deberá ser nuevo idealmente o al menos ser esterilizado antes de ser utilizado, de conformidad con las recomendaciones del Manual de la IETS2.
- b) El material utilizado no deberá ser trasladado de un país a otro para volver a ser utilizado por el equipo de recolección de embriones.

Artículo 4.7.7.

Exámenes y tratamientos facultativos

1. El *país importador* puede solicitar que las muestras sean analizadas para confirmar la ausencia de organismos patógenos transmisibles por los embriones recolectados *in vivo*, o para ayudar a determinar si el grado de control de calidad del equipo de recolección (en cuanto al respeto de los procedimientos descritos en el Manual de la IETS2, es de un nivel aceptable. Las muestras pueden incluir:

a) Ovocitos/embriones inviables

Cuando los embriones de una hembra donante, viables y con zona pelúcida intacta, son para la exportación, todos los ovocitos no fecundados y todos los embriones degenerados o con zona pelúcida alterada tomados de esa misma hembra donante deben ser lavados de conformidad con las indicaciones del Manual de la IETS2 y ser agrupados para ser analizados si lo solicita el *país importador*. Se manipularán y conservarán juntos los ovocitos/embriones inviables procedentes de una la misma hembra donante.

b) Líquido de recolección de embriones (enjuague)

El líquido de recolección se depositará en un recipiente estéril y cerrado y, si es abundante, se dejará reposar durante una hora. Se retirará después el líquido sobrenadante y se decantará en un frasco estéril los 10-20 ml del fondo que contienen los residuos acumulados. Si se utiliza un filtro para la recolección de los ovocitos/embriones, todos los residuos retenidos por el filtro se agregarán, mediante enjuagado, al líquido conservado.

c) Líquido de lavado

Se mezclarán los cuatro últimos líquidos de lavado de los ovocitos/embriones para analizarlos (Manual de la IETS2).

d) Muestras

Las muestras precipitadas se conservarán a 4°C y serán analizadas en un plazo de 24 horas.

Si no pudieran ser analizadas en ese plazo, se conservarán a una temperatura igual o inferior a -70°C.

2. Cuando se modifique el procedimiento de tratamiento de los embriones viables para hacer lavados suplementarios con la enzima tripsina (véase el párrafo 2c del Artículo 4.7.5.), se procederá de conformidad con las indicaciones del Manual de la IETS2. El tratamiento enzimático es necesario solamente cuando puedan estar presentes agentes patógenos contra los cuales la IETS recomienda este tratamiento suplementario (con tripsina, por ejemplo). Cabe señalar que el tratamiento enzimático no es siempre benéfico y no debe ser considerado como un desinfectante general, ya que puede resultar nefasto para la viabilidad de los embriones, por ejemplo en el caso de embriones de équidos cuya cápsula embrionaria podría ser dañada por la enzima.

Artículo 4.7.8.

Condiciones aplicables al almacenamiento y transporte de los embriones

1. Los embriones para la exportación se conservarán en ampollas, frascos o pajuelas esterilizados y precintados, respetando condiciones de higiene rigurosas y en un lugar de almacenamiento autorizado por la *Autoridad Veterinaria del país exportador* en el que los embriones no corran ningún riesgo de contaminación.
2. Sólo se introducirán en una misma ampolla, un mismo frasco o una misma pajuela los embriones procedentes de una misma hembra donante.
3. Si fuese posible, según la especie, los embriones se congelarán, se conservarán luego en nitrógeno líquido fresco dentro de tanques o contenedores limpiados y esterilizados, respetando condiciones de higiene rigurosas en el lugar de almacenamiento autorizado.
4. Las ampollas, los frascos o las pajuelas se precintarán cuando vayan a ser congelados (o antes de ser exportados si el proceso de crioconservación no es posible) y se identificarán claramente con etiquetas, de conformidad con el sistema normalizado recomendado por el Manual de la IETS2.
5. Los contenedores de nitrógeno líquido se precintarán bajo la supervisión del *veterinario oficial* antes de ser expedidos del *país exportador*.
6. Los embriones no deberán exportarse hasta que no se hayan ultimado los certificados veterinarios pertinentes.

Artículo 4.7.9.

Micromanipulación

Si se lleva a cabo la micromanipulación de embriones, se hará una vez completados los tratamientos descritos en el punto 2 del Artículo 4.7.5. y acorde con el Capítulo 4.9.

Artículo 4.7.11.

Condiciones o comentarios específicos aplicables a los embriones de équidos

Estas recomendaciones se aplican sobre todo a los embriones de *an im al e s* que residen permanentemente en las poblaciones equinas nacionales y, por lo tanto, pueden considerarse inadecuadas para los embriones de équidos que participan frecuentemente en pruebas o competiciones internacionales. En algunos casos, esta condición podrá no aplicarse a caballos que viajen acompañados de un *certificado o veterinario internacional* (caballos de competición, por ejemplo), siempre y cuando exista un acuerdo bilateral entre las *Autoridades Veterinarias* interesadas.

Artículo 4.7.14.

Recomendaciones relativas al riesgo de transmisión de enfermedades por embriones recolectados *in vivo*

Basándose en las conclusiones del Subcomité de Investigación del Comité Asesor en Sanidad e Inocuidad (HASAC) de la IETS, las *enfermedades* y los agentes patógenos siguientes se clasifican en cuatro categorías. Esta clasificación sólo se aplica a los embriones recolectados *in vivo*.

1. Categoría 1

a) *Enfermedades* o agentes patógenos sobre los que se ha reunido un número suficiente de pruebas que indican que el riesgo de transmisión es insignificante si los embriones son manipulados correctamente entre su recolección y su transferencia, conforme a lo recomendado en el Manual de la IETS2.

b) Figuran en la categoría 1 las *enfermedades* o los agentes patógenos siguientes:

- *Brucella abortus* (bovinos)
- Encefalopatía espongiforme bovina (bovinos)
- Enfermedad de Aujeszky (pseudorrabia) (suidos): precisa tratamiento con tripsina
- Fiebre aftosa (bovinos)
- Lengua azul (bovinos)
- Leucosis bovina enzoótica
- Prurigo lumbar (ovinos)
- Rinotraqueítis infecciosa bovina: precisa tratamiento con tripsina.

2. Categoría 2

a) *Enfermedades* sobre las que se han reunido pruebas sustanciales que indican que el riesgo de transmisión es insignificante si los embriones son manipulados correctamente entre su recolección y su transferencia, conforme a lo recomendado en el Manual de la IETS2, pero que requieren transferencias suplementarias para corroborar los datos existentes.

b) Figuran en la categoría 2 las *enfermedades* siguientes:

- Artritis/encefalitis caprina
- Lengua azul (ovinos)
- Peste porcina clásica.

3. Categoría 3

a) *Enfermedades* o agentes patógenos sobre los que pruebas preliminares indican que el riesgo de transmisión es insignificante si los embriones son manipulados correctamente entre su recolección y su transferencia, conforme a lo recomendado en el Manual de la IETS2, pero sobre los que se requieren datos experimentales complementarios *in vitro* e *in vivo* para corroborar los resultados preliminares.

b) Figuran en la categoría 3 las *enfermedades* o los agentes patógenos siguientes:

- Adenomatosis pulmonar ovina
- *Campylobacter fetus* (ovinos)
- Encefalopatía espongiforme bovina (caprinos)
- Enfermedad vesicular porcina
- Fiebre aftosa (suidos, ovinos y caprinos)
- *Haemophilus somnus* (bovinos)
- Maedi-visna (ovinos)
- *Mycobacterium paratuberculosis* (bovinos)
- *Neospora caninum* (bovinos)
- Peste bovina (bovinos)
- Síndrome disgenésico y respiratorio porcino (SDRP)
- Virus de la diarrea viral bovina (bovinos)
- Virus de la inmunodeficiencia bovina.

4. Categoría 4

a) *Enfermedades* o agentes patógenos sobre los que se han realizado o están realizando investigaciones que indican:

- i) que no se pueden sacar todavía conclusiones sobre su el nivel de riesgo de transmisión, o
- ii) que el riesgo de transmisión por transferencia de embriones podría no ser insignificante aunque los embriones sean manipulados correctamente entre su recolección y su transferencia, conforme a lo recomendado en el Manual de la IETS2.

b) Figuran en la categoría 4 las *enfermedades* o los agentes patógenos siguientes:

- Anaplasmosis bovina
- *Chlamydia psittaci* (bovinos, ovinos)
- Circovirus porcino (tipo 2) (cerdos)

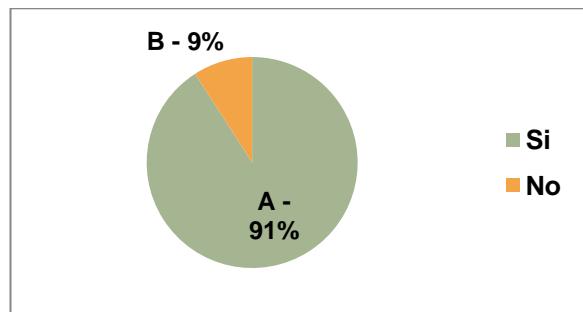
- Dermatosis nodular contagiosa
- Enfermedad de la frontera (Border disease) (ovinos)
- Enterovirus (bovinos, suidos)
- Epididimitis ovina (*Brucella ovis*)
- *Escherichia coli* O9:K99 (bovinos)
- Estomatitis vesicular (bovinos, suidos)
- Herpesvirus 4 de los bovinos
- Lengua azul (caprinos)
- *Leptospira borgpetersen ii* serovar *hardjobovis* (bovinos)
- *Leptospira* sp. (suidos)
- Metritis contagiosa equina
- *Mycobacteriu m bovis* (bovinos)
- *Mycoplasm a* spp. (suidos)
- Parvovirus (suidos)
- Peste porcina africana
- Prurigo lumbar (caprinos)
- Rinoneumonitis equina
- *Tritrichomonas foetus* (bovinos)
- *Ureaplasma/Mycoplasma* spp. (bovinos, caprinos)
- Virus Akabane (bovinos)
- Virus parainfluenza-3 (bovinos).

Encuesta:

Está encuesta se realizó a 22 personas, todas ellas relacionadas con el mundo del caballo, entre ellos: 6 ganadores, 9 jinetes/amazonas, 2 herradores, 3 mozos de cuadra, 2 tratantes.

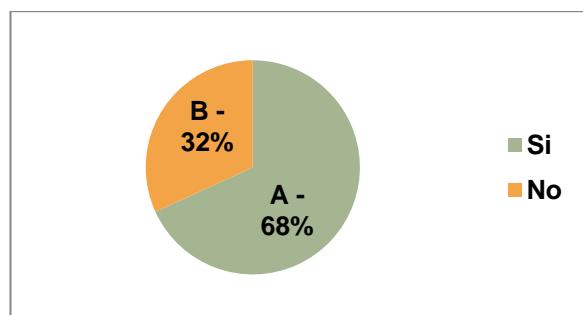
1) ¿Le parece ético la transferencia de embriones en équidos?

- a) Si **20** b) No **2**



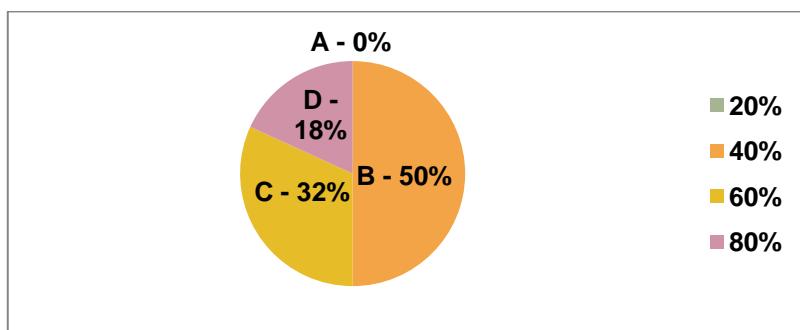
2) ¿Le parece que puede verse afectado psicológicamente la yegua (donadora/receptora), que es sometido a una transferencia embrionaria?

- a) Si **7** b) No **15**



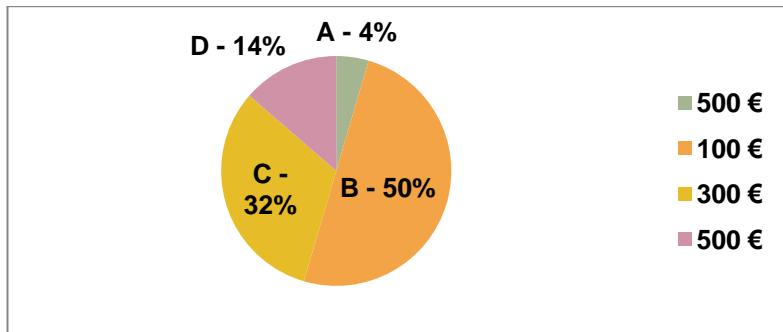
3) ¿Cuál cree que es el porcentaje de éxito de las transferencias embrionarias en equinos?

- a) 20% **0** b) 40% **11** c) 60% **7** d) 80% **4**



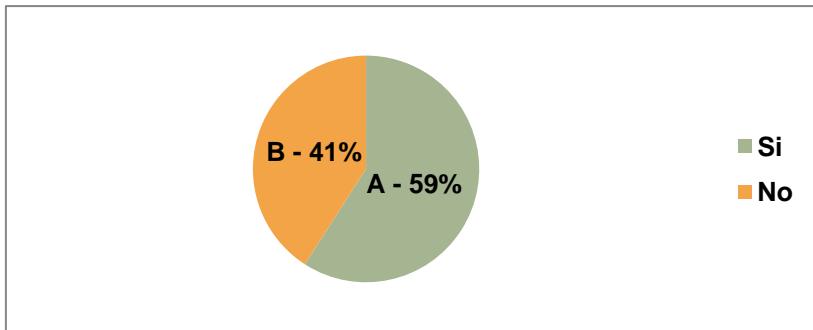
4) ¿Cuál cree que es el precio de una transferencia de embriones en équidos?

- a) 500€ **1** b) 1000€ **11** c) 3000€ **7** d) 5000€ **3**



5) ¿Cree que se debería de ponerse un límite máximo en el número de descendientes por yegua y año?

- a) Si **13** b) No **9**



Entrevista:

Entrevista realizada al Dr. Riera el 19 de diciembre del 2012.

Medico Veterinario, graduado en la Facultad de Ciencias Veterinarias (UBA), Argentina,1983. Médico Residente y Post-Doc, Sección de Estudios de la Reproducción, New Bolton Center, Univ. de Pennsylvania, USA 1986-1990. Director Técnico, Beaufort Embryo Transfer Centre, Westonbirt, GL8 8QW, Inglaterra, 2001-2012. Director Técnico, Centro Doña Pilar, Lincoln (B), Argentina 1997-2012.

1) ¿Qué es lo que no deberíamos de esperar de la transferencia de embriones en equinos?

No deberíamos esperar que un producto sea bueno o malo producto de la transferencia por si misma. El producto será bueno o malo dependiendo de la genética de sus progenitores, de la calidad de la yegua receptora (salud reproductiva, habilidad materna, mansedumbre etc) y la calidad de la crianza (alimentación, manejo sanitario del potrillo etc) La TE por si misma no fabrica atletas, simplemente es una herramienta para multiplicar la genética.

2) ¿Qué beneficios debería de esperar de las trasferencia de embriones?

Es una herramienta para ganar tiempo. Podemos obtener varias crías por año con diferentes padrillos y comenzar a sacar embriones desde los dos o tres años de vida sin interrumpir su actividad de atleta o entrenamiento. Esta pregunta esta contestada extensamente en el libro que mencionas.

3) ¿Cree que puede tener un efecto negativo el uso de hormonas en la salud de las yeguas?

Depende de que hormonas estemos hablando y en qué cantidad, y como se utilicen. Las Pg F2 alpha no produce efectos en la yegua a menos que se administre por vía endovenosa. De otro modo solo producirá alguna reacción (sudoración o discomfort), dependiendo de la dosis y que tipo de prostaglandina sea (las sintéticas como el clorprosteno producirán menor reacción que las prostaglandinas naturales como el DINOPROST. Los inductores de ovulación como la Hormona Coriónica Gonadotrófica Humana (HCG) a las dosis recomendadas no producen reacción adversa aunque potencialmente podría inducir un shock de tipo alérgico. Nosotros nunca en los hemos visto en mas de 30 años trabajando con esa droga. Los progestágenos no producen efectos negativos pero mal administrados producen efectos negativos en el ciclo normal de la yegua.

4) ¿Cree que puede tener algún efecto psicológico negativo la realización de ET, ya sea en la donadora o en la receptora?

No creo

6) ¿Cree que son menores las probabilidades de éxito con embriones congelados?

Los porcentajes de preñez con embriones “frescos” son superiores a al de vitrificados o congelados. Se puede esperar en condiciones normales un 75 a 85% de preñez con embriones frescos a los 14 días post ovulación con una reabsorción cercana al 10-12%. Para embriones vitrificados de menos de 280 micrones de diámetro se puede esperar un porcentaje de preñez del 50% aprox con una reabsorción levemente mayor. Embiones de más de 280 micrones de diámetro tienen muy baja viabilidad. Recientemente hemos publicado con Texas A&M University un trabajo vitrificando embriones de mas de mas de 300 micras que fueron tratados mediante micromanipulacion para eliminar el contenido del blastocele hasta un 20% del volumen original. Mediante este mecanismo logramos un porcentaje de 70% de preñez.

7) Comenta en el apartado 16 del libro “Equine breeding management and artificial insemination” que las yeguas mayores “viejas” pueden tener un retraso en el descenso del embrión al útero (2-3 días). ¿Sabe a que puede deberse?

Los embriones de algunas yeguas viejas desarrollan más lentamente. Además muchos mueren en el intento. A medida que las yeguas (o cualquier especie incluido la especie humana) aumenta en edad la viabilidad de los embriones disminuye. Son muchas las causas conocidas y probablemente muchas más las que quedan por conocer, pero probablemente sean factores genéticos y hormonales.

8) ¿Cree que algún día se descubra algún producto que provoque superovulación en las yeguas y al mismo tiempo aumente la tasa de recuperación de embriones?

Ya existe una hormona FSH recombinante que es eficiente en generar ovulaciones múltiples en las yeguas. Todavía no está disponible en el mercado. Fue desarrollada en UC Davis por la Dra Jan Roszer y su equipo. Lamentablemente muchas veces las ovulaciones múltiples no se acompañan de la recuperación de esos embriones. Hay muchas teorías pero una de ellas es que las ovulaciones ocurridas en el mismo ovario “se molestan” entre ellas en la fosa de ovulación. Esto también está bien descrito en el capítulo al que haces mención.

9) ¿En el caso de algunas razas, cual cree que es el motivo de tantas discrepancias entre la admisión o no de esta técnica reproductiva?

Son todos motivos económicos. EL SPC se basa en la competencia individual. Cada producto vale como individuo y la teoría es que si hay muchos individuos con la misma genética se afectan los precios de esos productos en los remates de yearlings (año de edad) dos años y luego se elimina la competencia en la carreras (muchos individuos similares compitiendo unos con otros. Son todos argumentos cuestionables y de hecho están siendo revisados actualmente. Son muy pocas las asociaciones que no admiten la transferencia embrionaria.

Conclusión:

A pesar de que la transferencia de embriones sea una técnica bastante reciente y tenga algún inconveniente que otro, lo que se puede observar es que parece ser una técnica segura y que cumple perfectamente con la obligación deontológica veterinaria. Todo ello claro está, mientras se cumpla con el protocolo de seguridad, higiene y protección de los animales, reconocidos por las organizaciones mundiales y adoptados reglamentariamente por la Unión Europea.

Se observa un aumento en la utilización de esta técnica y con ello un aumento también de aceptación de las asociaciones caballares a la hora de inscribir ejemplares obtenidos con esta técnica. Algunas asociaciones como el del PSI tiene prohibido la utilización de esta técnica a la hora de aceptar ejemplares en su studbook, ello probablemente sea debido a intereses económicos como bien comenta el Dr. Riera. A pesar de este aumento en la aceptación de esta técnica, como bien demuestran los datos de la encuesta (aunque solo hayan participado 22 personas y no sea extrapolable a toda la sociedad) hay personas relacionadas con el mundo del caballo que todavía no están bien informados sobre esta técnica.

Para el veterinario es necesario mantenerse actualizado en los conocimientos científicos y técnicos e investigar aquellos puntos que han de mejorarse para optimizar la técnica y garantizar el bienestar animal. También se debería de tener en cuenta, que uno de los deberes del veterinario, es la de informar debidamente a los propietarios de caballos el procedimiento de la técnica y sus pros y contras.

Nosotros pensamos que es una técnica que beneficia al hombre, no solo porque resuelve en una gran cantidad de pacientes la esterilidad, haya una mejora genética en un menor tiempo, evita la transmisión de ciertas enfermedades... sino también porque ofrece la posibilidad de profundizar en el campo de la investigación. Ahora bien no todo con relación a esta técnica es color rosa, hay muchos científicos que en ocasiones olvidan su responsabilidad ética, pudiendo llegar a ocurrir desastres irreparables.

Bibliografía:

1. Oguri N, Tsutsumi Y: Non-surgical recovery of equine eggs and an attempt to non-surgical embryo transfer in the horse. *J Reprod Fertil* 31:187-195, 1972.
2. Cunningham "Microsatellite diversity" *Animal Genetics*
3. "Rules and Regulations of Thoroughbreds". *The Jockey Club Website*. The Jockey Club. Retrieved 2007-07-04.
4. <http://www.weatherbys.co.uk/sites/default/files/Conditions%20of%20Entry%20to%20General%20Stud%20Book.pdf>
5. In: Recent Advances in Equine Reproduction, B. A. Ball (Ed.)
Publisher: International Veterinary Information Service (www.ivis.org), Ithaca, New York, USA (2000).
6. Alvarenga, M.A., P.M. McCue, J. Bruemmer, J.R. Neves Neto and E.L. Squires. 2001. Ovarian superstimulatory response and embryo production in mares treated with equine pituitary extract twice daily. *Theriogenology*, 56: 879-887.
7. Samper JC. Techniques for artificial insemination. In: Youngquist RS, ed., Current Therapy in Large Animal Theriogenology. Philadelphia: WB Saunders Co, 1997; 36-42.
8. McCue PM. Superovulation. In: Squires EL, (ed.), Diagnostic techniques and assisted reproductive technology. *Vet Clin N Am Equ Pract* 1996; 12:1-11.
9. Meyers PJ. Control and synchronization of the estrous cycle and ovulation. In: Youngquist RS, ed., Current Therapy in Large Animal Theriogenology. Philadelphia: WB Saunders Co, 1997; 96-102.
10. Squires EL, Seidel GE, Jr. Collection and transfer of equine embryos. Bulletin No.8 Fort Collins, CO: Colorado State University, Animal Reproduction and Biotechnology Laboratory, 1995. - CSU -
11. Hinrichs K, Sertich PL, Cummings MR, et al. Pregnancy in ovariectomised mares achieved by embryo transfer: a preliminary study. *Equine Vet J* 1985;Suppl. 3:74-75.
12. Hinrichs K, Sertich PL, Palmer E, et al. Establishment and maintenance of pregnancy after embryo transfer in ovariectomized mares treated with progesterone. *J Reprod Fertil* 1987; 80:395-401.
13. Hinrichs K, Sertich PL, Kenney RM. Use of altrenogest to prepare ovariectomized mares as embryo transfer recipients. *Theriogenology* 1986; 26:455-460.
14. McKinnon AO, Squires EL, Carnevale EM, et al. Ovariectomized steroid-treated mares as embryo transfer recipients and as a model to study the role of progestins in pregnancy maintenance. *Theriogenology* 1988; 29:1055-1063.
15. Freeman DA, Weber JA, Geary RT, et al. Time of embryo transport through the mare's oviduct. *Theriogenology* 1991;36:823-830.
16. Vanderwall DK. Early embryonic development and evaluation of equine embryo viability. In: Squires EL, (ed.), Diagnostic techniques and assisted reproductive technology. *Vet Clin N Am Equine Pract* 1996; 12:61-83.
17. Douglas RH. Some aspects of equine embryo transfer. *J Reprod Fertil* 1982; Suppl. 32:405-408.
18. Carnevale EM, Squires EL, McKinnon AO. Comparison of Ham's F10 with CO2 or Hepes buffer for storage of equine embryos at 5 C for 24 H. *J Anim Sci* 1987; 65:1775-1781.
19. Squires EL, McCue PM, Vanderwall D. The current status of equine embryo transfer. *Theriogenology* 1999; 51:91-104.

20. Fleury JJ, Alvarenga MA. Effects of collection day on embryo recovery and pregnancy rates in a nonsurgical equine embryo transfer program. Theriogenology 1999; 51:261 (abstract)
21. Foss R, Wirth N, Schiltz P, et al. Nonsurgical embryo transfer in a private practice (1998). In: Proceedings of the Am Assoc Equine Pract 1999; 45:210-212.
22. Equine breeding management and artificial insemination [Recurs electrònic] St. Louis [etc.] : Saunders Elsevier, 2009 2nd ed.

Anexos:

- http://www.ivis.org/advances/reproduction_ball/embryo_transfer_vanderwall_es/ivis.pdf
- http://www.mapa.es/ca/ganaderia/pags/equino/pr_legislacion.htm
- <http://www20.gencat.cat/portal/site/DAR>
- http://europa.eu/index_es.htm
- <http://www.boe.es/>
- http://www.oie.int/fileadmin/Home/esp/Health_standards/tahc/2010/es_chapitre_1.4.7
- <http://www.veterinaris.cat/>