

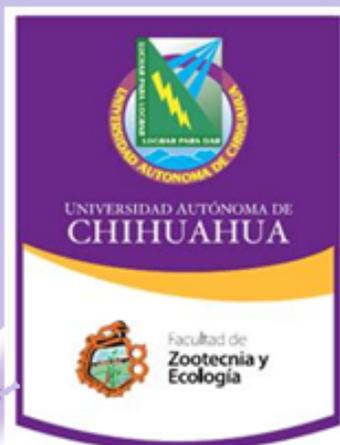
Universidad Autónoma de Chihuahua

---

Facultad de Zootecnia y Ecología

<b>Código:</b> INF 8.3 IZSP MP 01	Página 1 de 5
<b>Fecha de Emisión:</b> Febrero 2006	<b>Fecha de Revisión:</b> Junio 2011
	<b>Nº de Revisión:</b> 2
<b>Elaboró:</b>	Coordinador de Área
<b>Aprobó:</b>	Secretaría Administrativa

# MANUAL DE PRÁCTICAS DEL LABORATORIO DE FERTILIZACION IN VITRO



## **Laboratorio de Fertilización *in vitro***

**Responsable: Ing. Javier Antillón Ruiz**

**“MANUAL DE PRÁCTICAS”**

## **Requisitos.**

- a) Uso de bata obligatorio.
- b) Utilizar guantes para manipular el material y equipo.
- c) Cabello recogido.
- d) Uñas cortas.
- e) No introducir alimentos.
- f) Guardar silencio.
- g) Celular en modo de silencio o apagado.
- h) Acatar el reglamento interno.

## **PRÁCTICAS DE FISIOLÓGÍA DE LA REPRODUCCIÓN Y REPRODUCCIÓN ANIMAL**

### **1. Aspiración, selección y maduración de ovocitos provenientes de ovarios de rastro.**

#### **Material:**

- Bomba de Vacío
- Multiconector para líneas de succión
- Líneas de succión
- Stoppers
- Agujas 18 G x 1<sup>1/2</sup>
- Tubos de 50 mL estériles
- Precalentador de balines
- Medio de manejo
- Pipeta de 5 mL
- Platos Petri 35x10 y 60x15mm
- Estereoscopios
- Incubadora CO<sub>2</sub>

### **Procedimiento:**

- 1) El profesor a cargo instalará el equipo de succión explicando la función de cada componente del mismo.
- 2) Una vez instalado el equipo, se dará una breve explicación sobre el método de aspiración utilizado, así como la elección de folículos que son aptos para aspirarse.
- 3) Ya que esté el total de los ovarios aspirados se procederá a seleccionar a los ovocitos aptos para maduración; en este apartado se explicará al discente la morfología requerida para que el ovocito sea candidato a maduración.
- 4) Al terminar la selección del total de ovocitos aspirados, estos se pasarán en grupos de 50 al medio de maduración contenido en un plato de cuatro pozos, en el cual estarán por un periodo de 23 h en una incubadora de CO<sub>2</sub> al 5% con temperatura de 38.5° C.

### **2. Fertilización *in vitro*.**

#### **Material:**

- Termo descongelador
- Centrifuga
- Microscopio
- Contador de células
- Tijeras
- Kimwipes
- Percoll
- Medio de fertilización
- Platos de cuatro pozos
- Pipetas de 1000, 100 y 10µL
- Semen
- Camara de Neubauer

#### **Procedimiento:**

- 1) El profesor a cargo preparará el material y equipo requeridos para el proceso de fertilización y explicará la función de cada uno de los mismos.
- 2) Posteriormente, se iniciará con la preparación de los platos de fertilización, así como el gradiente de percoll 90-45% utilizado para el manejo del semen.
- 3) Una vez preparado lo anterior, se procede con la descongelación y centrifugación del semen en el gradiente de percoll.
- 4) Luego, se medirá el volumen del pellet y concentración espermática.
- 5) Ya obtenidos estos datos, se introducen al programa SpermDilution CL & BIRate en concentración a seis millones; éste nos arrojará la cantidad de medio que se agregará a la muestra trabajada para que quede a una concentración final de seis millones.

- 6) Por último, se agregarán 50  $\mu\text{L}$  de espermatozoides/pozo y se evaluará si la fertilización fue hecha de manera adecuada.
- 7) Los ovocitos y espermatozoides permanecerán por un periodo de 18 h en una incubadora de  $\text{CO}_2$  al 5% con temperatura de  $38.5^\circ \text{C}$ .

### 3. Evaluación embrionaria.

#### Material:

- Platos Petri 35x10mm
- Pipetas de vidrio
- Medio de manejo
- Embriones de 6.5 a 7 d

#### Procedimiento:

- 1) El docente a cargo colocará el material requerido en el lugar de trabajo y explicará el procedimiento que se llevará a cabo para la evaluación embrionaria.
- 2) Posteriormente, el docente retira los embriones de la incubadora de tres gases (90%  $\text{N}_2$  - 5%  $\text{O}_2$  - 5%  $\text{CO}_2$ ) y los coloca en medio de manejo para su manipulación.
- 3) Una vez en el medio, el docente coloca a los embriones por estadio y calidad embrionaria y hace una explicación breve de las características del embrión por etapa de desarrollo, mientras los discentes observan en el estereoscopio estas características.
- 4) Una vez que han observado el total de los discentes se les hará una evaluación acerca de lo aprendido durante la práctica.