

Application of laparoscopic and transcervical artificial insemination in sheep breeding

M. Bagi^{1,2*}
S. Cseh³
N. Pálfyné Vass¹

1. Debreceni Egyetem
Mezőgazdaság-,
Élelmiszertudományi és
Környezetgazdálkodási Kar,
Állattenyésztési Tanszék,
H-4032, Debrecen,
Böszörményi út 138.

*e-mail: bagi.melinda@agr.unideb.hu

2. Debreceni Egyetem,
Állattenyésztési Tudományok
Doktori Iskola,
Debrecen

3. Állatorvostudományi Egyetem
Szülészeti Tanszék és Haszonállat-
Gyógyászati Klinika,
Budapest

A laparoszkópos és transzcervikális termékenyítés alkalmazásának lehetőségei a juhtenyésztésben

Bagi Melinda^{1,2*}, Cseh Sándor³, Pálfyné Vass Nóra¹

ÖSSZEFOGLALÓ

A szerzők bemutatják az asszisztált reprodukciós technikák lehetőségeit a juhtenyésztésben, amelyeknek e fajban is egyre nagyobb a jelentősége. A fagyasztott sperma felhasználása esetében a legsikeresebb módszer a laparoszkópos termékenyítés, amelynek során a szaporítóanyagot a hasfalon keresztül a méhszarvakba injektálják. A fagyasztott sperma másik felhasználási módszere lehet a transzcervikális termékenyítés, amikor a termékenyítő katétert a méhnyakon átvezetve a spermiumokat a méh üregébe juttatják. A technika alkalmazhatóságának korlátai miatt ez az eljárás még nem terjedt el a gyakorlatban, azonban előnyei miatt kiváló kutatási téma lehet a juh szaporodásbiológiában.

SUMMARY

The application of assisted reproductive technologies play an important role in sheep breeding. The genetical progress, selection and preservation can be provided by these methods quickly and more effectively. The ewes should be synchronized by intravaginal devices containing progesterone-like hormone before the artificial insemination. The insemination can be vaginal, deep cervical, transcervical and laparoscopic, depending on the deposition of the sperm. The laparoscopic technique is a minimal invasive method in which two one cm wide skin incisions are needed where the trocars pierce through the abdominal wall and we can inject the sperm into the uterus. This technique is used worldwide in sheep breeding with good efficiency (40-80% pregnancy rate, depending on the protocol, season, breed, age) so this is the most successful way for inseminating with frozen sperm but it needs expensive equipment and high level of knowledge and the ewes need to be sedated before the procedure. The frozen sperm can be used by transcervical technique as well where the insemination catheter is going through the cervix and the sperm is injected into the uterine cavity. This method is not widely spread and used in farm conditions because of the anatomy of the sheep cervix, which is narrow, closed and it is hard to penetrate it with a catheter. The successful use of the transcervical method depends also on the protocol, breed, age, number of lambings and the anatomy of the external os. Because of the limits of this technique, it is not widely used in the practice, although it has a lot of benefits, and due to animal health and welfare aspects (no need for sedation and starvation, no postoperative complications, no need for antibiotic), developing of the transcervical technique is a good possibility for research in sheep reproduction.

KISKÉRŐDZŐ

A Föld populációjának gyors növekedése előrevetíti a húsfogyasztás fokozódását, ezért egyre nagyobb szerepet kaphat a jövőben a juh- és kecskehús fogyasztása is. A kiskérődzők iránti fokozott érdeklődés hátterében megemlíthetők még egyes nemzetek vallási hagyományai, húsup előnyös összetétele miatt az egészséges táplálkozásba való beilleszthetősége, ízletessége, ill. a kecskehús kifejezetten alacsony zsírtartalmának prioritása bizonyos étrendekben [1, 2]. DOHY JÁNOS 2000-ben már megfogalmazta, hogy az állattenyésztés ezt a megnövekedett igényt csak úgy tudja kiszolgálni, ha biotechnológiai módszereket alkalmaz a szaporítás, tenyésztés során [3]. Az ART (asszisztált reprodukciós technika) alkalmazásának elsődleges célja a gyors genetikai előrehaladás biztosítása azáltal, hogy az ART segítségével egy genetikailag értékes egyedről sokkal több utód nyerhető, mint természetes körülmények között (természetes pároztatás). A genetikai szelekció során azon állatok gyors elszaporítása a cél, amelyek termelési mutatói kiemelkednek az átlagostól. Az ART-k között azonban több olyan található, amelyek eszköz- és szakemberigényesebbek, mint a telepeken jelenleg elterjedten használt hagyományos termékenyítési módszerek, valamint megfelelő szakmai felkészültséget és gyakorlatot igényelnek [4].

Az asszisztált reprodukciós technika alkalmazásának elsődleges célja a gyors genetikai előrehaladás biztosítása

Az anyajuhok ivarzásszinkronizálása évtizedek óta progeszteronnal és analógjaival történik

IVARZÁSSZINKRONIZÁLÁS

A termékenyítésre kiválasztott anyajuhok ivarzásszinkronizálása évtizedek óta progeszteronnal és analógjaival történik [5]. Míg 1948-ban naponta injekciós formában adtak az anyáknak progeszteront, addig napjainkban már a folyamatos hormonleadást biztosító hüvelyszivacsok és más hüvelybe helyezhető eszközök (Controlled Internal Drug Releasing, CIDR) használata terjedt el, egyéb hormonok kiegészítő adásával [5, 6]. Több szinkronizálási protokoll alkalmazható, azonban közülük csak néhány terjedt el a gyakorlatban világszerte. A szintetikus progeszteronnal (fluorogeszton acetát) átítatott hüvelyszivacs egyik legismertebb alkalmazása, amikor a szivacsot 11–14 napig hagyjuk az állatban és a szivacs kivételével egyidőben 300–600 NE PMSG/eCG (korábban pregnant mare serum gonadotropin, amelyet újabban equine chorion gonadotropin-nak neveznek) injekciót adnak im. [7–9]. Medroxiprogeszteron acetát (MPA) tartalmú hüvelyszivacs 12 napos használata szintén eredményesen alkalmazható juhok ivarzásszinkronizálására. Ebben az esetben is nagyobb vemhességi arányt értek el, amikor a szivacs kivételével egyidőben PMSG/eCG injekcióval kezelték az állatokat [10]. Összehasonlítva az 5 napos CIDR-kezelés, majd a gesztagénforrás kivételkor végzett PGF2a (Prosztaglandin F2a) + PMSG/eCG kezelés, ill. a CIDR behelyezésével egy időben majd annak eltávolítását követően 56 óra múlva adott GnRH- (gonadotropin releasing hormon) kezelést tartalmazó protokollok hatékonyságában nem találtak különbséget a fertilitási adatok között [11]. A tapasztalatok szerint a 14 napig bent hagyott CIDR-eszközök kivételkor adott PMSG/eCG-vel hasonló termékenyülést lehet elérni, mint amikor csak önmagában alkalmazzuk a CIDR-t 5 napig [12]. A termékenyítés időpontját a gesztagénforrás eltávolítását követően befolyásolhatja a szinkronizálási protokoll, a sperma depozíciója, a választott termékenyítési technika, de általánosan a 48–56 óra közötti termékenyítés mutatkozott sikeresnek [13–16]. FAIGL és mtsai (2012) összehasonlították a különböző termékenyítési technikák során ajánlott spermamennyiséget és a termékenyítés időpontját. Hüvelyi termékenyítés során friss vagy hűtött spermát alkalmazhatunk, a sperma mennyisége 0,2 ml, amelyben minimum 400×10^6 mennyiségű spermium van. A termékenyítés az ivarzási tünetek megjelenése után 12–18 órával történik. Transzcervikális hüvelyi módszer során a friss vagy hűtött spermát a külső méhszájhoz injektálják. Az ideális termékenyítési időpontot a hüvelyszivacs kivétele utáni 55. órában vagy az ivarzási tünetek megjelenése utáni 15–17. órában határozhatjuk meg. A javasolt spermamennyiség 0,2 ml, spermaszám minimum 200×10^6 .

**Laparoszkópos,
méhüregbe történő
sperma befecskendezés
esetén lehet a
legkisebb mennyiségű
spermával dolgozni**

A laparoszkópos, méhüregbe történő sperma befecskendezés esetén a fagyasztott sperma is nagy hatékonysággal felhasználható. Ennél a módszer-nél lehet a legkisebb mennyiségű spermával dolgozni (0,05 ml, 20–40 × 10⁶ motilis spermium). A termékenyítés a hüvelyszivacs kivétele után 48–65 órával történik [15]. A progeszteron felszívódását a hüvelyből biztosító eszközök helyett alkalmazható a PGF2 α - és a GnRH-injekciók kombinációja is a szezonon belül ivarzásszinkronizációhoz. A protokoll szerint 7 nap különbséggel két GnRH-injekciót kell adni, miközben a PGF2 α -t az 5. napon alkalmazzák. A mesterséges termékenyítést a második GnRH-injekciót követő 12–14 óra múlva végzik [17]. A cervikális, transzcervikális és laparoszkópos termékenyítések összehasonlítása során azt tapasztalták, hogy ugyanazon spermamennyiség alkalmazása esetén a legnagyobb vemhességi százalék a laparoszkópos módszer után mutatkozott, amikor az ondót a méh üregébe injektálták. A legkevesbé eredményes technika fagyasztott sperma használatakor a külső méhszájba történő termékenyítés. A transzcervikális technika eredményessége a laparoszkópos és a cervikális módszer között van. Ennél az eljárásnál amennyiben 4 cm-nél mélyebb penetrációt értek el nagyobb vemhességi százalékot tapasztaltak. Tehát a mély cervikális depozíciótól a hüvely felé haladva csökken a termékenyülés sikeressége [13, 18].

LAPAROSZKÓPOS TERMÉKENYÍTÉS

Az asszisztált reprodukció részeként az anyaállatok mesterséges termékenyítése történhet hüvelyi depozícióval, felületes vagy mély cervikális valamint transzcervikális inszeminációval és laparoszkóp alkalmazásával is [19]. A mesterséges termékenyítés során használhatunk friss, hűtött vagy fagyasztott spermát. A friss és a hűtött sperma bármely módszer esetében alkalmazható. Azonban a sperma fagyasztása során a spermiumok vitalitása és motilitása csökken, így sokkal kevesebb spermium tud átjutni a méhnyakon. A mélyfagyasztott sperma esetében tehát csak akkor érhetünk el a gyakorlat számára elfogadható termékenyülési arányt, ha az örökítőanyagot közvetlenül a méhbe juttatjuk be [20]. A juhok nyakcsatornájának anatómia felépítése (zárt, szűk, merev, ami számos gyűrűt is tartalmaz) megnehezíti, gyakran megakadályozza a katéter bevezetését a méhtestbe, ezért a spermát sokszor csak a külső méhszájhoz vagy a cervix első 2–3 gyűrűjéhez tudják injektálni. A méhbe történő termékenyítés igénye esetén (pl. fagyasztott sperma) a legmegbízhatóbb és egyben legeredményesebb módszer a laparoszkópos inszeminálás [13]. A laparoszkópos mesterséges termékenyítés egy kisebb sebészi beavatkozást igénylő, minimál invazív technika, ezért csak állatorvos végezheti. Ezt az eljárást alkalmazzák, többek között importált, fagyasztott spermával történő mesterséges termékenyítéseknél, nagy genetikai értékű vagy gyengébb minőségű sperma felhasználásakor és különböző kísérletekben [21]. A beavatkozás előtt az állatot 24 órán keresztül éheztetni és 12 órán keresztül szomjaztatni kell, majd a megfelelő nyugtatást követően az állatot háton fekvő, 45°-ban feji irányba megdöntött pozícióban kell elhelyezni, hogy a bendő, a belek és a belső szervek előre csúszzanak és szabadon hagyják a méhet. Két 1 cm-es metszést kell ejteni a hasfalon a két trokár bevezetéséhez, amelyek közül az egyiket keresztül a fényforrást vezetjük be a hasüregbe, a másikon keresztül pedig a sperma bejuttatására szolgáló katétert (1. ábra). Az örökítőanyag az egyik vagy mindkét méhszarvba injektálható (függően a felhasznált sperma mennyiségétől). A kis sebeket egy-egy öltéssel zárjuk [22, 23]. Egy vizsgálat alkalmával 28 447 ausztráliai merinó anyajuh laparoszkópos termékenyítése során keresték a sikerességet befolyásoló tényezőket. Azok az anyajuhok, amelyek friss spermával voltak termékenyítve nagyobb arányban lettek vemhesek, mint azok, amelyeknél fagyasztott spermát használtak. Szignifikánsan nagyobb vemhességi arányt értek el, amikor egy óra alatt több anyát részesítettek laparoszkópos beavatkozásban.

**A juhok
nyakcsatornájának
anatómia felépítése
megnehezíti a katéter
méhtestbe vezetését**

**Fagyasztott sperma
használatakor a
legmegbízhatóbb
és egyben
legeredményesebb
módszer a
laparoszkópos
inszeminálás**

1. ÁBRA. Laparoszkoapos, fagyasztott spermás termékenyítés

FIGURE 1. Laparoscopic insemination with frozen sperm



**Törekedni kell
tehát arra, hogy a
beavatkozás a lehető
legkevesebb időt
vegye igénybe**

Törekedni kell tehát arra, hogy a beavatkozás a lehető legkevesebb időt vegye igénybe (optimálisan 2–3 perc) annak érdekében, hogy a legkisebbre csökkentsük az állatokat érő stresszt és ezzel ne befolyásoljuk a termékenyítés sikerességét [24]. EMSÉN és mtsai (2011) két csoportba osztották a juhokat a beavatkozás időtartama alapján. Azoknál a juhoknál, amelyek 1–4 perc közötti időt tölthettek a műtőasztalon jobb (57%) vemhesülési eredményt értek el, mint abban a csoportban, ahol 4 percnél hosszabb időre volt szükség a termékenyítés befejezéséhez (42 %) [25]. A laparoszkoapos beavatkozás során az állatokat érő stressz csökkentése érdekében alkalmazott különböző kezelések hatását hasonlították össze a vér kortizolszintjének mérésével. A vizsgált módszerek közül a detomidin alkalmazása 20 perccel a laparoszkoapos műtét megkezdése előtt, valamint a lidokainnal történő beszűrési helyi érzéstelenítés lényegesen csökkentették a stresszválaszt szedatív és analgetikus hatásuk miatt. Az acepromazin használata ketoprofennel kombinálva szintén csökkentette a laparoszkoapos technika okozta stresszt [26].

A laparoszkoapos, fagyasztott spermás termékenyítés hasonlóan eredményes, mint a friss spermával történő cervikális inszeminálás. Azonban a laparoszkooppal a méhbe történő inszeminálás sokkal hatékonyabb, hiszen lényegesen kisebb mennyiségű sperma is elegendő [27]. AYBAZOV és mtsai (2019) összehasonlították a cervikális és a laparoszkoóp segítségével történő intrauterin termékenyítés eredményességét, valamint vizsgálták, hogy hogyan befolyásolja a hatékonyságot a napi egyszeri vagy kétszeri vazektomizált keresőkossal végzett ivarzásmegfigyelés. A cervikális, fagyasztott spermás inszeminálás során az anyaállatok 34,0% vemhesült, míg ugyanazon kos fagyasztott spermájának laparoszkooppal történő intrauterin depozíciójakor 43,7%. A laparoszkoapos termékenyítés esetében a kétszeri ivarzásmegfigyelés során a tünetek jelentkezése után 12–16 órával termékenyítették az állatokat, míg az egyszeri ivarzásmegfigyelés esetében az ösztroz tünetek jelentkezése után 2–12 órával. A napi kétszeri ivarzásmegfigyelés során történt termékenyítés jobb fertilitást eredményezett (68,6%), mint a napi egyszeri ivarzásmegfigyelés (43,7%). A tanulmányban alátámasztották továbbá, hogy a kosok spermájának termékenyítőképesége nem függ a fajtától, ill. attól, hogy mely farmon történt a sperma gyűjtése és mélyhűtése [28]. ANEL és mtsai (2005) szintén megállapították, hogy a laparoszkoapos inszeminálás eredményesebb,

**A napi kétszeri
ivarzásmegfigyelés
során történt
termékenyítés jobb
fertilitást eredményez**

A fertilitás függ a gazdaságban tapasztalható körülményektől, ill. a beavatkozást végző szakember gyakorlottságától

Fontos a megfelelő időtartamú éheztetés (24 óra) és szomjaztatás (12 óra)

Juhokban a méhnyak átjárhatósága függ a fajtától, a kortól, az ellések számától és a használt katéter típusától

mint a cervix nyílásához injektált spermával történő termékenyítés. Továbbá a fertilitás függ a gazdaságban tapasztalható körülményektől (az állatok tartása, takarmányozása, kezelése, reprodukciós menedzsment, adatnyilvántartás stb.), ill. a beavatkozást végző szakember gyakorlottságától. Befolyásoló tényező lehet egyes fajtáknál a szezon, mivel általánosságban a szeptembertől januárig tartó időszak sikeresebb, mint a júliusban vagy augusztusban történő termékenyítés. Javasolt az 5 évnél idősebb egyedeket már nem bevenni a tenyésztésbe, valamint legalább 10 hetet várni az ellés és a mesterséges termékenyítés között [29]. Saját tapasztalataink alapján elmondható, hogy a különböző fajták (pl. dorper, ile de france, angol és fehér suffolk) eltérően reagálnak a szezonon belül és kívül történő ivarzás-szinkronizálásra és az import fagyasztott sperma felhasználása laparoszkópos módszerrel eltérő eredményességet produkál. Ennek okait folyamatosan vizsgáljuk, nagy valószínűséggel a fajta és a szezon hatása a leginkább befolyásoló tényező.

A minimál invazív műtétek is járhatnak kockázatokkal, és így a laparoszkópos termékenyítés során is – igaz ritkán, de – felléphetnek szövődmények, amelyekre fel kell készülnünk. Fontos, hogy teljesen egészséges állatokat vonjunk be a termékenyítésbe, így érdemes az előkészítés előtt egy általános vizsgálatot végezni, hogy kizárjunk pl. légzőszervi betegséget, ami befolyásolja az altatást. A trokárok behelyezésekor előfordulhat a belső szervek, leggyakrabban a húgyhólyag, vékonybelek, vakbél, bendő caudalis végének sérülése. Ennek elkerüléséhez fontos a megfelelő időtartamú éheztetés (24 óra) és szomjaztatás (12 óra), a húgyhólyag kiürítése és a trokárok helyének pontos megválasztása. A peritonitis és szepszis megelőzéséhez a műtéti terület és az állatok között az eszközök alkoholos vagy klórhexidines fertőtlenítése szükséges. Hematoma leggyakrabban akkor alakul ki, ha a trokárok behelyezésekor a tőgyvéna vagy a v. epigastrica superficialis megsérül és bőr alatti vérzést okoz, de a hasüregbe is beszivároghat, amellyel az összenövés kialakulásának esélyét növeli [22].

TRANSZCERVIKÁLIS MESTERSÉGES TERMÉKENYÍTÉS (TCAI)

A laparoszkópos technika hátrányai (drága, esetlegesen jelentkező műtéti komplikációk) elkerülhetők lehetnének a transzcervikális mesterséges termékenyítés alkalmazásával, amikor az inszemináló katétert átvezetve a nyakcsatornán a spermát szintén a méhszarvakba injektálják. Ez a módszer azonban azért nem terjedt el eddig, mivel a szarvasmarhával vagy a kecskével ellentétben a juhok nyakcsatornája zárt, szinte átjárhatatlan az inszemináló katéter számára. A beavatkozást nehezítik a vakzsákok a hüvely redői között, az excentrikus 2, 3, vagy több gyűrű a méhnyakban, valamint a fajták és egyedek között jelentkező különbségek a cervix hosszában, a gyűrűk számában és méretében [30]. Több vizsgálat kimutatta, hogy a méhnyak átjárhatósága függ a fajtától, a kortól, az ellések számától és a használt katéter típusától. Egy *post mortem* tanulmányban a szapora fajtájú d'man és a kevésbé szapora boujaad fajta cervixének anatómiai felépítését és az inszemináló katéter átjutásának eredményességét hasonlították össze. A felmérésükben 1–4 év közötti nőivarú állatok nemi traktusát vizsgálták, feljegyezték a méh tömegét, a méhnyak hosszát, és az inszemináló katéter bevezethetőségének mélységét. Ezen kívül megszámozták a méhnyak gyűrűinek számát és alakulását. A boujaad fajta cervixének anatómiai felépítése sokkal összetettebb volt, mint a d'man egyedeké, azonban ez függött az állat korától. A legmélyebb penetrációt a 3 éves d'man fajtájú állatokban érték el. A nyakcsatornát (cervix) hosszában felvágva vizsgálták az abban elhelyezkedő gyűrűket (nyakcsatornagyűrűk; gyűrűk száma, átjárhatósága) és annak szerkezete alapján a legtöbb állatot grade 2 osztályba sorolták (grade 1–3) [31]. A grade 1–3 besorolás azt jelenti, hogy a grade 1 osztályba tartozó méhnyak gyűrűi a legkevésbé zártak és a csatorna nem olyan kanyarulat, mint a grade

2 csoportban lévőké, ezért a legkönnyebben átjárható a katéter számára, ebben a csoportban érték el a legmélyebb penetrációt. A grade 3-as csoportba tartozó állatok méhnyaka szűkebb, rendezetlen gyűrűkből áll, ezért nehezen átjárható. Emellett a ciklusban lévő állatok közül a nem lutealis fázisban vizsgált méhnyak az állatok magasabb ösztrogénszintje és annak simaizom-relaxáló hatása miatt tágabb volt, a katétert mélyebben tudták bevezetni [32]. Egy másik kutatócsoport szintén *post mortem* vizsgálta 4 különböző fajtában az állatok méhnyakának felépítését és átjárhatóságát. A tanulmány alátámasztotta azt, hogy a katéter bevezetésének eredményessége nagyban függ az állat fajtájától és korától. A merino és a castellana fajtákban a méhnyakat hosszabbnak és szélesebbnek írták le, kevesebb gyűrűvel, összehasonlítva a szűkebb, nagyszámú gyűrűt tartalmazó churra és assaf fajtákkal. Idősebb anyaállatok esetében a cervix hosszabbá és szélesebbé vált, lazább redőkkel, amely megkönnyíti a cervixen való átjutást a katéter számára. Különbséget találtak az inszemináló katéterek között is. A standard egyenes katéterrel szemben a módosított, 45°-ban hajlított végű inszemináló katéterrel jobb eredményességet lehet elérni [33]. Egy másik vizsgálatban négy különböző inszemináló katétert hasonlítottak össze. Ezek közül kettő standard, egyenes katéter, míg a másik kettő vége egy vagy több helyen hajlított volt (2. ábra).

2. ÁBRA. Standard egyenes katéter (fent) és Milovanov katéter (lent) típusok

FIGURE 2. Standard straight catheter (above) and Milovanov type catheter (below)



A termékenyítés hatékonysága nagyban függ az alkalmazott katéter típusától is

Az új típusú katéterek közül az egyik vége 30°-kal hajlított, míg a másik katéter utolsó 6,7 cm-e 1,2 cm-ként hajlított. A hajlított végű katéterekkel végzett penetráció esetében nagyobb százalékban érték el 4 cm-nél mélyebb bevezetést. A legjobb fertilitási eredményt a 30°-ban hajlított végű katéterrel érték el a churra és assaf fajtáknál. A katéter könnyű felvezetése csökkentheti az okozott sérüléseket a nemi traktusban és ezzel csökkentheti a következményesen kialakuló fogamzási problémákat [34]. FALCHI és mtsai (2021) tanulmányukban három féle katétertípust hasonlítottak össze sarda fajtájú anyajuhokban transzcervikális mesterséges termékenyítés során. A termékenyítéshez egy 3,5 mm belső átmérőjű rozsdamentes acél katétert használtak, amely 3,5 mm-rel, 5 mm-rel vagy 8,0 mm-rel a vége előtt 45° -ban hajlított volt. A legmélyebb penetrációt, a legmagasabb vemhesülési eredményt az 5 mm-nél hajlított katéterrel érték el a legrövidebb időn belül [35]. SZABADOS TAMÁS doktori értekezésében lacaune és magyar merinó fajtákkal végzett vizsgálatait során azt állapította meg, hogy a termékenyítő katétert legmélyebben

a többször ellett anyáknál lehetett bevezetni, majd az egyszer ellett anyáknál és legkevésbé a jerkéknél. A módosított Milovanov-féle katéter használata nem volt kiemelkedően eredményes a méhtestbe való bejutáshoz (még a többször ellett anyák esetében is csak 1,5% -os sikerességgel történt), de fontos figyelembe vennünk az inszemináló személy gyakorlottságát. Az indukált ivarzások esetében egyszerűbb behatolást tapasztaltak, mint azoknál a juhoknál, amelyeknél természetes ivarzáskor termékenyítettek (de a mélyebb katéter felvezetést segítő tágító hatás elmarad). A külső méhszáj alakulását vizsgálva azt az összefüggést állapították meg, hogy a rozetta és vitorla típusnál mélyebben be lehet vezetni a katétert, mint a kacsacsőr és a spirális változatnál [36].

A gesztagénforrás eltávolítása után 56 órával a legtágabb a méhnyak

A gesztagénforrás eltávolítása után 56 órával a legtágabb a méhnyak (egyéb kezelés alkalmazása nélkül), mivel a vérben keringő ösztadiol és LH koncentrációja ennyi idő alatt éri el a maximumát. Ennek a hormonális szabályozó mechanizmusnak a hatására a feltágult méhnyakon keresztül könnyebb az átjutás. A farmerek körében elterjed technika a 48. és 60. órában történő mesterséges termékenyítés vagy amennyiben egy termékenyítés történik, akkor az az 56. órában. A szivacs eltávolítása után a kosokkal való együtt tartás fokozta a penetráció mélységét a 48. és az 54. órában. Ez azzal magyarázható, hogy a kos jelenléte növeli az oxytocin-leadás frekvenciáját, amely hatással van a cervikális proszttaglandin-leadásra és ezzel a méhnyak ellazulására. Továbbá a koshatás, vagyis a párosodás fizikai mechanizmusa növeli az LH leadását az ivarzás során [37]. A méhnyak feltágításával kapcsolatban végzett vizsgálatok kimutatták, hogy 52 órával a hüvelyszivacs kivétele után kis molekulatömegű, intracervikális hialuronsav adásával tovább tágítható a méhnyak, amivel elősegíthetjük a katéter sikeres felvezetését [38]. KHALIFA és mtsai (1992) bizonyították, hogy az iv. oxytocin adása után a méhnyakon való átjutás sikeressége jobb volt a kontrollcsoporthoz képest [39]. Azonban az oxytocin adása káros hatással lehet az anyák termékenyülésére és vemhességére, de nem befolyásolja a megszületett bárányok számát [40]. A proszttaglandin E2 pozitív hatása a simaizmok ellazítására szintén jól ismert. A TCAl előtt beadott PGE2-analóg (dinoprosztin) szintén növeli a beavatkozás sikerességét anesztéziában lévő állatoknál is, azonban a fertilitásra gyakorolt hatását még vizsgálják [41, 42]. Egy újabb tanulmány szerint az α -1 adrenerg antagonisták lokális adása hemodinamikai mellékhatás nélkül alkalmazható a cervix feltágításához, de a módszer újdonsága miatt egyéb mellékhatások vizsgálatára van még szükség [43].

A szivacs eltávolítása után a kosokkal való együtt tartás fokozta a penetráció mélységét

A transzcervikális beavatkozáshoz az állatok rögzítésekor a hátsó lábukat meg kell emelni. Hüvelytágítót használva, külső fényforrás segítségével megkeressük a méhszájat, amelyet 2% lidokaintartalmú sprayvel kezelünk az érzéstelenítés céljából. Ezt követően a cervixet egy Allis atraumatikus csipesszel és két Pozzi-csipesszel előhúzzuk és rögzítjük. Az egyik kézzel a megfelelő helyzetbe hozzuk a cervixet, a másikkal pedig egy 2 mm átmérőjű fém katétert vezetünk át a nyakcsatornán, majd a katéteren keresztül nyomjuk be a spermát [13]. A Guelphi-módszert használva az anyákat háti fektetésben hátsó lábaikat a fejük irányába hajlítva helyezik el és egy fényforrással ellátott hüvelytükröt vezetnek be. A külső méhszáj rögzítése után a katétert a méhbe vezetik és a spermát a bifurkációhoz közel injektálják [44]. A cervikális szonda bejuttatása során akkor lehet tudni, hogy a katéter beért a méhbe, amikor megszűnik az ellenállás, könnyen mozgathatóvá válik. A cervikális penetráció során meg lehet becsülni hány gyűrűn jutott már át a katéter, hiszen a gyűrűkön való átvezetéskor nagy a rezisztencia a két gyűrű között viszont egy kis szakaszon megszűnik. Az uterusba történő penetráció megerősítéséhez metilénkék festéket fecskendeztek a méhbe az állatok levágása előtt, majd a boncolás során pontosan azonosították, hogy milyen mélyre hatolt be a katéter [45]. A transzcervikális penetráció során nehézséget jelenthet a fiatal, még nem ellett állatokban a szűk hüvely, ami nem teszi lehetővé a környezet jó áttekintését és nehezíti az eszközök bevezetését, továbbá a manipuláció is kisebb

A szonda méhbe jutásakor megszűnik az ellenállás

A vemhességi százalék és a bárányozási arány a sperma méhbe juttatásakor a legjobb

Törekedni kell arra, hogy a beavatkozás a lehető legkevesebb stresszrel és fájdalommal járjon

helyen történhet. A vemhességi százalék és a bárányozási arány jobb abban az esetben, amikor a spermát a méhbe juttatjuk, ellentétben azzal, amikor a cervixbe [18]. Többször ellet, corriedale fajtájú juhokon vizsgálva a transzcervikális termékenyítési módszert azt találták, hogy amennyiben a katétert 4 cm-nél mélyebben vezették be a méhnyakba, hasonló termékenyülési arányt értek el, mint amikor a spermát laparoszóp segítségével intrauterin injektálták. Azonban a vizsgálatban résztvevő juhok mindössze 30%-ánál érték el 4 cm-nél mélyebb penetrációt és 10%-nál kevesebb egyedben tudták a spermát a méhbe juttatni [13].

Az állatjólét és a szaporodásbiológia gyakorlatilag elválaszthatatlanok egymástól. A krónikus és akut stressz negatív hatással van az állatok szaporodására és ezáltal a reprodukciós technikák sikerességére. Ezért törekedni kell arra, hogy a lehető legkevesebb stresszt és fájdalmat okozó beavatkozást válasszuk [46].

MEGVITATÁS

A juhtenyésztők számára tehát a laparoszópos mesterséges termékenyítés jelenleg a legbiztosabb és legnagyobb sikerességgel alkalmazható módszer import, fagyasztott sperma felhasználása esetén. Egy mesterséges termékenyítési program beállítása során azonban eltérő eredményeket kaphatunk a különböző fajták esetében. Attól függően, hogy szezonális vagy aszezonális fajtáról van szó, eltérőképpen reagálhatnak az ivarzásszinkronizációra. A laparoszópos beavatkozások előtt fontos a minimum 24 órás éheztetés betartása, mivel az altatás és a műtét kockázatát jelentősen növelheti, ha az állatok nem koplaltak megfelelően. Emellett számolni kell minden, akár minimál invazív műtéti beavatkozás során is esetlegesen szövődménnyel. Ezen hátrányok elkerülése miatt fontos a transzcervikális termékenyítés technikájának fejlesztése, amellyel elkerülhetők lennének a bódítással és a hasüreg megnyitásával járó kockázatok, szövődmények. Azonban ez a módszer a juhok méhnyakának anatómiai felépítése, valamint a nagy fajtabeli és egyedi különbségek miatt nem terjedt el, a jelenleg elérhető kutatási eredmények szerint nem alkalmazható megfelelő eredményességgel fagyasztott sperma esetében. A jövőben a cél az, hogy a laparoszópos módszer mellett egy másik, telepi körülmények között is egyszerűen és eredményesen alkalmazható, de szedációt és éheztetést nem igénylő eljárást fejlesszünk ki, amellyel biztosítható a genetikai előrehaladáshoz szükséges import szaporítóanyag hatékony felhasználása.

IRODALOM

- Teixeira A, Silva S, Rodrigues S (2019) Advances in sheep and goat meat products research. *Adv Food Nutr Res* 87:305–370 <https://doi.org/10.1016/bs.afnr.2018.09.002>
- Chikwanhaa OC, Vahmanib P, Muchenjec V, Duganb MER, Mapiyea C (2018) Nutritional enhancement of sheep meat fatty acid profile for human health and wellbeing. *Food Res Int* 104:25–38 <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.05.005>
- Dohy J (2000) Biotechnológia és állattenyésztés- új eredmények, kihívások, kilátások. *Állattenyésztés és takarmányozás* 49:285–288
- Cseh S, Faigl V, Amaridis GS (2012) Semen processing and artificial insemination in health management of ruminants. *Anim Reprod Sci* 130:187–192 <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2012.01.014>
- Gonzales-Bulnes A, Menchana A, Martin GB, Martinez-Ros P (2020) Seventy years of progestagen treatments for management of the sheep estrous cycle: where we are and where we should go. *Reprod Fertil Dev* 32:441–452 <https://doi.org/10.1071/RD18477>
- Dutt RH, Casida LE (1948) Alteration of the estrual cycle in sheep by use of progesterone and its effect upon subsequent ovulation and fertility. *Endocrinology* 43:208–217 <https://doi.org/10.1210/endo-43-4-208>
- Abdel-Khalek AKES, Khalil W (2014) Estrus synchronization in ewes using sponges with PMSG or ram effect with or without progesterone injection. *J Anim Poultry Prod* 5:173–185 <https://doi.org/10.21608/jappmu.2014.69447>

8. Swelum AA, Alowaimer AN, Abouheif MA (2015) Use of fluorogestone acetate sponges or CIDR for estrus synchronization in ewes: Effects of hormonal profiles and reproductive performance. *Theriogenology* 84:498–503 <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2015.03.018>
9. Ozyurtlu N, Kucukaslan I, Cetin Y (2010) Characterization of oestrous induction response, oestrous duration, fecundity and fertility in Awassi ewes during the non-breeding season utilizing both CIDR and intravaginal sponge treatments. *Reprod Domest Anim* 45:464–467 <https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.2008.01246.x>
10. Garoussi MT, Mavadati O, Bahonar M, Ragh MJ (2020) The effect of medroxyprogesterone acetate with or without eCG on conception rate of fat-tail ewes in out of breeding season. *Trop Anim Health Prod* 52:1617–1622 <https://doi.org/10.1007/s11250-019-02159-8>
11. Martinez-Ros P, Gonzalez-Bulnes A (2019) Efficiency of CIDR-based protocols including GnRH instead of eCG for estrus synchronization in sheep. *Animals* 9:146 <https://doi.org/10.3390/ani9040146>
12. Martinez-Ros P, Rios-Abellan A, Gonzalez-Bulnes A (2019) Influence of progesterone-treatment length and eCG administration on appearance of estrous behavior, ovulatory success and fertility in sheep. *Animals* 9:9 <https://doi.org/10.3390/ani9010009>
13. Casali R, Pinczak A, Cuadro F, Guillen-Munoz JM, Mez-zalira A, Menchaca A (2017) Semen deposition by cervical, transcervical and intrauterine route for fixed-time artificial insemination (FTAI) in the ewe. *Theriogenology* 103:30–35 <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2017.07.021>
14. Santos-Neto PC, García-Pintos C, Pinczak A, Menchaca A (2015) Fertility obtained with different progestogen intravaginal devices using Short-term protocol for fixed-time artificial insemination (FTAI) in sheep. *Livestock Sci* 182:125–128 <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2015.11.005>
15. Faigl V, Vass N, Jávora A, Kulcsár M, Solti L, Amiridis G, Cseh S (2012) Artificial insemination of small ruminants – a review. *Acta Vet Hung* 60:115–129 <https://doi.org/10.1556/AVet.2012.010>
16. Menchaca A, Rubianes E (2004) New treatments associated with timed artificial insemination in small ruminants. *Reprod Fertil Dev* 16:403–413 <https://doi.org/10.10371/RD04037>
17. Amiridis GS, Cseh S (2012) Assisted reproductive technologies in the reproductive management of small ruminants. *Anim Reprod Sci* 130:152–161 <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2012.01.009>
18. Halbert GW, Dobson H, Walton JS, Sharpe P, Buckrell BC (1990) Field evaluation of a technique for transcervical intrauterine insemination of ewes. *Theriogenology* 33:1231–1243 [https://doi.org/10.1016/0093-691X\(90\)90041-Q](https://doi.org/10.1016/0093-691X(90)90041-Q)
19. Kukovics S, Gyökér E, Németh T, Gergátz E (2011) Artificial insemination of sheep – Possibilities, realities and techniques at the farm level. In: *Artificial Insemination in Farm Animals*. Szerk. MANAFI M. Intech Open 27–50
20. Cseh S, Vass N, Brydl E, Jurkovics V, Solti L, Faigl V (2012) Juh embrióátültetés aktuális kérdései és lehetőségei. *Állattenyésztés és Takarmányozás* 61:271–277
21. Alvarez M, Anel- Lopez L, Bixio JC, Chamorro C, Neila- Montero M, Montes-Garrido R, Paz P, Anel L (2019) Current challenges in sheep artificial insemination: A particular insight. *Reprod Domest Anim* 54:32–40 <https://doi.org/10.1111/rda.13523>
22. Sathe SR (2018) Laparoscopic artificial insemination technique in small ruminants – A procedure review. *Front Vet Sci* 5:266 <https://doi.org/10.3389/fvets.2018.00266>
23. Turner R (2003) Laparoscopy to enhance chance of pregnancy in goats and sheep. *Bellwether Magazine* 56:9
24. Hill JR, Thompson JA, Perkins NR (1997) Factors affecting pregnancy rates following laparoscopic insemination of 28,447 merino ewes under commercial conditions: A survey. *Theriogenology* 49:697–709 [https://doi.org/10.1016/S0093-691X\(98\)00019-3](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(98)00019-3)
25. Emsen E, Gimenez-Diaz C, Kutlica M, Koycegiz F (2011) Reproductive response of ewes synchronized with different lengths of MGA treatments in intrauterine insemination program. *Anim Reprod Sci* 126:57–60 <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2011.04.007>
26. Stafford KJ, Chambers JP, Sylvester SP, Kenyon PR, Morris ST, Lizarraga I, Nicolo G (2006) Stress caused by laparoscopy in sheep and its alleviation. *N Z Vet J* 54:109–113 <https://doi.org/10.1080/00480169.2006.36621>
27. Maxwell WMC, Butler LG (1984) Intra-uterine insemination of ewes with frozen semen. *J Agr Sci* 102:233–235
28. Aybazon AM, Malmakov NI, Selionova MI, Mamontova TV (2019) Fertility of ewe following intrauterine laparoscopic insemination with frozen-thawed semen. *IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science* 341:012163 <https://doi.org/10.1088/1755-1315/341/1/012163>
29. Anel L, Kaabi M, Abroug B, Alvarez M, Anel E, Boixo JC, Fuente LF, Paz P (2005) Factors influencing the success of vaginal and laparoscopic artificial insemination in churra ewes: a field assay. *Theriogenology* 63:1235–1247 <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2004.07.001>
30. Halbert GW, Dobson H, Walton JS, Buckrell BC (1990) The structure of the cervical canal of the ewe. *Theriogenology* 33:977–992 [https://doi.org/10.1016/0093-691x\(90\)90060-7](https://doi.org/10.1016/0093-691x(90)90060-7)
31. Khalil K, Allai L, Fatet A, Benmoula A, Hamidallah N, Badi A, Moussafir Z, Ibbelbachyr M, Amiri B (2018): Morphometry and depth of inseminating catheter penetration in prolific and non- prolific ewes at different ages: a post mortem study. *Anim Reprod Sci* 196:43–47 <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2018.06.017>
32. Kershaw CM, Khalid M, McGowan MR, Ingram K, Leethongdee S, Wax G, Scaramuzzi RJ (2005) The anatomy of the sheep cervix and its influence on the transcervical passage of an inseminating pipette into the uterine lumen. *Theriogenology* 64: 1225–1235 <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2005.02.017>
33. Kaabi M, Alvarez M, Anel E, Chamorro CA, Boixo JC, Paz P, Anel L (2006) Influence of breed and age on morphometry and depth of inseminating catheter penetration in the ewe cervix: A postmortem study. *Theriogenology* 66:1876–1883 <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2006.04.039>
34. Alvarez M, Chamorro A, Kaabi M, Anel-López L, Boixo JC, Anela E, Anela L, Paza P (2012) Design and “in vivo” evaluation of two adapted catheters for intrauterine transcervical insemination in sheep. *Anim Reprod Sci* 131:153–159 <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2012.03.001>
35. Falchi L, Zedda MT, Pau S, Ledda M, Melosu V, Rassu SPG (2021) The design of a new catheter for transcervical artificial insemination in ewes. *Animals* 11:3348 <https://doi.org/10.3390/ani11123348>
36. Szabados T (2007) A cerviko-uterinális inszeminálás eredményességének vizsgálata juhászatokban. PhD értekezés. Nyugat-Magyarországi Egyetem Mezőgazdaság- és Élelmiszertudományi Kar, Mosonmagyaróvár
37. Falchi L, Taema M, Clanche S, Scaramuzzi RJ (2012) The pattern of cervical penetration and the effect of topical treatment with prostaglandin and/or FHS and oxytocin on the depth of cervical penetration in the ewe during the peri-ovulatory period. *Theriogenology* 78:376–384 <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2012.02.017>
38. Perry K, Haresign W, Wathes DC, Khalid M (2010) Intracervical application of hyaluronan improves cervical relaxation in the ewe. *Theriogenology* 74:1685–1690 <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2010.07.008>

39. Khalifa R, Sayre BL, Lewis GS (1992) Exogenous oxytocin dilates the cervix in ewes. *J Anim Sci* 70:38–42. <https://doi.org/10.2527/1992.70138x>
40. King ME, Mckelvey WAC, Dingwall WS, Matthews KP, Gebbie FE, Mylne MJA, Stewart E, Robinson JJ (2004) Lambing rates and litter sizes following intrauterine or cervical insemination of frozen/thawed semen with or without oxytocin administration. *Theriogenology* 62:1236–1244 <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2004.01.009>
41. Bartlewski PM, Candappa IB (2015) Assessing the usefulness of prostaglandin E2 (Cervidil) for transcervical artificial insemination in ewes. *Theriogenology* 84:1594–1602 <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2015.08.007>
42. Candappa IBR, Bainbridge HC, Price NT, Hourigan KR, Bartlewski PM (2009) A preliminary study on the suitability of Cervidil® to induce cervical dilation for artificial insemination in ewes. *Res Vet Sci* 87:204–206 <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2009.02.004>
43. Padilha-Nakaghi LC, Uscategui RAR, Oliveira EF, Nociti RP, Macente BI, Coutinho LN, Nakaghi EYO, Motte GA, Santos VJC, Maciel GS, Mariano RSG, Barros FFPC, Primo FL, Tedesco AC, Vicente WRR (2020) Local α 1-adrenergic blockers: An alternative for sheep cervix dilation? *Anim Reprod Sci* 222:106609 <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2020.106609>
44. Candappa IBR, Bartlewski PM (2011) A review of advances in artificial insemination (AI) and embryo transfer (ET) in sheep, with the special reference to hormonal induction of cervical dilation and its implications for controlled animal reproduction and surgical techniques. *The Open Reproductive Science Journal* 3:162–175 <https://doi.org/10.1016/j.orsci.2011.03.016>
45. Halbert GW, Dobso H, Walton JS, Buckrell BC (1990) A technique for transcervical intrauterine insemination of ewes. *Theriogenology* 33: 993–1010 [https://doi.org/10.1016/0093-691x\(90\)90061-w](https://doi.org/10.1016/0093-691x(90)90061-w)
46. Napolitano F, Arney D, Mota-Rojas D, Da Rosa G (2020) Reproductive technologies and animal welfare. In: *Reproductive Technologies in Animals*. Szerk. PRESICCE G. A. Elsevier pp 275–286

Közlésre érkező: 2022. dec. 7.