

PROCEDIMIENTO ALTERNATIVO PARA PURIFICAR ESPERMA

[Página Principal IVP](#)

Procesar el Esperma

Este procedimiento es más lento que el procedimiento de Percoll, y en nuestro laboratorio, no da mejores resultados. Sin embargo, lo hemos utilizado como método para evaluar efectos del tratamiento sobre motilidad del esperma (véase a Monterosso y otros., 1994 y Brocas y otros., 1997).

1. Descongelar de 6 a 8 pajillas de semen congelado, en el termo para descongelar por 60 segundos. Si es posible, utilizar semen de diversos toros.
2. Combinar el contenido de las pajillas en 5 ml de SP-TALP. Colocar la muestra en la incubadora (38.5°C) por 5 minutos.
3. Centrifugar el semen (200 x g 5 minutos) y desechar el sobrenadante dejando un 1 ml del fondo.
4. Preparar en 4 a 5 tubos de centrifuga 1 ml de SP-TALP. Agregar aproximadamente 250 microlitros de suspensión de esperma muy lentamente al fondo de cada tubo usando una aguja numero 20 y una jeringuilla de 1 ml. Colocar los tubos en la incubadora (38.5°C) por 1 H.
5. Pasado este tiempo, aspirar los 800 microlitros de la parte superior de cada tubo y combinar las muestras. Centrifugar por 5 minutos (1000 RPM) la muestra combinada. Desechar todo el sobrenadante dejando los 500 microlitros del fondo.

Proceso de Filtración Lana de Cristal

Este procedimiento de filtración requiere generalmente 10-15 minutos, generalmente proporciona casi 100% de esperma viable.

1. Preparar por adelantado las columnas de lanas de cristal de 0.2 ml en jeringuillas de 1 ml esterilizadas después de ser lavada y enjuagada 10X con agua de bi destilada (Milli-Q).
2. Antes de comenzar la purificación, enjuagar la columna varias veces con Hepes-TALP y finalmente con Sp -TALP equilibrar la columna.

3. Descongelar el semen (3 a 5 pajillas) que deberán ser centrifugados dos veces con 10-15 ml de Sp-TALP a200 x g (10 minutos) y después la reconstituir la suspensión diluyendo en 0.6-0.8 ml IVF-TALP.
4. La suspensión de esperma se deja filtrar por gravedad a través de la columna.
5. Determinar el número y la viabilidad del esperma filtrado. Evaluando motilidad y morbilidad de células espermáticas.

El material original de esta página pertenece © [Rocio Rivera](#), [Peter J. Hansen](#) et al. 2000-2002 se tradujo por Luis A. Dávila en Mayo 2007. Las ligas comerciales no representan un endoso de los Autores o la Universidad de Florida

