

УКРАЇНА
НАЦІОНАЛЬНИЙ АГРАРНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
КАФЕДРА РОЗВЕДЕННЯ ТА ГЕНЕТИКИ ТВАРИН
ім. М.А.КРАВЧЕНКО

БІОТЕХНОЛОГІЯ ВІДТВОРЕННЯ СІЛЬСЬКОГОСПОДАРСЬКИХ ТВАРИН

*Методичні вказівки до виконання лабораторної роботи з розділу
Дисципліни «Біотехнологія відтворення с.-х. тварин» “Вимивання
ембріонів у корів-донорів.”*

*Спеціальність 6.130200- технологія виробництва та
переробки продукції тваринництва*

Київ-2006

УДК 636.082.4: 591.044

Викладено основні моменти підготовки обладнання, способи та техніку вимивання ембріонів у корів-донорів.

Для студентів факультету технології виробництва та переробки продукції тваринництва.

Рекомендовано навчально-методичною радою факультету технології виробництва та переробки продукції тваринництва Національного аграрного університету

Укладачі: В.І.Шеремета, Г.С.Тараненко

Рецензенти: Ю.В.Засуха, І.І.Глушак

Навчальне видання

Біотехнологія відтворення сільськогосподарських тварин

Методичні вказівки до виконання лабораторної роботи з розділу біотехнології “Вимивання ембріонів у корів-донорів”

Спеціальність 6.130200- технологія виробництва і переробки продукції тваринництва

Укладачі: Шеремета Віктор Іванович, Тараненко Григорій Семенович

Відповідальний за випуск проф. В.І.Шеремета

Зав. видавничим центром А.П.Колесніков

Редактор З.І.Маренець

Підписано до друку Формат 60x84 1/16

Ум. друк. арк.1.0.

Обл.-вид.арк.0.9. Тираж 100 пр.

Видавничий центр НАУ.

03041, Київ, вул. Героїв Оборони 15.

Вступ

Біотехнологія – це інтегроване використання фундаментальних досліджень у біології та біоінженерії для промислової реалізації потенційних можливостей біологічних об'єктів з метою задоволення потреб людства. За значенням для людства сучасна біотехнологія стоїть у одному ряду з такими досягненнями науки як розщеплення атома, подолання земного тяжіння і створення приладів електроніки.

Термін „біологічний об'єкт” охоплює всі види мікроорганізмів, вірусів, клітини й тканини людини, тварин і рослин, їхні складові до молекулярного рівня, а також позаклітинні речовини, які використовуються в біологічних процесах.

Втручання людини в процес розмноження тварин сприяло виникненню ряду методів, що були названі біотехнологічними методами відтворення. Запровадження в медичній практиці та сільському господарстві біотехнологічних методів (штучного осіменіння, трансплантації ембріонів, довготривале збереження сперми та зародків, клонування, запліднення яйцеклітин і культивування *in vitro*, отримання трансгенних тварин та інших) дозволяє вирішити ряд проблем, пов'язаних із подоланням неплідності, профілактикою захворювань, збереженням видів і порід, селекційним процесом, отриманням тварин з новими продуктивними властивостями та підвищенням продуктивності сільсько-господарських тварин. Найбільш практичного значення в Україні в галузі тваринництва набули штучне осіменіння та трансплантація ембріонів.

Сучасна селекційна робота з виведення нових порід великої рогатої худоби та удосконалення існуючих неможлива без використання біотехнологічних методів відтворення, зокрема трансплантації ембріонів, який забезпечує отримання від високопродуктивних корів значної кількості нащадків, у тому числі бугайців для племінної оцінки з метою поліпшення генетичної структури поголів'я, а також прискорення створення племінних репродукторів.

Трансплантація ембріонів - один із найбільш широко впроваджених у практику тваринництва методів біотехнології відтворення, який включає два способи отримання та пересадки ембріонів - хірургічний та нехірургічний. Після організації в 1974 році Міжнародного товариства з трансплантації ембріонів розпочалися інтенсивні дослідження з удосконалення нехірургічного методу з метою підвищення його ефективності. Проведені дослідження показали, що нащадки, отримані із використанням трансплантації

ембріонів, більш життєздатні, що пов'язують із дією добору на рівні ембріонів.

Метод трансплантації ембріонів, суть якого полягає в пересадженні їх доімплантаційних стадій розвитку (морул та бластоцист) від корови-донора телиці-реципієнту, в організмі якої відбувається його ріст і розвиток до народження, складається з важливих взаємозв'язаних ланок біотехнологічного процесу, а саме: стимуляції суперовуляції у донорів, їх осіменіння, нехірургічного вимивання, пошуку, оцінки життєздатності ембріонів та підготовки реципієнтів і пересадження їм зародків. Кожна із цих ланок ще остаточно не досліджена і їх методики удосконалюються. Завдяки розробці методик замороження ембріонів та довготривалого зберігання їх у рідкому азоті, метод трансплантації можна умовно розділити на два етапи: перший закінчується замороженням ембріонів та їх реалізацією; другий - включає добір реципієнтів, техніку підготовки та трансплантацію зародків. Ці етапи набули самостійного генетико-селекційного та економічного значення в тваринницькій галузі.

Однією із важливих ланок трансплантації ембріонів є нехірургічне вимивання ембріонів у корів-донорів. Нині розроблені середовища та велика кількість інструментів для його здійснення. Освоєння цієї ланки методу трансплантації потребує знання методичних особливостей підготовки обладнання, середовищ, донорів, техніки постановки катетерів, оцінки результатів роботи, та безпосередньо процесу вимивання.

1. Вимивання ембріонів у донорів великої рогатої худоби

Обладнання та реактиви: дво-, триканальний катетер, металевий стилет, металеві насадки для фіксації стилету, 5 мл, 20 мл та 50 мл – одноразові шприци, стерильні флакони на 500 мл, одноразові поліетиленові рукавиці, санітарні чохли, мотузка для фіксації хвоста, середовище Дюльбекко, або фосфатно-буферне середовище (ФБС), антибіотики, фетальна сироватка, або бичачий сироватковий альбумін (БСА), новокаїн 2 %, спирт 70 % чи 96 %, анестезуючі препарати рометар (Чехія) або седизин (Польща), препарати для зволоження катетера „Керолан” (Чехія) або водорозчинним желе „К-У” (Англія), препарати аналоги простагландину F_{2β}.

Перед вимиванням ембріонів у донора ввечорі 6-го або вранці 7-го дня статевого циклу необхідно провести ректальні дослідження для виявлення реакції суперовуляції. Вона визначається наявністю жовтих тіл на яєчнику. Крім жовтих тіл на яєчниках можуть бути фолікули. Жовті тіла, під час пальпації, мають вигляд бугорків, твердої консистенції, наявність на яєчниках трьох і більше жовтих тіл, свідчить про позитивний результат стимуляції суперовуляції. Це дозволяє почати процес підготовки до вимивання ембріонів у корови-донора, який складається з стерилізації манежу, боксу, виготовлення середовища для вимивання, підготовки обладнання та корови-донора.

1.1 Підготовка обладнання та приготування середовища

Для вимивання ембріонів у корів-донорів розроблено багато катетерів, які відрізняються між собою за матеріалом виготовлення та конструктивно. У практиці, в основному, користуються модифікаціями двоканального катетера Фоллея [1], виготовлених із нетоксичної для ембріонів гуми, латексу, поліетилену, силікону. Цей катетер має один канал, на початку якого кріпиться насадка для фіксації стилету, а на другому кінці він запаяний і має декілька отворів збоку. Через цей канал у матку подається і виводиться з неї середовище для вимивання ембріонів. Другий канал слугує для подачі в балончик повітря, який розміщений недалеко від останнього бокового отвору на протилежному кінці катетера. Завдяки балончику, наповненому повітрям, катетер фіксують у розі матки та одночасно перекривають його і не дозволяють виходити середовищу для вимивання в тіло матки. Ці катетери випускаються різних розмірів від 12 до 20 номера і розраховані на широкий спектр застосування у телиць і корів. Найчастіше використовують катетери 16 і 18 номерів.

У триканальному катетері фірми “IMV”, як і інших фірм, третій канал слугує для виведення з матки середовища. Такі катетери в практиці не знайшли широкого впровадження.

Катетери німецької фірми „Minitub” випускають у двох модифікаціях: з металевим наконечником і без нього. Металевий наконечник забезпечує промивання обох рогів матки одним катетером, але потребує дуже обережного поводження через можливість травмування ендометрію (рис.1).

При використанні двоходового катетера „Minitub” та модифікованих катетерів вітчизняного виробництва, на всю довжину його вставляють металевий стилет, який фіксують у насадці.

Перед з’єднанням катетера із стилетом необхідно промити катетер, заливши в середину 20 мл середовища для вимивання. Стиллет промиваємо такою ж кількістю середовища з верхнього кінця до фіксатора. Стиллет з’єднуємо з катетером на витягнутих руках, щоб його кінець ненароком не торкнувся халата. Поверхню підготовленого

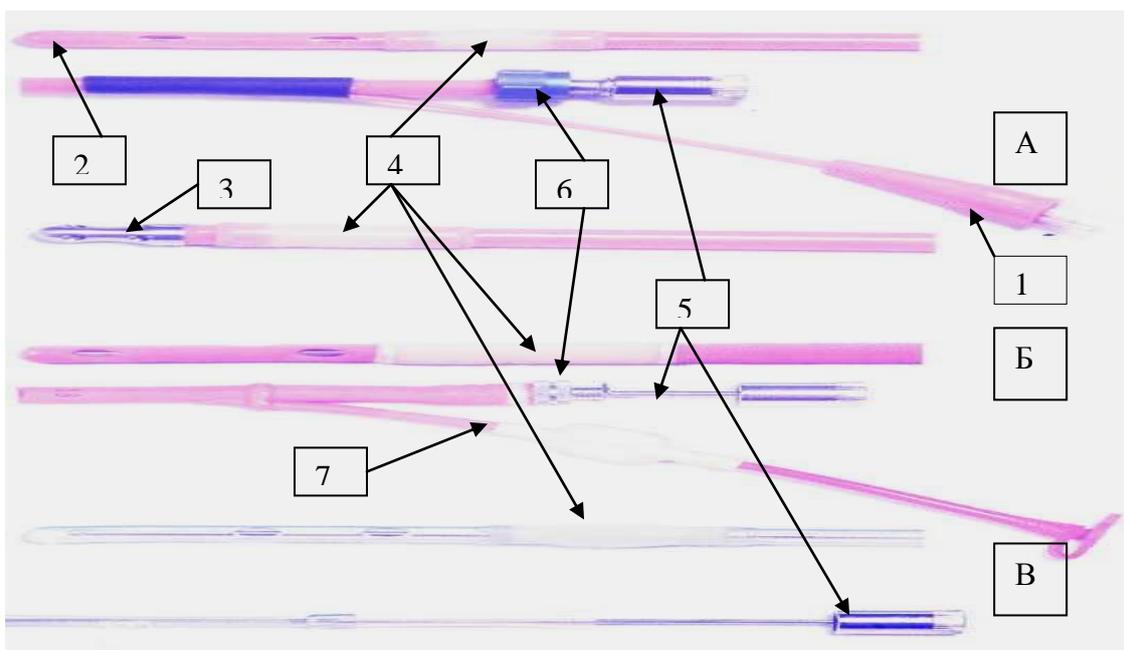


Рис.1. Катетери для вимивання ембріонів фірми Minitube: А – катетер із зворотним повітряним клапаном (1) із латексним (2) або металевим (3) наконечником; Б – гумовий катетер; В – пластиковий катетер; (4 – повітряний балончик, 5 – стилет, 6 – фіксатор стилету, 7 – фіксатор повітря із зовнішнім балончиком).

катетера зволожують із верхівки до фіксатора препаратом „Керолан”, або водорозчинним желе „К-У”, чи середовищем для вимивання ембріонів. Потім вставляють катетер у санітарний чохлак.

Приготування середовища для вимивання ембріонів: до фосфатно-буферного середовища Дюльбекко (ФБС) додаємо фетальну сироватку (2 % - 20 мл на 1 л ФБС) або БСА (0,4 % - 4 г бичачого сироваткового альбуміну на 1 л ФБС) та препарат для санірування (комплекс антибіотиків - 12 мкг/см³ гентаміцину + 100 од/см³ ампіцеліну) [2].

У разі використання в якості посудини для збору ембріонів вимивних фільтрів їх вимивають середовищем без сироватки і БСА для запобігання утворення піни в розчині, яка утруднює їх пошук. У такому випадку необхідно прискорити пошук ембріонів із метою швидкого перенесення їх у середовище для культивування.

1. 2. Підготовка корови-донора до вимивання

Вимивання ембріонів у більшості випадків проводять у манежі, в якому на 45-60 хвилин вмикають бактерицидні лампи.

Корову-донора фіксують у станку, щоб передні кінцівки були на висоті 215-30 см над поверхнею підлоги. Для цього роблять у станку спеціальну тумбу, або підіймають його передній край. Це забезпечує краще витікання через катетер середовища із матки.

Корові-донору проводять сакральну, епідуральну анестезію, з метою знеболення репродуктивних органів та зняття напруження прямої кишки. Для визначення місця ін'єкції, підіймають вгору хвіст, і перегін на хребті буде свідчити, де знаходиться останній крижовий і перший хвостовий хребці. Це місце протираємо тампоном, змоченим 70 %-м спиртом і під кутом 45° вводимо голку шприца між хребцями та ін'єктуємо 5 мл 2 %-го новокаїну. У разі ускладнення виходу новокаїну із шприца, голку необхідно трохи підтягнути до гори. Про анестезію буде свідчити повне розслаблення хвоста донора, який буде коливатися як мотузка. Якщо через 5-7 хвилин не настає розслаблення хвоста, анестезію повторюють. Хвіст відводять в бік та фіксують.

Одночасно з проведенням анестезії, очищають пряму кишку від калових мас. Далі теплою водою миють круп, статеві губи, протирають їх насухо та дезінфікують 70 %-м спиртом-ректифікатом.

1.3 Техніка установки катетера в статевих шляхах донора

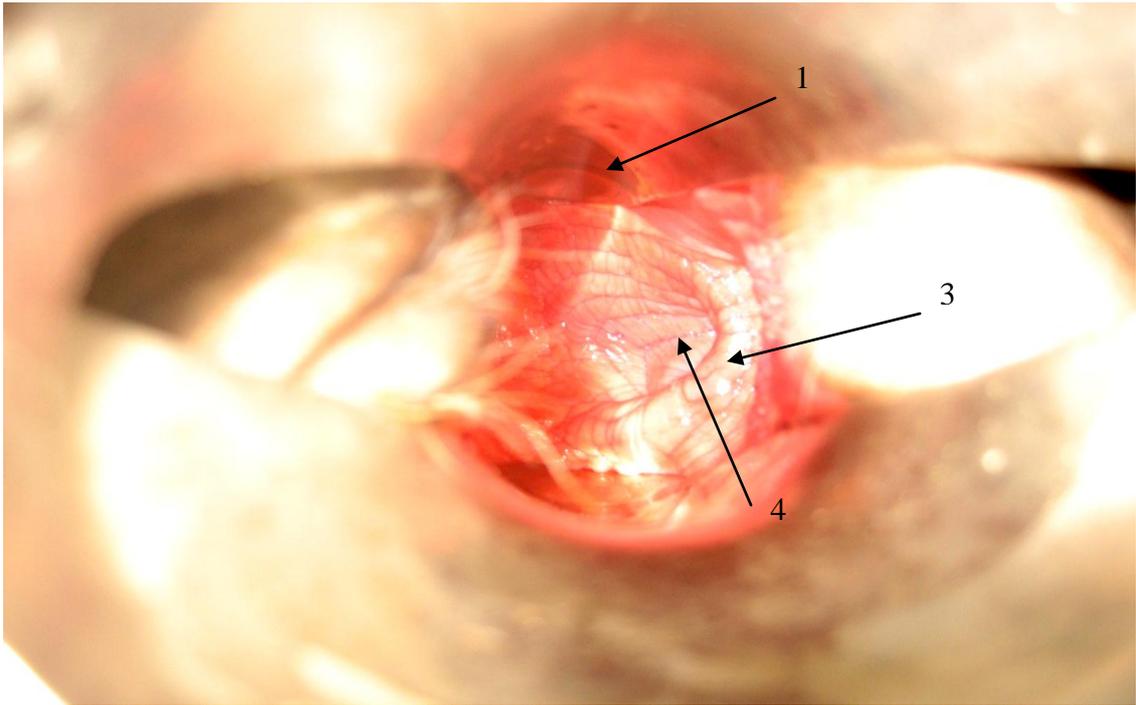
Вставляють праву руку в пряму кишку до плеча і виводять її трохи назад (цим забезпечуються більш вільні рухи в тазовій порожнині) і починають пальпувати яєчники, підраховуючи кількість жовтих тіл і фолікулів на ньому (кількість їх на кожному яєчнику фіксують у журналі). Слід відмітити, якщо на яєчнику є більше ніж 5-6 жовтих тіл 100 %-ї точності в підрахунку досягти важко, оскільки

менші жовті тіла прикриваються більшими. Далі фіксують шийку і беруть у ліву руку катетер для вимивання. У більшості випадків накладають руку зверху на шийку матки і фіксують її у кулаці. При цьому її тримають так, що мізинець знаходиться на краніальному краї шийки матки. Помічник бере за краї статевих губ і розводить їх в бік. Катетер вводять під кутом 45° і просовують його на 10-15 сантиметрів у середину піхви. Потім його вирівнюють і просовують до упору у верхнє склепіння піхви або шийку матки.

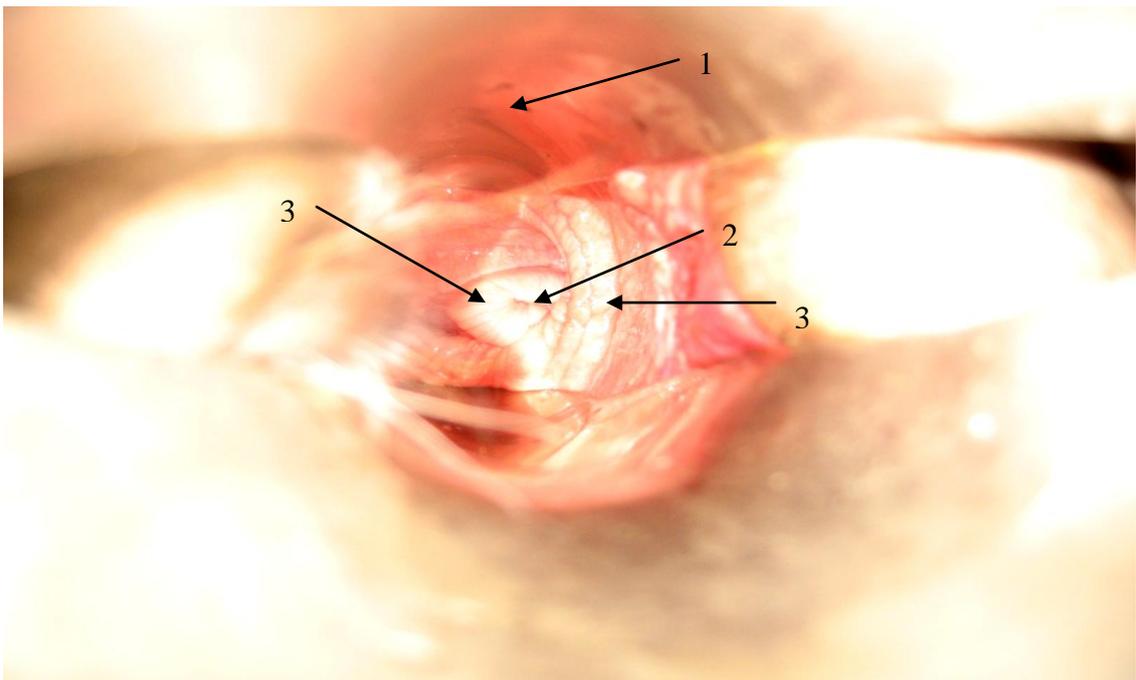
Шийка матки анатомічно чітко відокремлена від піхви і відкривається в ній у вигляді розетки, що заважає введенню катетера в її канал. Тому мізинцем руки, яка фіксує шийку матки, допомагають ввести катетер в її канал. Слід пам'ятати, що в каналі шийки матки самиць великої рогатої худоби є повздовжні складки, які перериваються виступами, спрямованими в бік матки. Він має додаткові борозни, що інколи утворюють дивертикули [3]. Крім того, на 7-8-й день статевого циклу внутрішній шар м'язів закриває шийку (рис. 2, 3). Всі ці морфофункціональні особливості шийки заважають проходженню катетера в каналі. Інколи буває, що через наявність спайок у каналі, які виникли внаслідок тяжких отелень, не вдається просунути катетер через шийку матки. У таких випадках використовують спеціальні розширювачі (дилататори). Вони бувають металічні і скляні без отвору або з отвором, куди надходить слиз. Після розширення каналу шийки матки введення катетера повторюють.

Після проходження шийки матки виникає друге ускладнення, суть якого полягає у введенні катетера в лівий чи правий ріг матки. У першу чергу катетер необхідно вводити в той ріг матки з боку якого на яєчнику є найменша кількість жовтих тіл. Це сприяє зменшенню часу знаходження більшої кількості ембріонів в умовах *in vitro*. Для цього лівою рукою повертаємо катетер вправо чи вліво і просовуємо його вперед до упору у велику кривизну рога матки. Ці дії проводимо під контролем правої руки, що знаходиться в прямій кишці, щоб не проткнути стінку рога.

Великим, вказівним та середнім пальцями фіксуємо катетер, а мізинцем і безіменним пальцями – стилет. Далі стилет від'єднуємо від катетера та витягуємо його на 3-4 см, що не дасть можливість проткнути стінку рога матки. Великим, вказівним та середнім пальцями фіксують катетер, а мізинцем та безіменним - стилет. Руку подають вперед, одночасно витягуючи мізинцем та безіменним



А



Б

Рис.2. Корова Найда 1354. А – шийка матки зміщена в право від центральної осі піхви; Б – шийку матки вирівняли за центром піхви (1 – верхнє склепіння; 2 – закритий вхід в канал шийки; 3 – кругові валики, які створюють «розетку» піхвової частини шийки; 4 – повздовжні борозни, що ведуть до каналу шийки матки).

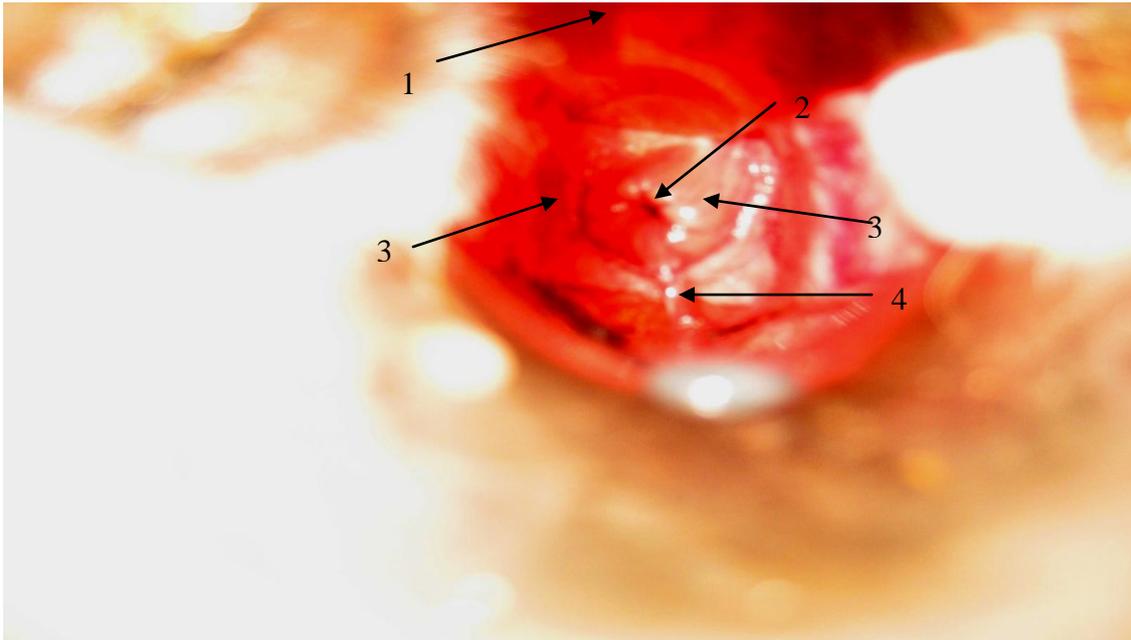


Рис.3. Корова Смілива 1673 в статевій охоті. Піхвова частина шийки у вигляді «розетки» (1 – верхнє склепіння; 2 – відкритий вхід у канал шийки; 3 – кругові валики які створюють «розетку» піхвової частини шийки; 4 – слиз, що витікає з каналу шийки матки).

пальцями стилет. Такі рухи зумовлюють сповзання катетера в розі матки до його верхівки.

Після завершення введення катетера в ріг матки його необхідно зафіксувати, для чого наповнюють балончик катетера повітрям. Глибина введення катетера регулюється місцем фіксації його балончика, який краще розміщати за біфуркацією матки. Глибоке введення необхідне для корів у яких довгі роги матки.

Деякі спеціалісти на коровах м'ясних порід і телицях-донорах фіксують катетер у каудальному кінці шийки. У цьому випадку кінець катетера розміщений біля біфуркації рогів, що дозволяє промивати два роги одночасно. Слід пам'ятати, що ефективність вимивання ембріонів у такому випадку значно нижча.

У балончик, залежно від діаметра рога матки, шприцем повільно накачують від 12 до 20 см³ повітря. Швидке та надмірне накачування повітря може призвести до розриву слизової оболонки рога матки і вимивне середовище набуває червонуватого відтінку внаслідок кровотечі. Тому, необхідно через пряму кишку контролювати об'єм повітря, що подається в балончик. У разі накачування надмірної кількості повітря або незадовільного розміщення катетера в розі матки повітря з балончика випускають і просовують катетер глибше в ріг

матки. Найбільше ембріонів отримують при введення катетера в верхівку рога матки.

При неправильному розміщенні катетера в розі матки після введення першої позиції середовища для вимивання воно не витікає з катетера. Це може бути зумовлено такими причинами: закупорка отворів катетера слизом; прокол рога матки; перегинання катетера під час його введення. Способи ліквідації цих недоліків наведено в таблиці.

Триканальний катетер фірми „IMV” вводять у ріг матки через шийку і тіло матки майже до середини рога. У гумовий балончик, розміщений на передньому кінці катетера, нагнітають повітря (15-20см³) з метою фіксації його положення і запобігання витікання середовища. Положення балончика контролюють впродовж всього періоду вимивання. Після цього телескопічний зонд вводять глибше в ріг матки залежно від його довжини. За допомогою силіконової трубки, сполученої з дистальним кінцем катетера і шприца, з першої посудини в ріг матки вводять середовище Дюльбекко, яке виводиться через телескопічний зонд у другу посудину за замкнутою системою. Для промивання ріг матки легенько масують і піднімають дещо вгору для звільнення від середовища. Кількість середовища, яке вводиться, повинна відповідати кількості, яка виводиться. Якщо останнє зникає або протікає повз силіконову трубку, у балончик нагнітають більше повітря.

Закінчивши промивання одного рога матки повітря з балончика випускають, підтягують телескопічний зонд до металічного катетера, який обережно переміщують у другий ріг. Промивання другого рога проводять у тій самій послідовності, що й першого.

Після цього балончик звільняють від повітря, підтягують телескопічний зонд до катетера. Останній витягують з рога в тіло матки і вводять у неї антибіотики. При використанні вказаного катетера кількість вимитих ембріонів від наявних жовтих тіл в яєчниках становить близько 80 %.

Успіх вимивання ембріонів значною мірою залежить від підготовки спеціаліста (вміле введення інструмента в канал шийки і ріг матки, застосування прийомів маніпуляцій з рогом матки під час вимивання). Слід відмітити, що триходовий катетер досить складний в освоєнні, небезпечний щодо проходу рога матки, отвір телескопічного зонда часто закупорюється внаслідок защемлення ним слизової оболонки матки. Тому підготовка спеціаліста для вимивання ембріонів повинна починатися з освоєння методу штучного осіменіння корів і телиць, стажування з досвідченим спеціалістом на

вibraкуваному поголів'ї в навчальному центрі. Після 20-30 самостійних вимивань і одержання кваліфікаційного посвідчення спеціаліст може бути допущений до самостійної роботи [4].

1.4. Способи вимивання ембріонів із рогів матки донора

Із катетера, який зафіксований в рогі матки, витягують стилет і починають вимивати ембріони. Ембріони вимивають трьома способами, які відрізняються між собою технічно та об'ємом середовища, яким його проводять. Техніка подачі середовища в рог матки є для всіх способів однаковою. Перший спосіб полягає в асептичному вимиванні ембріонів самопливом (гравітаційний). Для цього через трійник до катетера приєднують ще два шланги, які мають фіксатори для перекриття каналу. Один слугує для подачі середовища в матку. Для цього в пляшку з середовищем через пробку вставляють дві стерильні голки. Одну коротку з великим діаметром (зазвичай голку для взяття крові), а другу довгу до упора в дно пляшки для подачі повітря. До короткої голки приєднують шланг із закритим фіксатором, перевертають пляшку догори та розміщують у фіксаторі на відстані 1 м над крупом тварини.

Кінець другого шлангу, з закритим фіксатором, закріплюють отвір в кришці в стерильній пляшці або в фільтрі. За таким способом для промивання одного рогу матки 400-500 см³ середовища для вимивання ембріонів.

Другий спосіб полягає в примусовій подачі та відбору середовища із матки шприцами об'ємом 50-60 см³. Для промивання одного рогу використовують 250-300 см³ середовища.

Третій спосіб – комбінований. Шприцами об'ємом 50-60 см³ подають середовище в рог матки, а забирають самопливом в стерильну теплу пляшку. Після подачі середовища в матку, пережимають пальцями катетер біля фіксатора стилета, від'єднують від нього шприц і вставляють його кінець в горловину пляшки. Середовище із рога матки самопливом витікає в пляшку. Слід пам'ятати, що воно повинно витікати по стінці пляшки, щоб у ембріоні не порушилися зв'язки між ембріобластами, що може трапитися під час його удару об поверхню середовища при не дотриманні цього правила. Для промивання одного рогу матки використовують 400-500 мл середовища. Останніх два способи при дотриманні правил асептики дозволяють вимивати ембріони в донорів прямо в стійлах, що важливо при проведенні контрольної стимуляції суперовуляції.

1.5. Техніка вимивання ембріонів із рогів матки

Перед вимиванням середовище нагрівають на водяній бані до 35-40 °С. Перші порції середовища об'ємом 20-30 см³ подають у матку. Перед вприскуванням середовища в ріг матки необхідно взяти яєчник і підняти його. Середовище подають в ріг матки середнім темпом. Всі ці прийоми на початку вимивання проводяться для того, щоб із течією середовища ембріони не потрапили в яйцепровід. Потім пережимають катетер, від'єднують шприц, підставляють горловину пляшки і по її стінці середовище витікає з рога матки в посудину або фільтр для збору ембріонів, який ставлять на підставку з пінопласту. У випадку наявності крові в середовищі (наслідок травмування слизової оболонки під час постановки катетера) перші порції збирають в окрему посудину і відносять у лабораторію, де їх розбавляють чистим і теплим середовищем і відразу проводять пошук ембріонів.

Об'єм наступних порцій збільшують до 40-50 мл. Після витікання кожної порції середовища, через пряму кишку масажують матку для стимуляції скорочення її м'язів з метою виштовхування залишків середовища. У кінці вимивання, спускають балончик і масажують матку, деякі техніки піднімають кінець рога. Катетер витягують із статевих шляхів матки і відразу піднімають для витікання залишків середовища. Крім того, ще промивають катетер середовищем в об'ємі 15-20 мл для змивання ембріонів, які можуть зачепитися за стінки катетера. Пляшку з середовищем і ембріонами підписують, вказуючи індивідуальний номер донора та з якого рогу середовище і передають у лабораторію для пошуку ембріонів.

Далі беруть інший катетер і процес постановки та вимивання повторюється тільки з протилежним рогом матки донора. Під час інтенсивного використання донора (5-6 вимивань на рік) після промивання обох рогів із балончика випускають повітря, катетер витягують в тіло матки, щоб його кінець був за біфуркацією і через нього вводять суміш пеніциліну і стрептоміцину (по 500 тис. ОД. на 20 мл 0,5 % новокаїну) та для швидкого лізису жовтих тіл ін'єктують внутрішньом'язово 500 мкг клопростенолу (любий препарат простагландину F_{2α}).

Основні правила, які слід пам'ятати під час вимивання ембріонів полягають у тому, що:

1. Жодна крапля, що виходить з матки не повинна впасти додола, бо в ній можуть бути всі ембріони;

2. Який об'єм середовища подають в матку, такий і необхідно забрати;
3. Всі маніпуляції з маткою слід проводити обережно, оскільки можна травмувати слизову оболонку і викликати крововилив у середовище. Кров у середовищі негативно впливає на життєздатність ембріонів.

Можливі недоліки під час вимивання ембріонів у донорів та способи їх усунення представлені в таблиці 1.

1. Можливі недоліки під час вимивання ембріонів у корів-донорів та способи їх усунення [5]

Несприятливий показник або фактор	Можлива причина	Спосіб усунення
1	2	3
Сильне хвилювання, агресивність донора.	Характерно для м'ясних порід.	Вимивання проводити в станках з жорсткою фіксацією.
		Буйним тваринам вводять внутрішньом'язово седативні препарати (1,5-2 мл рометара).
Складне проходження шийки матки донора, сильні скорочення м'язів черевного пресу, напруження м'язів прямої кишки.	Неякісно виконана сакральна анестезія, донор "володіє" хвостом.	Повторити анестезію на хребець вище, до повного розслаблення кореня хвоста.
	Післяпологовий вигиб або вузькість шийки матки.	Використати розширювач шийки матки.
	При введенні руки rectum через анус надійшло повітря.	Для ліквідації "труби" прямої кишки, ввести руку глибше і декілька разів потягнути на себе складки слизової оболонки. Зробити перерву на 10-15 хв.
Стиллет не витягується з катетера.	У гумових та латексних катетерів скорочення матки затискає стилет в області балончика.	Обов'язково змочувати стилет і промивати катетер середовищем для вимивання. Випустити повітря з балончика. Вийняти катетер і замінити стилет.

Продовження таблиці 1		
1	2	3
Недобір (більше 100 мл) або не повертається із рога матки середовище для вимивання ембріонів.	Прокол рога матки катетером під час його введення, промивна рідина витікає в черевну порожнину.	Ввести катетер на максимальну глибину, повз припустиме місце течі ФБС, після закінчення - санація матки.
	Балончик пропускає повітря, розрив повітряного балончика.	Упевнитися в наявності балончика у розі матки, при несправності - замінити катетер.
	Катетер забивається слизом.	Прощтовхнути можливу пробку примусовою подачею середовища або повітря.
	Кінець катетера загнувся.	Спустити повітря із балончика, підтягнути катетер доверху.
	Видавлювання середовища в яйцепровід, при надмірній його подачі його шприцами.	Замінити примусову подачу середовища на гравітаційний метод.
Середовище, витікає з матки зафарбоване кров'ю.	Ураженням судин стінки матки надмірним або різким розтягнення балончика. Незначне травмування ендометрія під час постановки катетера.	Зменшить на 1-2 см ³ подачу повітря в балончик. Перші порції середовища відокремити від наступних.
	Потоншена стінка матки, внаслідок прихованого ендометриту.	Припинити вимивання, провести санацію матки.
	Ураження або прорив стінки матки катетером, грубий масаж.	Підвищити кваліфікацію технолога.
Згустки звернутої крові в середовищі.	Ураження ендометрія шприцом під час штучного осіменіння донора.	Уникати грубих маніпуляцій при осіменінні.
Недобір більше половини ембріонів і яйцеклітин (або їх відсутність) від числа жовтих тіл.	Помилка в підрахунку жовтих тіл, характерна для слабкої реакції яєчників (жовті тіла без чітких границь, пружні фолікули, кістоз яєчників).	Для донорів з полікістозом зменшити дозу гонадотропіну.

Продовження таблиці 1		
1	2	3
	Неякісно проведене вимивання рогів матки. Недостатня глибина введення катетера, його заворот у матці.	При значній реакції яєчників провести перемивання сумнівного рога матки.
	Втрати ембріонів при фільтрації, неповному їх знаходженні через включень слизу, крові, епітелію.	Перевірити надійність фільтрів та інших приладів на бракованих ембріонах або яйцеклітинах.
	Сальпінгіт (запалення яйцепроводу), постійний недобір ембріонів і яйцеклітин.	Провести лікування при двобічному захворюванні вибраковують донора.
	Різні форми гибель ендометриту, що супроводжуються загибеллю і лізисом ембріонів, які вийшли в матку	Лікування.
	Недостатня кваліфікація спеціаліста	Пройти стажування.
Низький вихід придатних ембріонів.	Порушення обміну речовин	Включити в гормональну обробку донора вітаміни (тривіт або тетравіт) і препарат глютам.
Вимиті одні яйцеклітини	Відсутність сперматозоїдів у статевих шляхах донора. Мертві сперматозоїди	Донора не осіменяли. Перевірити активність сперматозоїдів в дозі

2. Оцінка результатів вимивання ембріонів у донора

Ефективність вимивання визначають виходом ембріонів і яйцеклітин відносно кількості жовтих тіл. Розраховують за формулою

$$\frac{\text{ЖТ} \times 100\%}{\text{КЕЯ}}$$

де,ЕВ – ефективність вимивання;

ЖТ – кількість жовтих тіл;

КЕЯ – кількість отриманих ембріонів і яйцеклітин.

Ефективність вимивання в межах 80-100 % є цілком задовільною. Зменшення цього показника можливе через недостатню кваліфікацію техника. Крім того вважають, що деяка кількість яйцеклітин при великому збільшенні яєчників не потрапляє у воронку яйцепроводу. Негативно на кількість і якість вимитих ембріонів може впливати наявність на яєчниках фолікулів.

Контрольні запитання

1. Які катетери використовують для вимивання ембріонів у корів-донорів?
2. Як приготувати середовище для вимивання ембріонів?
3. Як підготовлюють катетер до вимивання ембріонів?
4. З яких етапів складається підготовка корови-донора до вимивання?
5. Способи вимивання ембріонів у корів донорів?
6. Техніка постановки катетера в розі матки?
7. Техніка вимивання ембріонів з рогу матки?
8. Яких основних правил слід дотримуватися під час вимивання ембріонів?
9. Як розраховується ефективність вимивання ембріонів у корів-донорі

Список літератури

1. Квасницкий А.В., Мартыненко Н.А., Близнюченко А.Г. Трансплантация эмбрионов и генетическая инженерия в животноводстве. — К: Урожай, 1988. -264с.
2. Бугров О.Д., Тихона Г.С. Санація ембріонів великої рогатої худоби / Методичні рекомендації. – Харків, 2004.- 9 с.
3. Хватов Б.П. Строение и физиологические изменения половой системы самок домашних животных.- Симферополь: Крымиздат, 1955.- 175 с.
4. Довідник з репродуктивної біотехнології великої рогатої худоби / Буркат В.П., Влізло В.В., Кравців.Р.Й. та ін..- Львів: ПП “Нові перспективи”.- 2004.-149 с.
5. Мадісон Л.В., Шеремета В.І., Мадісон В.В. Рекомендації щодо впливу несприятливих факторів при трансплантації ембріонів / методичні рекомендації.- К.: НАУ, 2004.- 21 с.

ЗМІСТ

Вступ	3
1.Вимивання ембріонів у донорів великої рогатої худоби	5
1.1 Підготовка обладнання та приготування середовища	5
1.2 Підготовка корови-донора до вимивання	7
1.3 Техніка установки катетера в статевих шляхах донора	7
1.4 Способи вимивання ембріонів із рогів матки донора	12
1.5 Техніка вимивання ембріонів із рогів матки	13
2 Оцінка результатів вимивання ембріонів у донора	16
Контрольні питання	17
Список літератури	18