Assistierte Reproduktion beim Pferd

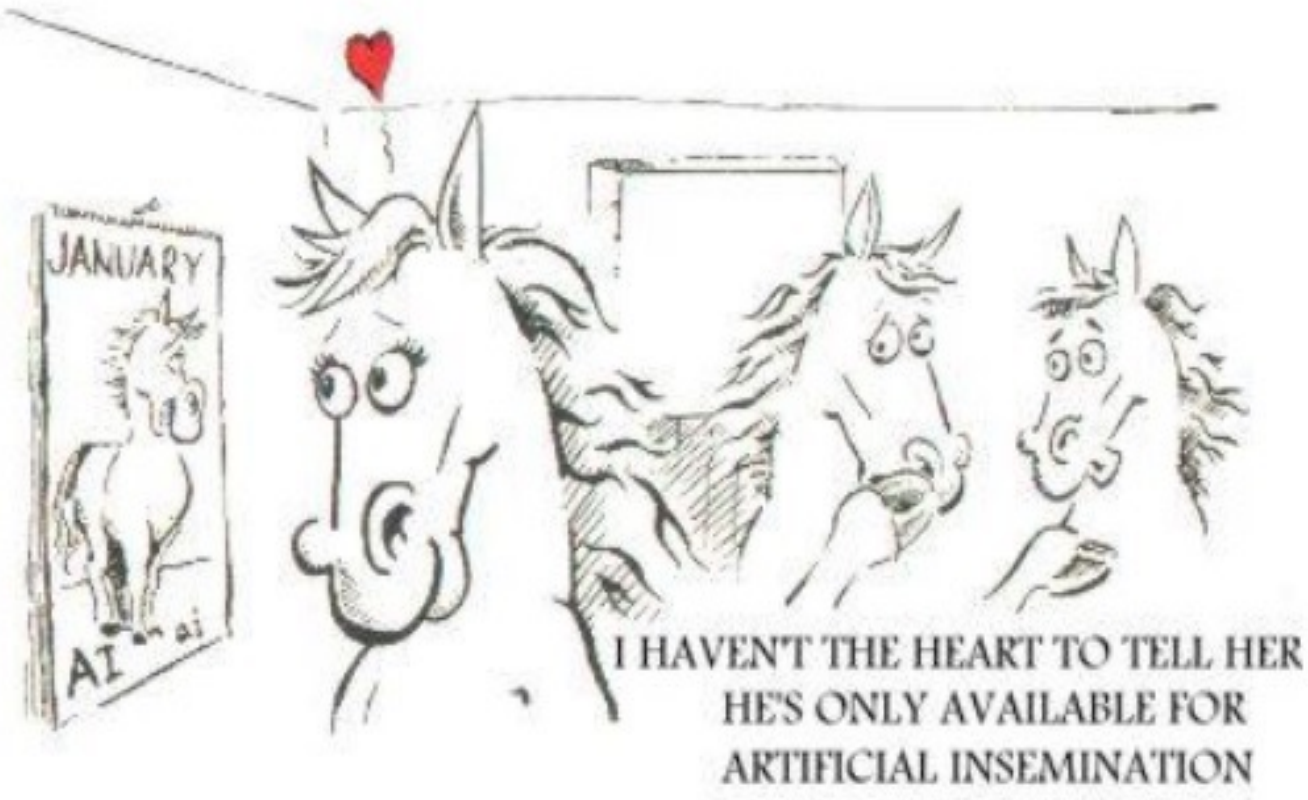
Elise Jeannerat

Universität Zürich
Klinik für Reproduktionsmedizin

Inhalt

- Hintergrund assistierte Reproduktion
- Embryotransfer
- Ovum Pick Up (OPU)
- *In vitro* Produktion von Embryonen mittels ICSI
- Kryokonservierung und Sexing
- Praktisches Vorgehen und Kosten

Hintergrund



Hintergrund

Herausforderungen Pferdereproduktion

- Zuchtstute ↔ Sportstute
- Zuchthengst ↔ Sporthengst
- Anzahl Fohlen pro Jahr
- Gesundheitsprobleme
- Fruchtbarkeit
- Wirtschaft
- Ethik

Assistierte Reproduktion

- Künstliche Besamung (KB)
- **Embryotransfer (ET)**
- **Eizellgewinnung (OPU) + *in vitro* Produktion von Embryonen (ICSI)**
- Kryokonservierung (Spermien, Embryonen)
- Klonen
- Produktion transgener Embryonen
- Samen- und Embryosexing

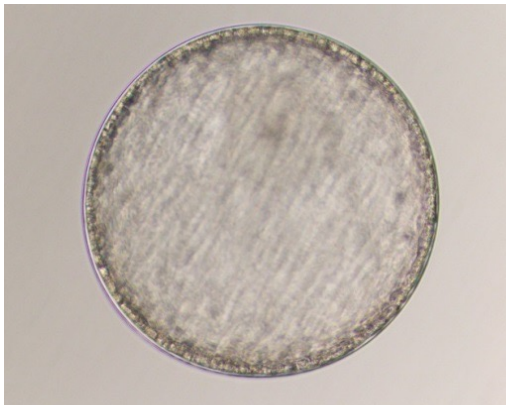
Embryotransfer - Vorgehen

Besamung Spenderstute

↓

Spülung Gebärmutter nach 7-8 Tage

↓



↓

Transfer Embryo in Empfängerstute 5-6 Tage nach Eisprung

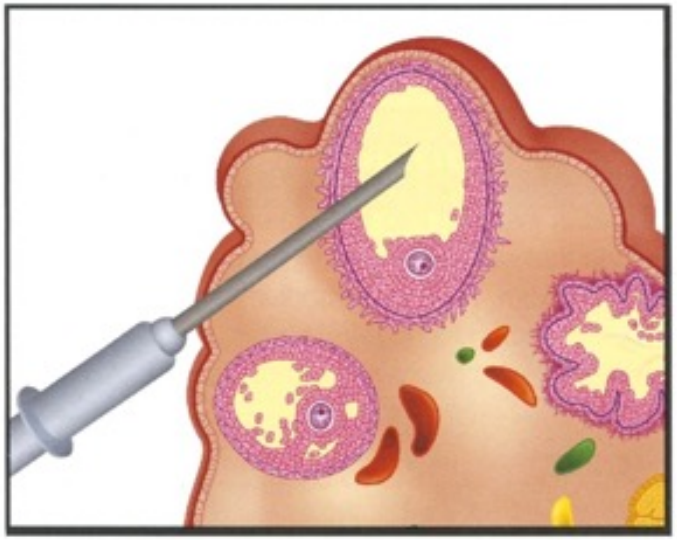
Embryotransfer

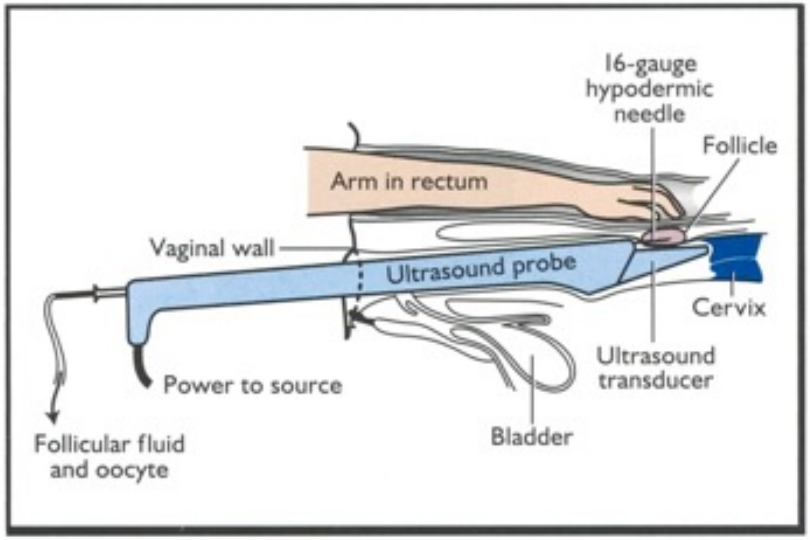
Vorteile	Nachteile
Bewährte Technik	Kosten
Keine Sedation	Nur 1 (bis max. 2) Embryo
Keine gesundheitliche Risiken	Saison- und Zyklusabhängig
Wiederholbar	Synchronisation Empfängerstute erforderlich
Konstante gute Trächtigkeitsraten (bis 80%)	

Eizellgewinnung

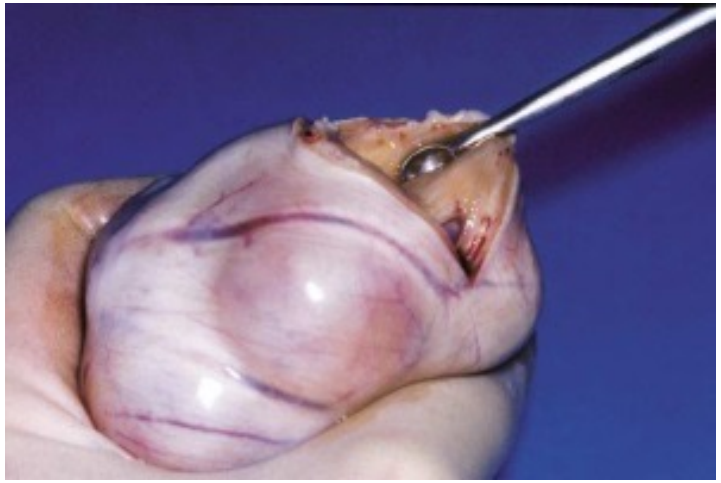
Gewinnung unreifer Eizellen

- Totes Tier (Eierstöcke): Absaugen
- Lebendes Tier: Ovum Pick Up (OPU)





Eizellgewinnung postmortem



Eizellgewinnung postmortem

Tötung

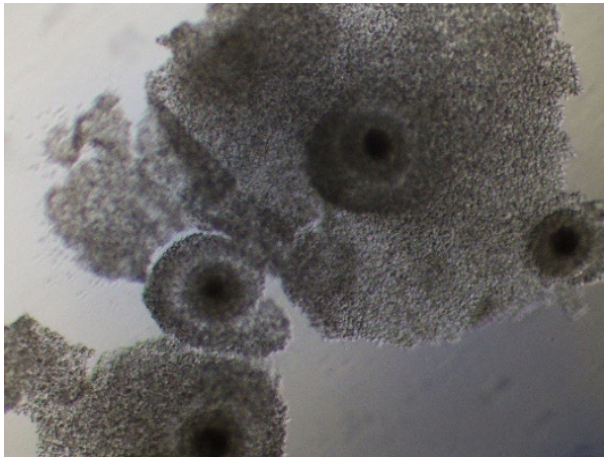
- Keine Euthanasie! → Schädigung der Eizellen
- Eierstöcke so bald wie möglich entnehmen + in NaCl

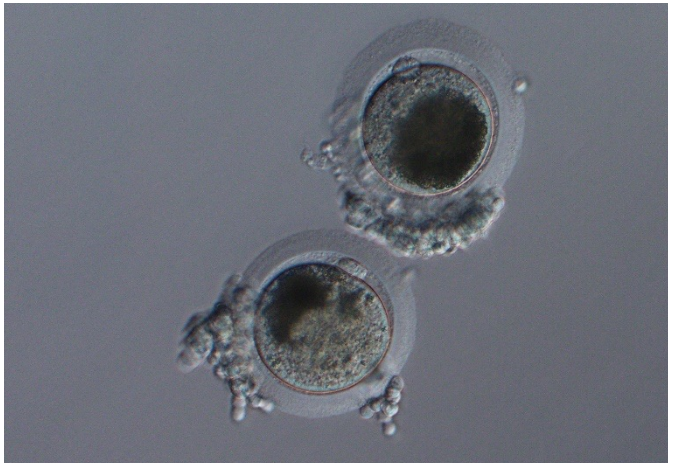
Transport

- NaCl 0.9%
- Zu Beginn 37°C, langsam auf Zimmertemperatur abkühlen lassen
- So schnell wie möglich in IVF-Labor bringen (max. 4h)

OPU = Ovum Pick-Up

Ziel: Gewinnung der Eizellen direkt aus den Eierstöcken für *in vitro* Befruchtung





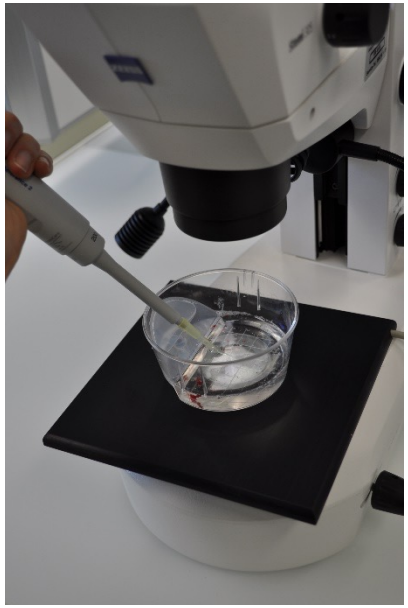
OPU - Durchführung

OPU - Durchführung

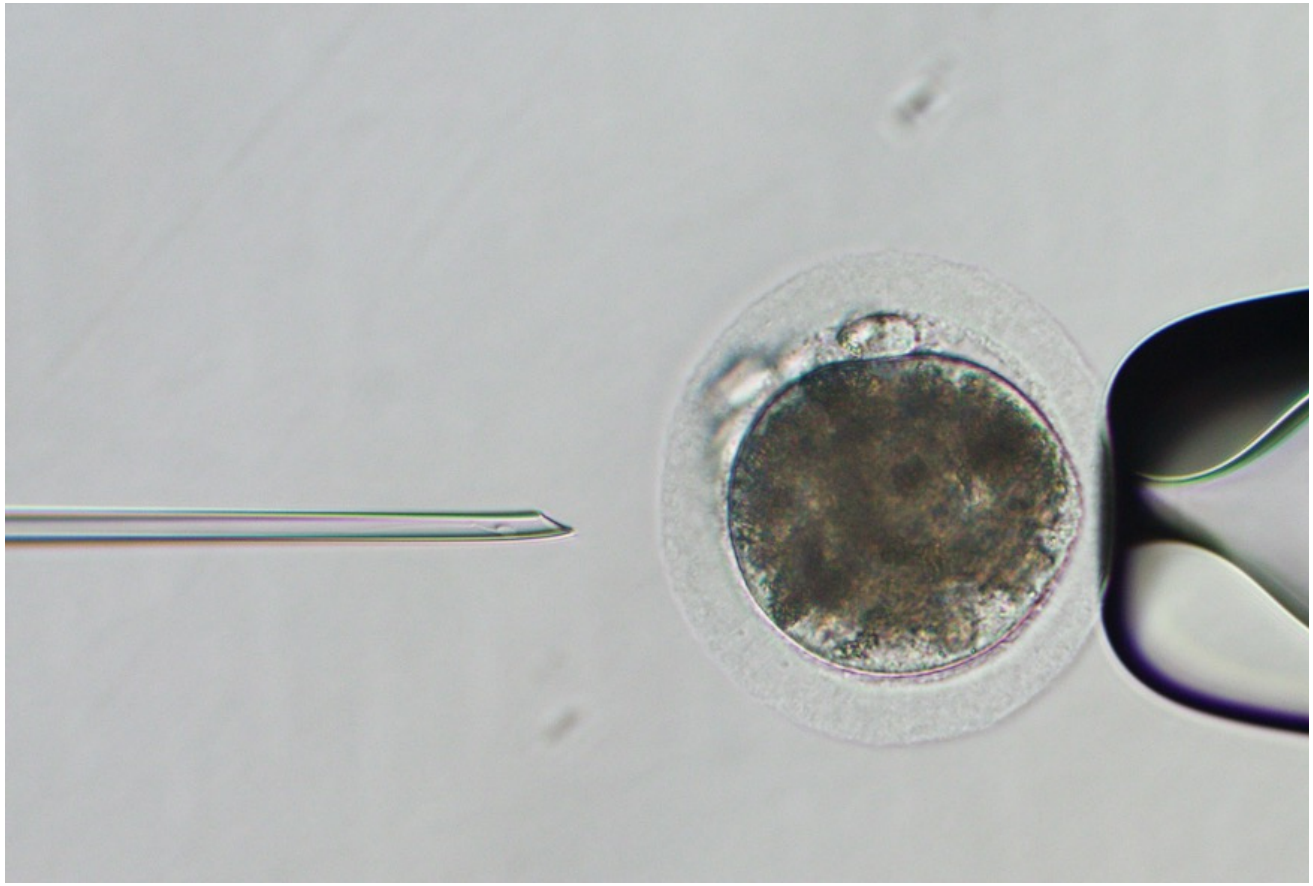
- Tiefe Sedation und Epiduralanästhesie
- Entzündungshemmer
- Reinigung der Schamm, Einführen des Sondenträgers in die Scheide
- Rektale Exploration
- Ultrasonographische Beurteilung der Eierstöcke
- Punktion aller Follikel ≥ 8mm

OPU - Durchführung

- Spülflüssigkeit mit Eizellen (38° C) filtern
- Identifizierung der Eizellen unter dem Mikroskop
- Transport bei Raumtemperatur und Reifung der Eizellen im Labor
- Jede Eizelle wird mit einem Spermium des ausgewählten Hengstes befruchtet = ICSI
- Kultur im Inkubator im Labor während ca. 1 Woche
- Transfer oder Tiefgefrieren der Embryonen

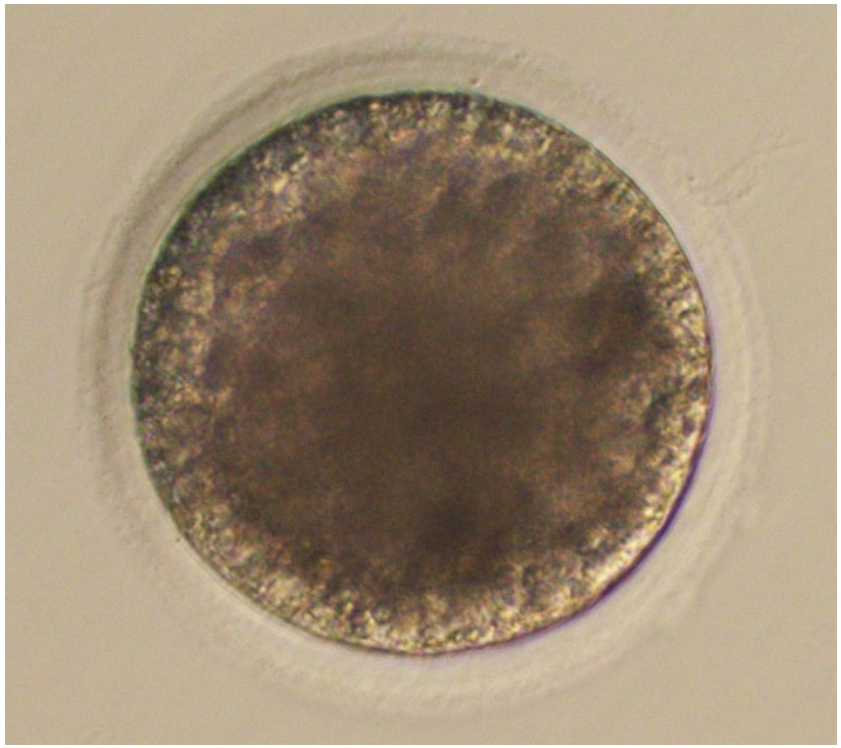


ICSI = intrazytoplasmatische Spermainjektion



Embryo: Entwicklung und Qualität

ICSI Embryo nach 7-8 Tage



OPU – Indikationen

- Stuten, von denen mehrere Fohlen in einer Saison erwünscht sind
- Stuten, die gleichzeitig im Sport eingesetzt werden
- Stuten mit therapieresistenter Gebärmutterentzündung oder Eileiterveränderungen
- Stuten mit Störungen im Eisprung (anovulatorische Follikel, septische Ovulation)
- Hengste mit geringer Fruchtbarkeit in der herkömmlichen Besamung
- Hengste, von denen nur wenig Tiefgefriersperma zur Verfügung steht

OPU – Auswirkungen auf Spenderstute

- OPU-Sitzungen bis jede 2 Wochen ohne Auswirkungen auf den Allgemeinzustand der Tiere
- Blutung im Follikel und lokale Vernarbung, nach 8 Monaten keine Veränderungen mehr sichtbar
- Selten Verhärtung der Ovarien, ohne Auswirkung auf Fruchtbarkeit
- Sehr selten Bauchfellentzündung, innere Blutung → Hospitalisierung

OPU Vor- und Nachteile

Vorteile	Nachteile
Keine Besamung, keine Hormonbehandlung nötig	Spezialisiertes Labor nötig
Ganzjährig möglich	Hohe Kosten
Unabhängig vom Zyklusstadium	Aufwendige, invasive Methode
Wiederholbar (i.d.R. jede 2 Wochen)	Geringes Risiko für Komplikationen
Nur wenige Spermien benötigt	
Keine negative Effekte auf Fruchtbarkeit	

OPU - Voraussetzungen

- Stute seit mindestens 30 Tagen im Herkunftsbetrieb
- während dieser Zeit keine seuchenpolizeilichen Massnahmen auf dem Betrieb
- Stute in den vergangenen 30 Tagen nicht im Natursprung belegt
- Test auf Kontagiöse Gebärmutterentzündung (Contagious Equine Metritis = CEM) negativ
- Stute ohne Anzeichen einer klinischen Krankheit
- Im Falle eines Exports den Embryonen:
  - ✓ Samen von einer EU-anerkannten Besamungsstation
  - ✓ Test auf Equine Infektiöse Anämie (EIA) negativ
  - ✓ zwei klassische CEM Tests (Intervall mind. 7 Tage) oder ein CEM Test mittels PCR negativ

OPU/ICSI - Ausbeute

10 Follikel punktiert beim OPU

5 Eizellen entnommen

4 reife Eizellen nach *in vitro* Maturation

1 ICSI Embryo

OPU/ICSI - Ausbeute

- Wahrscheinlichkeit der Entwicklung eines Embryo pro OPU-Sitzung: 70%
- Trächtigkeitsrate nach Transfer des Embryos in eine Empfängerstute: 60%

Erstes ICSI-Fohlen der Schweiz ! 💙

geboren 29.09.2018

OPU-Workshop

- Workshop für Tierärzte (Januar 2019)
- Theorie und praktischen Übungen
- Pferd und Rind
- Ziel: *in vitro* Produktion von Embryonen in Zusammenarbeit mit unseren Abteilung

OPU - Zusammenfassung

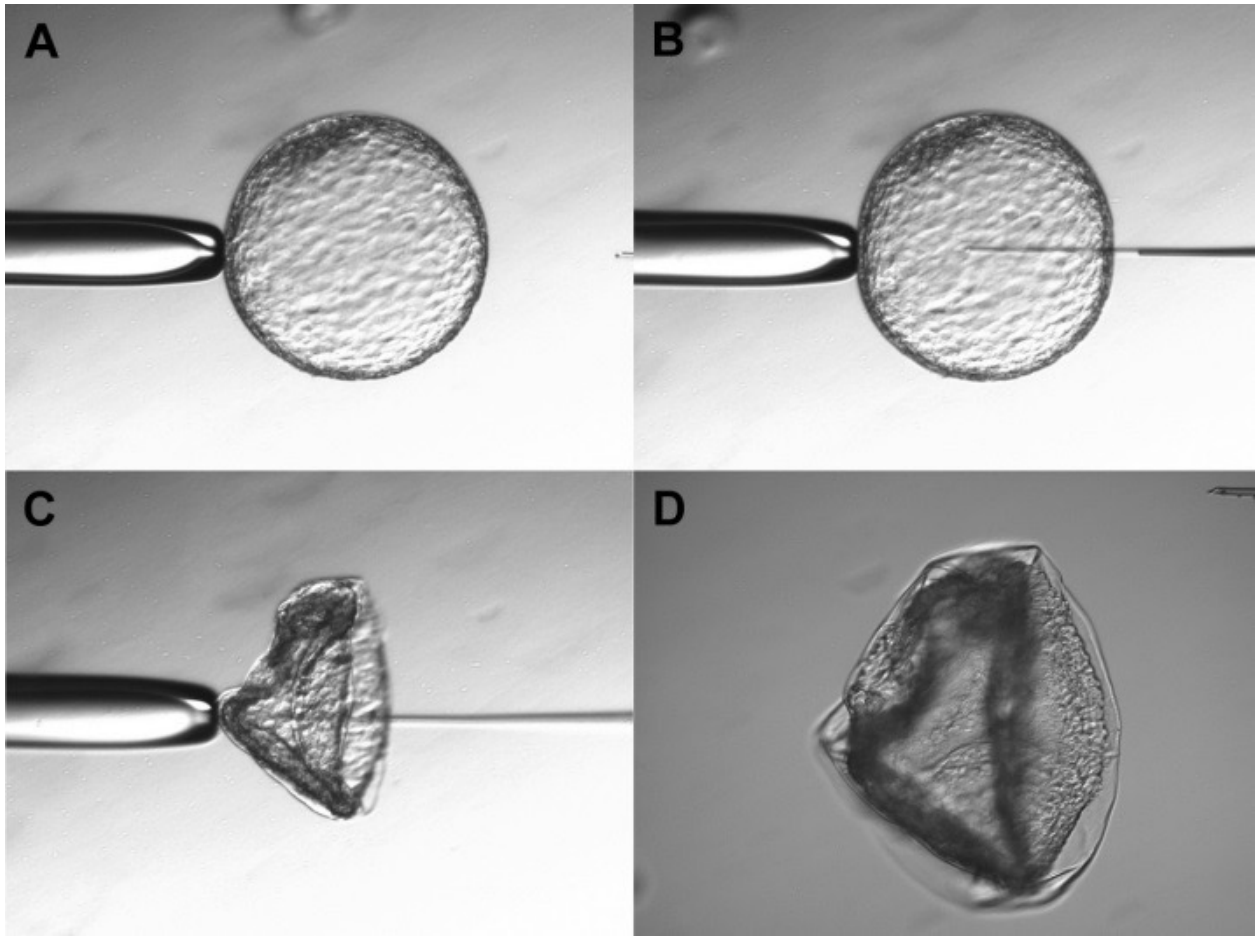
- OPU ist in der Schweiz möglich
- OPU ist eine interessante Alternative zum klassischen Embryotransfer
  - Stuten, die beim Embryotransfer keine Embryonen produzieren
  - Hengsten mit wenig Tiefgefriersamen

Tiefgefrieren von Embryonen

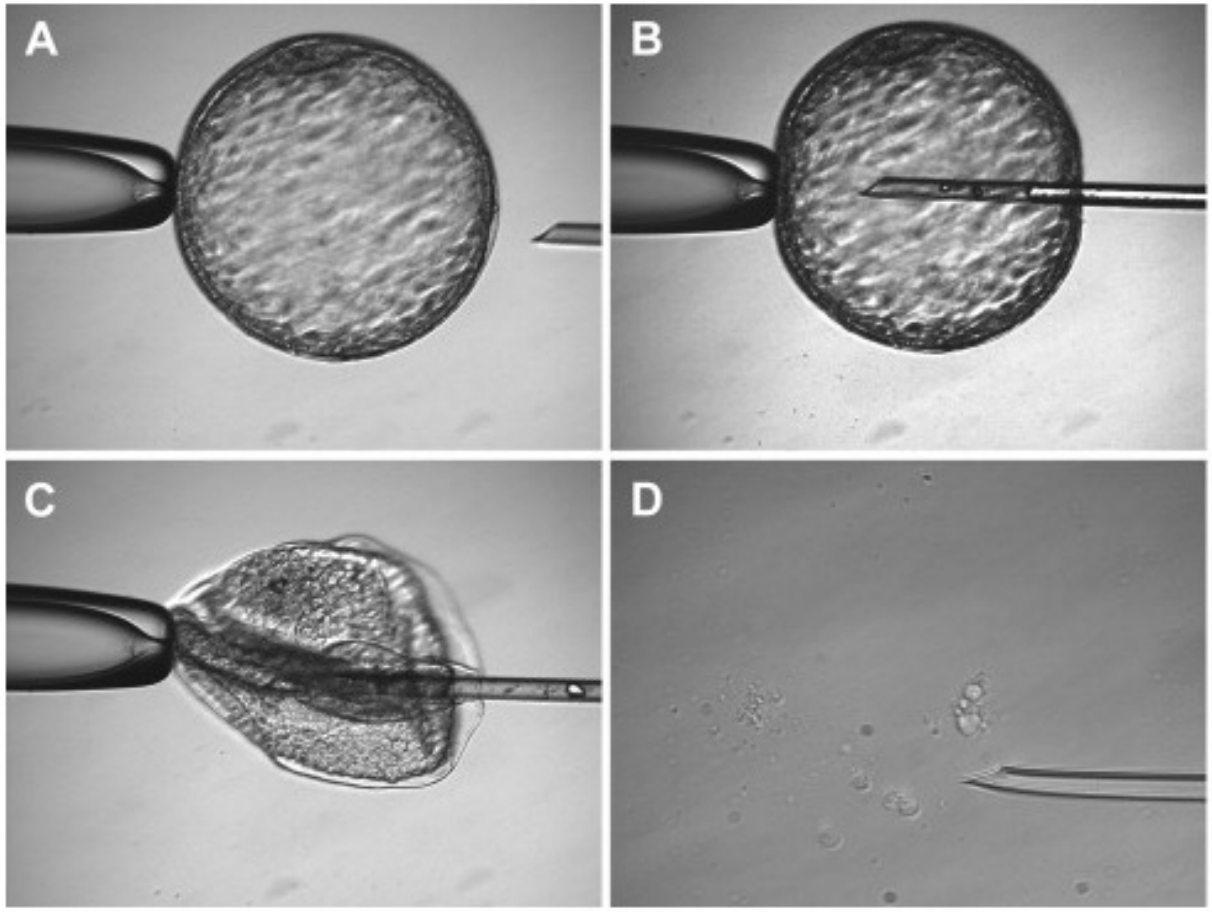
Vorteil: Transfer des Embryos später möglich

- *In vitro* Embryonen: relativ einfach
- *In vivo* Embryonen: schwierig, zu gross

Tiefgefrieren von Embryonen



Embryosexing



Kontakt

Dr. med. vet. Elise Jeannerat

Klinik für Reproduktionsmedizin

Abteilung Assistierte Reproduktion

Winterthurerstrasse 260

CH-8057 Zürich

Telefon: +41 44 635 91 74

+41 79 955 19 88

Email: ejeannerat@vetclinics.uzh.ch