

MÉTODO "ONE STEP" DE CRIOCONSERVACIÓN EMBRIONARIA

Dr. Leonardo De Luca. 2002. Director Técnico. Laboratorios Burnet S.A.
www.produccion-animal.com.ar

Volver a: [Trasplante embrionario](#)

1. Selección del embrión. Separar mórulas de blastocistos.
2. Lavar 10 veces con una solución de Dulbecco modificado, con 10% de suero fetal bovino.
3. Mórulas: sumergir durante 10 minutos el embrión en una solución de Dulbecco, con 1,5 molar de glicerol, más 0,1 molar de sucrosa. Blastocistos: sumergir durante 10 minutos el embrión en una solución de Dulbecco, con 1,5 molar de glicerol, más 0,2 molar de sucrosa.
4. Tomar una pajuela de 0,25cc y cargar en ella el embrión en el siguiente orden:
 - a) 1ra. columna de Dulbecco con suero fetal al 10%.
 - b) 2da. columna, pequeña burbuja de aire.
 - c) 3ra. columna de Dulbecco con medio de congelación.
 - d) 4ta. columna, pequeña burbuja de aire.
 - e) 5ta. columna, cargar el embrión en su medio.
 - f) 6ta. columna, pequeña burbuja de aire.
 - g) completar el resto de la pajuela con medio de congelación.
5. Llevar los embriones a la congeladora con una temperatura de entre -6°C a -7°C, donde permanecerán 10 minutos en stand by.
6. A su término tocar la pajuela a la altura de la 3ra. columna con una pinza hemostática, previamente sumergida en nitrógeno líquido para que alcance en su extremo los -196°C. Este método (Seeding) evitará la muerte del embrión por sobrefusión.
7. La corrida de temperatura será de 0,5°C por minuto hasta alcanzar los -35°C, momento en que se introducirá la pajuela en nitrógeno líquido (Plunging)
8. DESCONGELAMIENTO: Previa revisión de las receptoras para determinar si existe cuerpo lúteo apto, proceder en el siguiente orden:
 - a) tomar la pajuela con una pinza y exponerla a temperatura ambiente durante 1 segundo.
 - b) sumergir la pajuela en agua a 35°C durante 1 minuto.
 - c) Sacar la pajuela del agua y secarla prolijamente, SIN AGITARLA.
 - d) cortar el extremo con un cutter especial evitando agitarla.
 - e) cargar la pajuela en la pipeta de transferencia e implantar el embrión sobre el cuerno en que se presenta el cuerpo lúteo.

SUGERENCIAS: El mejor resultado obtenido es el uso de las pipetas de implante alemanas con punta descartable a rosca. Inyectar MPH (progesterona 50mg/cc) 5cc por vía IM. Con el método descrito se ha logrado una preñez no inferior al 60%.

Volver a: [Trasplante embrionario](#)