Inseminatie van schapen -intravaginale techniek

Door dierenarts en schapenhouder
Are Krohg
Norway

Even voorstellen:

- Vrouw en drie kinderen
- Dierenarts sinds 1999
- Eigen praktijk samen met mijn vrouw
- Zwaartepunt in onze praktijk ligt bij inseminatie van runderen
- 105 fokooien
- ~20% geïnsemineerd
- 3 schapen honden
- Gemiddelde karkas classificatie in het EUROP systeem 19,6kg R+ 2+

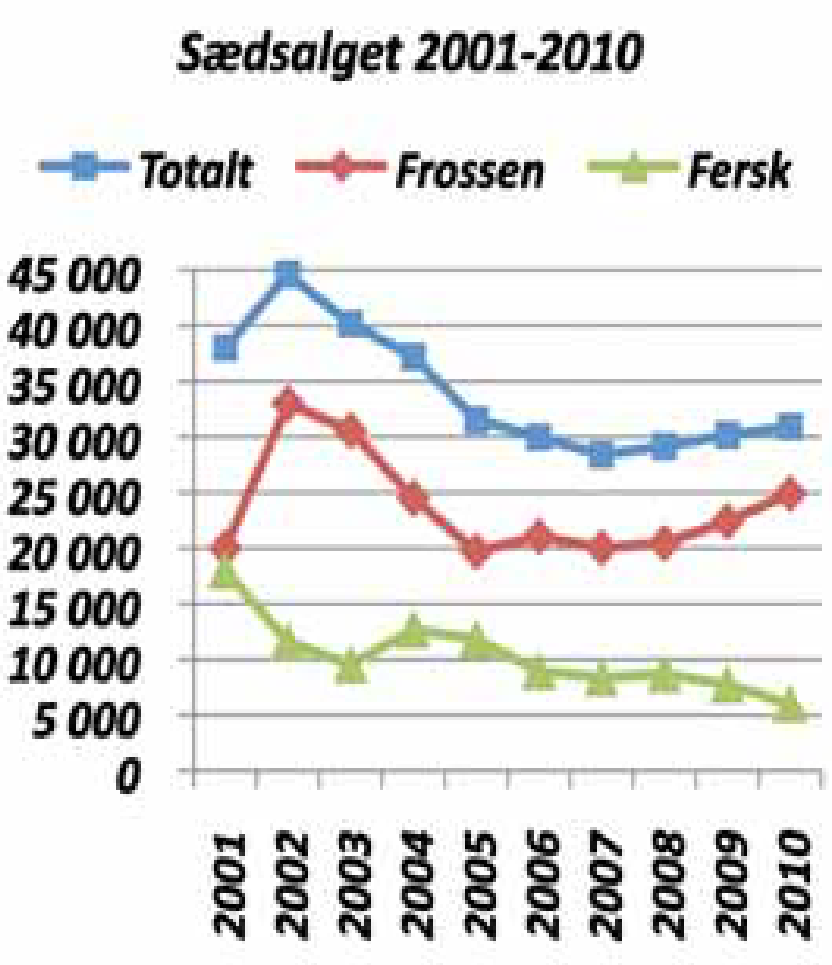


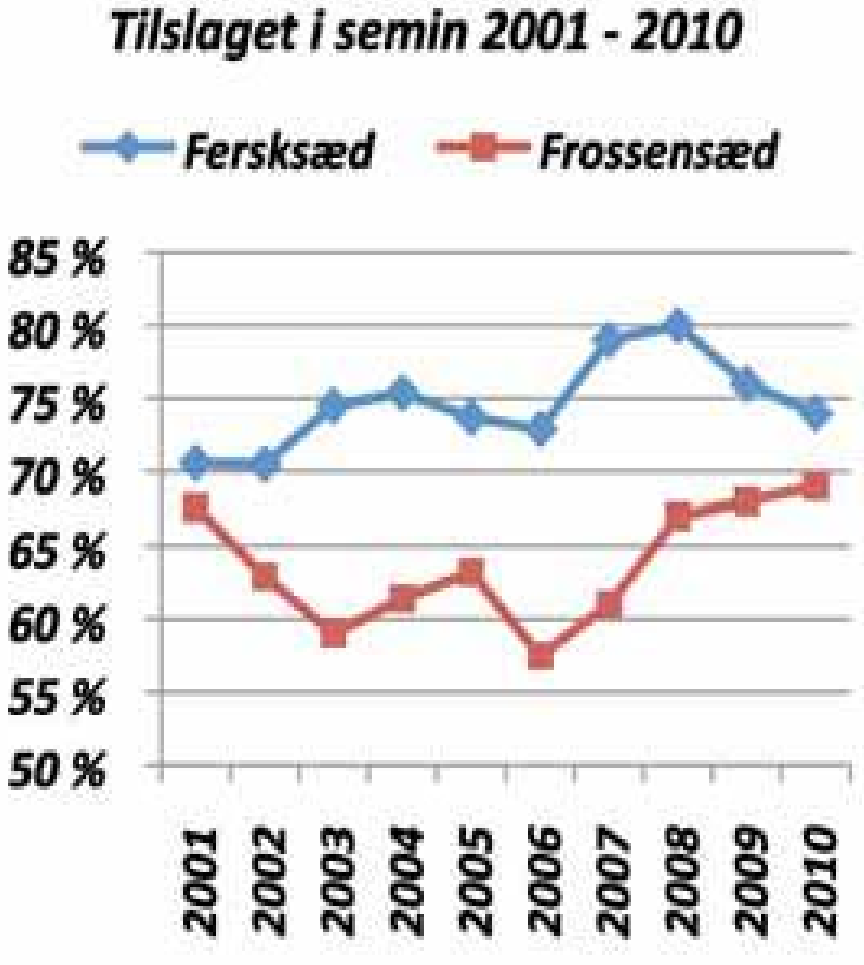
Schapenhouderij in Noorwegen

- Schapenvlees productie ~23 000 ton/jaar
- 15 000 bedrijven
- Gemiddelde bedrijfsgrootte is 70 fokooien
- Aflammen in april en mei
- Op stal in de winter
- Begrazing van uitgestrekte gebieden (bergen en natuurgebieden)
- Rassen: Noorse Witte Schaap (kruising) en de Spæl. Schapen melken is niet aan de orde
- Kunstmatige inseminatie: 30.000 ooien per jaar

NSG
Norsk sau og geit

KI in Noorwegen





NSG
Norsk Sau og Geit

De cursus (1)

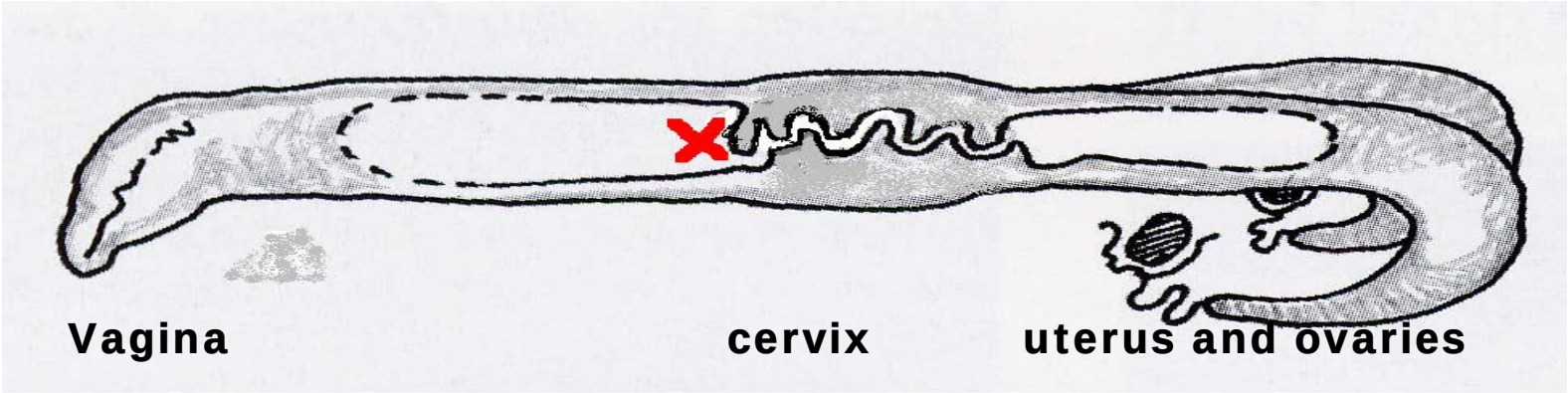
- Fysiologie van de voortplanting bij de ooi
  - Anatomie
  - Puberteit
  - Bronst
  - De bronstcyclus
    - Normale en korte cyclus
    - Het effect van de ram
    - Lengte van de bronst en de eisprong
    - Bronst signalen
  - Bronstwaarneming
  - Transport van sperma in de ooi en capacitatie sperma
  - Levensduur van eicellen en spermacellen

NSG
Norsk sau og geit

De cursus (2)

- Het (juiste) moment van inseminatie
- De sperma container
- Handelingen met diepvriessperma
- Intravaginaal deponeren van het sperma
- Praktijk van het insemineren
  - Stap voor stap
- Training
  - Het ontdooien van diepgevroren rammensperma
  - Vullen van de inseminatie pipet
  - Deponeren / insemineren

Anatomie



De vagina is 10-15 cm lang in volwassen ooien, iets korter in jonge ooien.

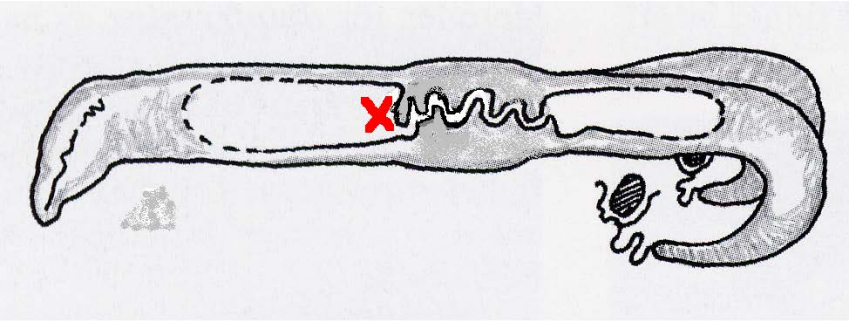
Door de vorm van de baarmoederhals (cervix) is niet chirurgische inseminatie in de baarmoeder bij schapen niet mogelijk.

Inseminatie in de cervix en in de vagina werden eerst beide toegepast in Noorwegen; nu alleen nog maar vaginaal.

NSG
Norsk sau og geit

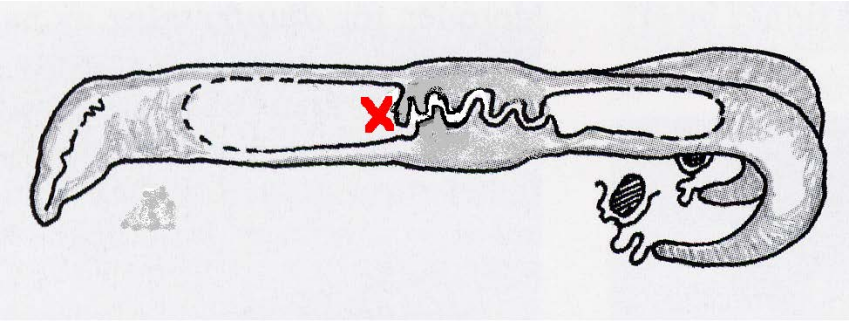
Anatomie

- **Functie van de baarmoeder**:
  - transport van sperma naar de eileiders
  - Het creëren van een goede omgeving voor het embryo
  - Lammeren ter wereld brengen



Anatomie

- Op de eierstokken groeien de eicellen en bereiden zich voor op de eisprong
- The hormonen oestrogeen en progesteron worden in de eierstokken geproduceerd



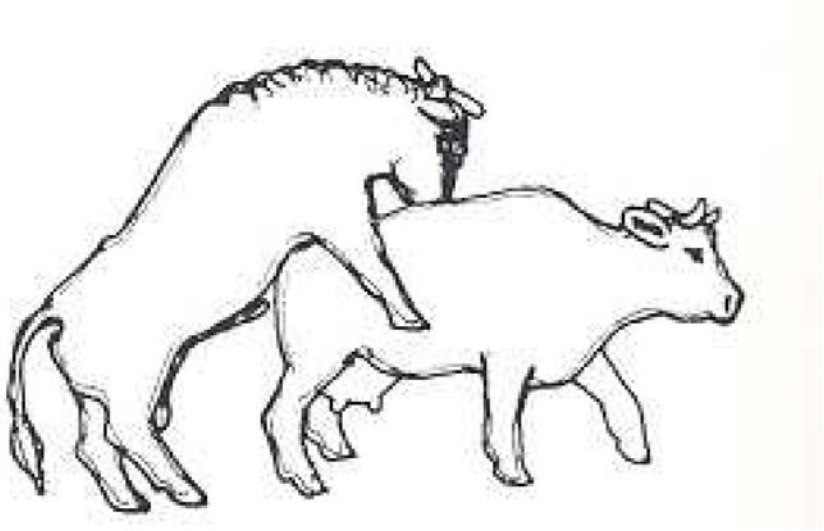
Puberteit

- In Noorwegen bereiken lammeren op 5-6 maanden de puberteit, sommige iets eerder.
- Erfelijke aanleg, geboortedatum, daglengte en mate van contact met rammen kunnen puberteit opwekken of juist vertragen.
- Ram- en ooilammeren moeten goed gescheiden worden voor het intreden van de puberteit.

NSG
Norsk sau og geit

Bronst

- Bronst of oestrus is de periode waarin de ooi bereid is te paren.
- Of de ram toestaat haar te bespringen.



Bronst cyclus

- Beide rassen gebonden aan het seizoen
- Vaak meerdere bronstcycli in het fokseizoen
- Begin van het fokseizoen
  - genetica
  - daglengte (melatonine)
  - temperatuur
  - ram contact

  Stimuleren de hersenen hormonen af te geven (GnRH)

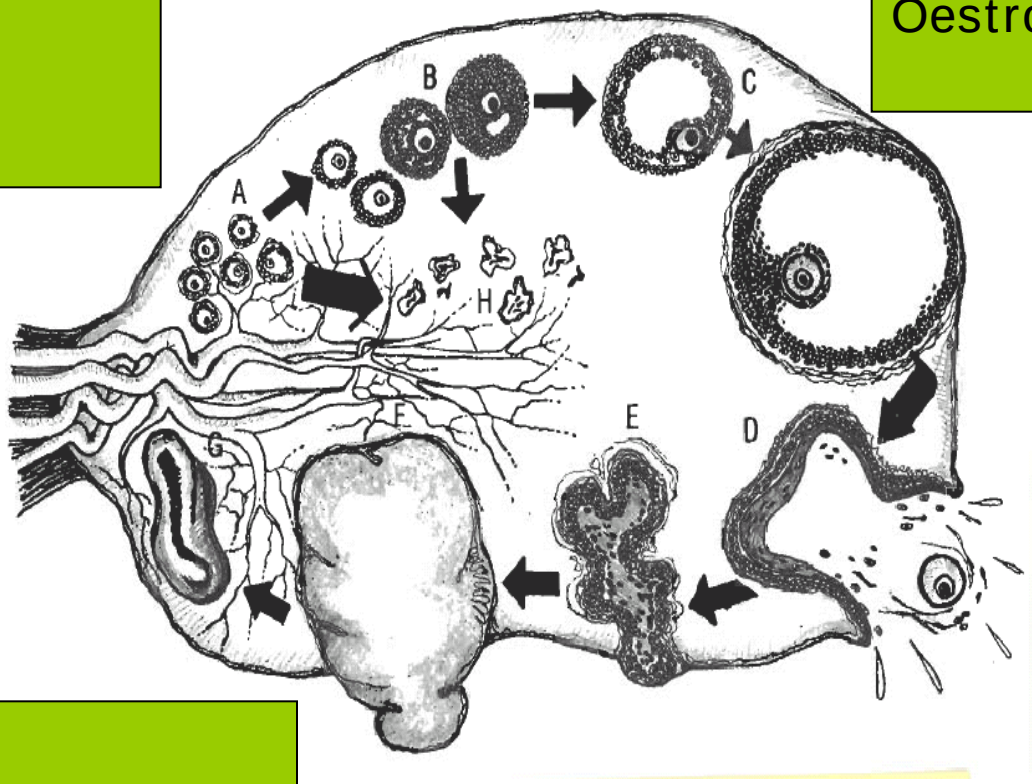
Normale en korte cyclus

- 3-5 opeenvolgende bronst cycli met eisprong in het fokseizoen; grote rasverschillen
- **Bronst cyclus** is de periode tussen twee opeenvolgende bronsten.
- De lengte van de **bronst cyclus** is 16-17 dagen (varieert van 14-19).
- Vroeg en laat in het fokseizoen zijn de bronsten korter van duur en minder zichtbaar.

De eierstokken

FSH

Oestrogeen



LH

Progesteron

Normale cyclus

- De eerste eisprong in het fokseizoen gaat niet gepaard met bronstverschijnselen = stille bronst

- Het corpus luteum begint **progesteron** te produceren (drachtigheids hormoon)

- Afhankelijk van de kwaliteit van het corpus luteum zijn er twee mogelijkheden:
  - Een goede kwaliteit geeft een lange luteale fase (ongeveer 13 dagen). De ooi wordt bronstig en ovuleert 16 dagen na de eerste ovulatie.
  = normale cyclus.

NSG
Norsk sau og geit

Normale cyclus

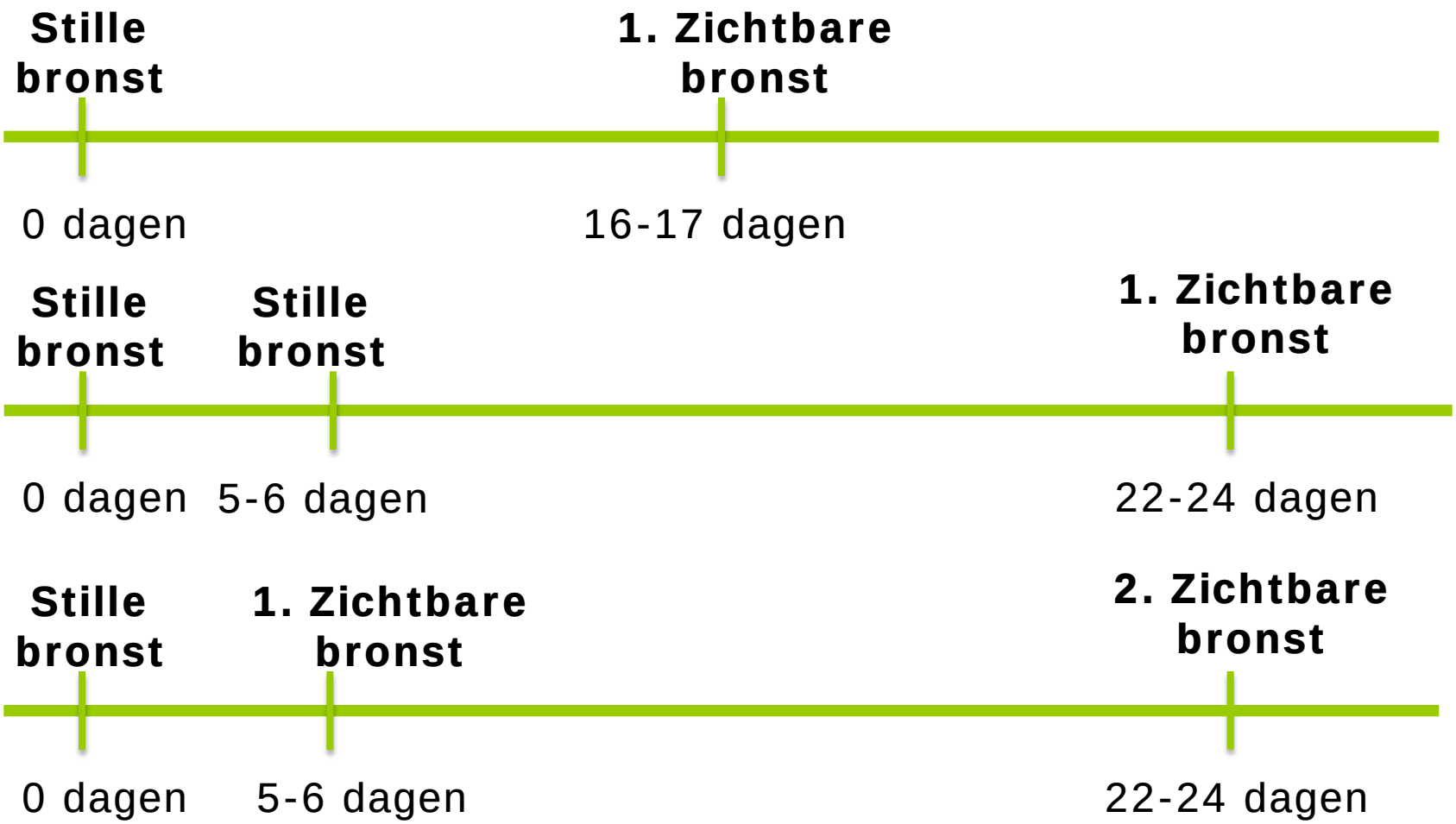


Korte cyclus

- Instabiel corpus luteum geeft geen echte luteale fase. De ooi gaat direct in de folliculare fase en ovuleert alleen 5-6 dagen na de eerste ovulatie.
  - korte cyclus
- Hierbij kan dan een echte of een stille bronst optreden.
- De meeste ooien beginnen daarna aan een normale cyclus worden na 16-17 dagen bronstig.

Normale en korte cyclus

50 % van de ooien start het seizoen met een korte cyclus



NSG
Norsk sau og geit

Korte cyclus

- !!! Het drachtigheidspercentage met KI is significant lager wanneer de ooi geïnsemineerd wordt na een korte cyclus.
- Soms vertonen ooien helemaal geen bronst meer en kunnen niet meer gedekt of geïnsemineerd worden na een korte cyclus.
- Hoe kunnen we er zeker van zijn dat we een ooi niet insemineren in een bronst direct na een korte cyclus?

NSG
Norsk sau og geit

Het ram effect

- Zorg ervoor dat de ooien de ram niet zien of niet ruiken gedurende tenminste drie weken
- Gebruik een volwassen ram, introduceer hem bij de ooien en laat ze voor 24-48 uur goed met elkaar in contact komen.
- Gebruik voorschoot voor de ram en haal de bronstige ooien weg.
- Geurstoffen van de ram veroorzaken een onmiddellijke snelle stijging van LH in de ooien die voor hun natuurlijke bronstseizoen staan.
- De meeste ooien krijgen binnen 3-4 dagen de eerste ovulatie, met stille bronst.

NSG
Norsk sau og geit

Het ram effect 2

- Bij 50 % van de ooien blijft het corpus luteum intact voor de normale tijdsduur, en volgt een normale bronst op 19-21 dagen na introductie ram
- Bij de andere ooien verdwijnt het corpus luteum na 6-8 dagen, gevolgd door een eisprong met of zonder bronstverschijnselen. Hierna volgt een normale cyclus met bronst en eisprong op 23-25 dagen na de introductie van de ram
- Gebruik van het ram effect 17 dagen voor de start van de inseminatieperiode vermindert het risico van inseminatie bij een eisprong na een korte cyclus.

NSG
Norsk sau og geit

Duur van de bronst en de eisprong (1)

- De bronst duurt meestal 1–3 dagen.
- De bronst is meestal korter aan het begin en het eind van het bronstseizoen.
- Bronsten zijn meestal korter als de ram continu bij de ooien loopt ipv met tussenpozen.
- Er bestaan rasverschillen in duur van de bronst. Wolschapen hebben een langere bronst dan de vleesschapen.

Duur van de bronst en de eisprong (2)

- Noorse studie 70-jaren gaf aan dat de eisprong 24 -36 uur na de aanvang van de bronst optreedt.
  - Misschien niet helemaal waar, waarschijnlijk dichter bij het eind dan bij het begin.
  - Waar voor ooien die twee dagen in bronst zijn.
  - De eisprong vindt plaats in het tweede deel van de bronst. Twee eisprongen liggen gemiddeld twee uur uit elkaar met uitschieters tot 7 uur.

Bronstsignalen (1)

- Oestrogeen wordt geproduceerd door de follikels op de eierstokken en heeft fysiek en mentaal invloed op de ooi.
- De bronstsignale variëren gedurende de bronst.
- Er bestaan grote individuele verschillen.
- Om bronst en optimaal KI tijdstip te kunnen bepalen is het van groot belang alle signalen te kennen.

Bronstsignalen (2)

- Vergeleken met andere herkauwers is de bronst van de ooi minder duidelijk, zeker in afwezigheid van een ram
  - Rode en gezwollen vulva
  - Verhoogde activiteit slijmvliezen, afscheiding van slijm
  - Minder eetlust
  - Onrustig en meer aandacht voor de omgeving
- In aanwezigheid van een ram
  - Op zoek naar de ram
  - Zwaaien met de staart
  - Besnuffelen van het scrotum
  - **Staat wanneer ze besprongen wordt**

NSG
Norsk sau og geit

Bronst waarneming (1)

- Bronstwaarnemingen moeten minstens tweemaal per dag uitgevoerd worden met een ram met voorschoot of een gevasectomeerde ram.
- Vermijd stress tijdens bronstwaarneming.
- Kleurblokken kan leiden tot foute conclusie, tenzij aangevuld met directe bronstwaarneming.



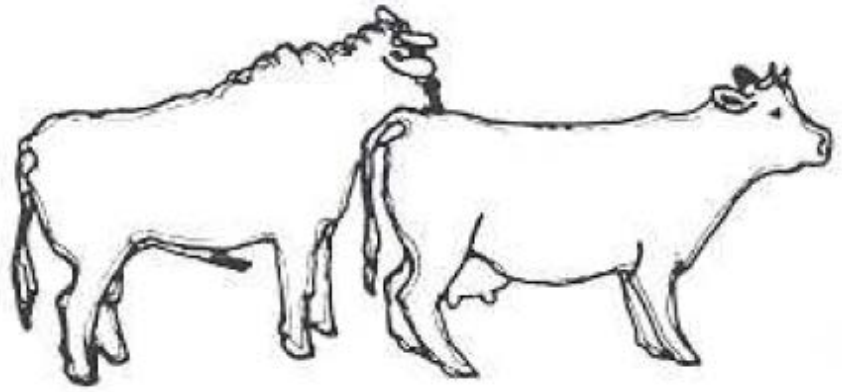
NSG
Norsk sau og geit

Bronst waarneming (2)

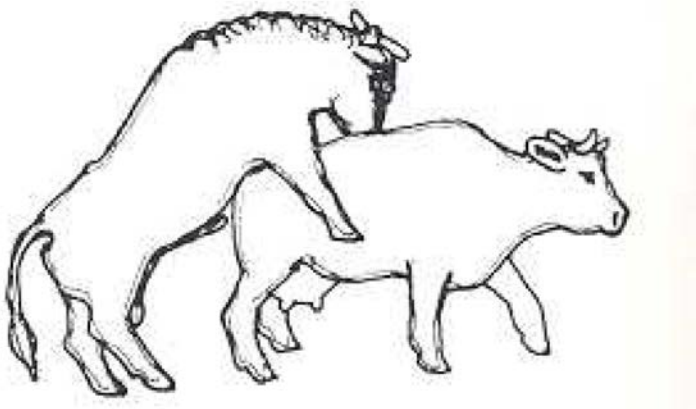
- Bronstwaarneming dient met een ram gedaan te worden
- De stareflex na bespringen door de ram is het zekere teken van bronst.
- Normaal zoekt de ooi de ram op en zwaait met de staart alvoren zij het bespringen toelaat (voorfase). Als je de ram niet laat springen, is vaststelling van het begin van de bronst minder betrouwbaar.
- Het optimale tijdstip van inseminatie wordt voorspeld op basis van het vastgestelde begin van de echte bronst (staande bronst)

NSG
Norsk sau og geit

Bronstwaarneming (3)



Voorfase of echte bronst?



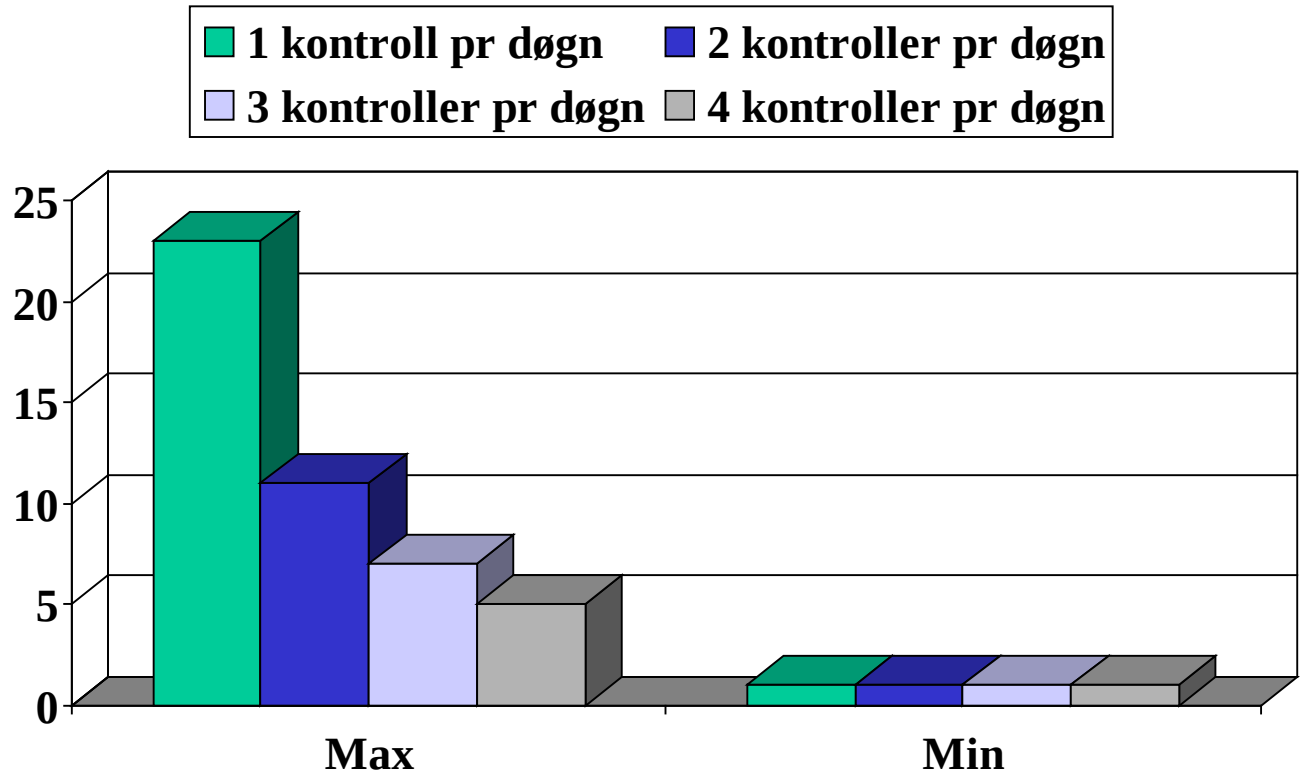
Bronst!

Bronstwaarneming, hoe vaak?

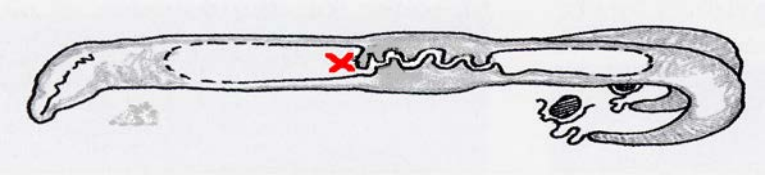
Tenminste tweemaal per dag

- Voorbeeld:
  - Wim checkt zijn ooien éénmaal per dag, Jan viermaal per dag.
  - Wanneer Wim bronst vaststelt kan de ooi al 23 uur bronstig zijn.
  - Wanneer Jan bronst vaststelt kan de ooi maximaal 5 uur in bronst zijn.

Hoe lang is de ooi al bronstig wanneer je het voor het eerst ziet?



Sperma transport en capacitatie van spermacellen



- Voor de bevruchting moet de capacitatie van de spermacellen plaatsvinden.
- Het sperma moet door de baarmoederhals en de baarmoeder om de eileiders te bereiken waar de bevruchting plaatsvindt.
- Tijdens dit transport vindt de capacitatie plaats. Na twee uur bereiken de spermacellen de eileiders
- Het transport vindt hoofdzakelijk passief plaats door contracties van de baarmoeder.

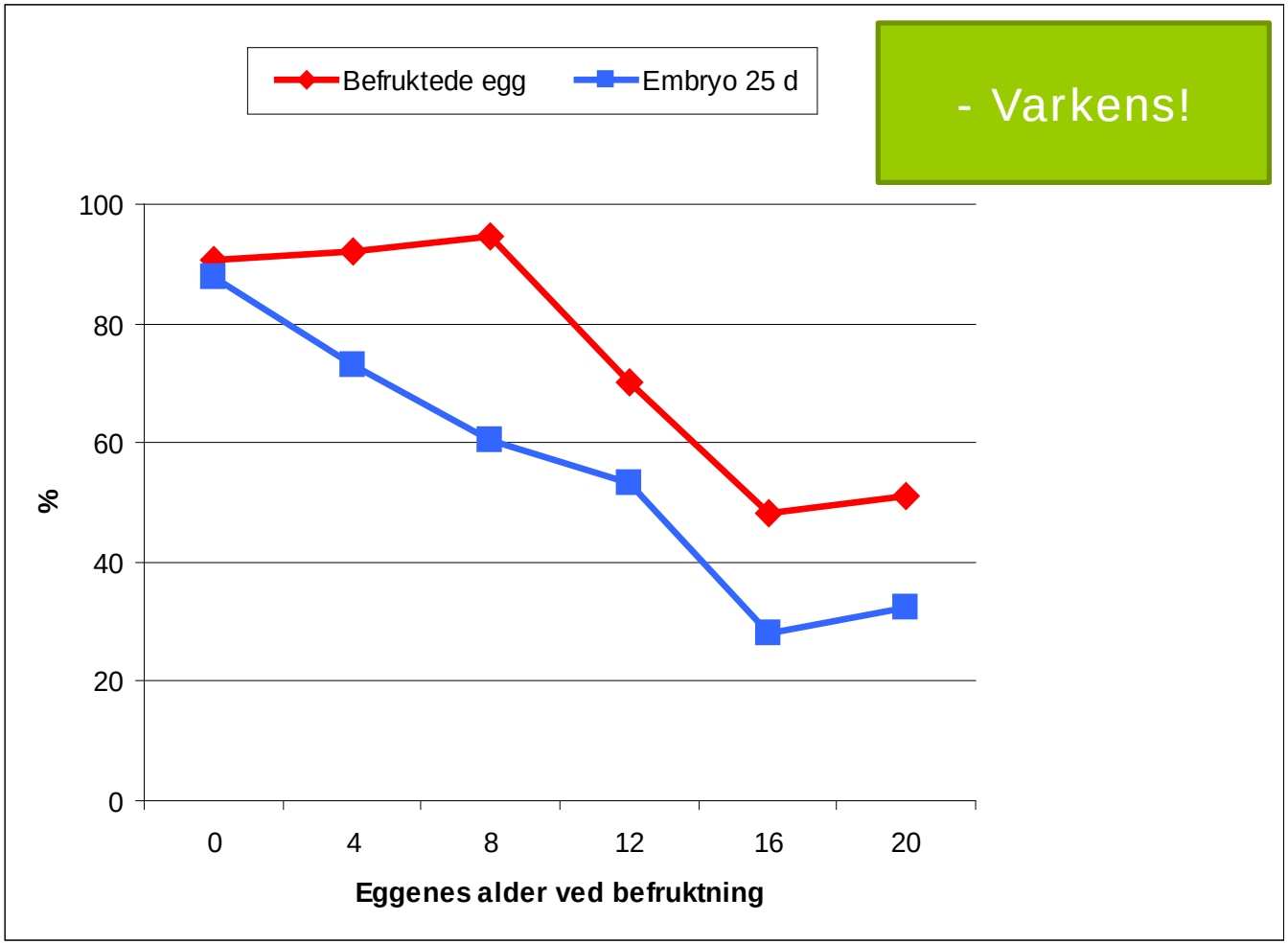
- De beweeglijkheid van het sperma is slechts van belang bij de bevruchting en ten dele in de baarmoederhals.
- De contracties van de baarmoeder worden beïnvloed door het hormoon **oxytocine.**
- Het effect van oxytocine stijgt wanneer de ooi oestrogeen produceert.
- Het effect van oxytocine **neemt af bij stress** (cortison)
- Bronstsynchronisatie met hormonen kan het transport van zaadcellen belemmeren.

NSG
Norsk sau og geit

De eicel

- De eicel kan vele uren na de eisprong nog bevrucht worden, maar de embryonale sterfte neemt toe bij een groter interval tussen eisprong en bevruchting.

De leeftijd van de eicel: Bevruchting en vroeg embryonale sterfte



Sperma van de ram

- Goede kwaliteit nodig voor bevruchting
- Seizoens verschil in kwaliteit, winning voor KI doeleinden alleen mogelijk in het fokseizoen
- Volume 0,7-2ml
- Concentratie >3 000 000 000 (3 Miljard) per ml
- Overleving vers sperma 36-48 uur
- Diepvries sperma in rietjes voor inseminatie in de vagina:
  - 0,2-0,5ml
  - 240 000 000 (240 miljoen) sperma cellen
  - Overleving 12-20 uur

NSG
Norsk sau og geit

Overleving van het sperma

- Ontdooid diepvriessperma heeft een kortere levensduur (12-20 u) dan vers sperma (36-48u).

- De grote veranderingen in temperatuur gedurende het invriezen en het ontdooien is de oorzaak van de kortere levensduur.

Overleving van eicellen en zaadcellen

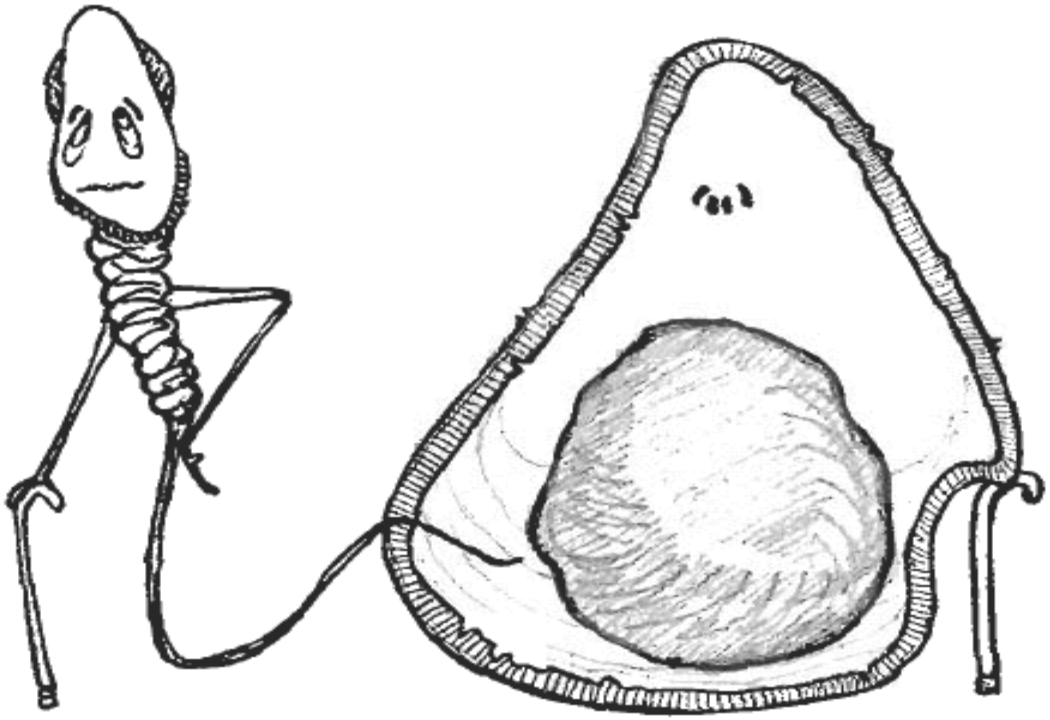


Bild 9:25. Äggceller och spermier som blivit för gamla, dvs lång tid förflutit sedan ovulation respektive ejekulation, har ej normal befruktningsförmåga.

Juiste timing van de inseminatie (1)

- De timing is gebaseerd op de voortplantings-fysiologie van de ooi en van het sperma.

  Het doel is:
  - Vruchtbare zaadcellen
  - In de juiste hoeveelheid
  - In de eileiders
  - Op het moment van de eisprong

Juiste timing van de inseminatie (2)

De zaadcellen

- Transport en capacitatie = 2 uur
- Overleving van de zaadcellen = 12 – 20 uur

De eicellen

- Moment van ovulatie 24 - 30 - 36 uur na het begin van de bronst
  - Ram contact ?
  - Methode bronstdetectie?
  - Hoe vaak ?
- Overleven van de eicellen 2 -3 uur

Juiste timing van de inseminatie (3)

- Goede strategie is meestal:

  Insemineer **18 – 24 uur na het begin van de (echte) bronst**

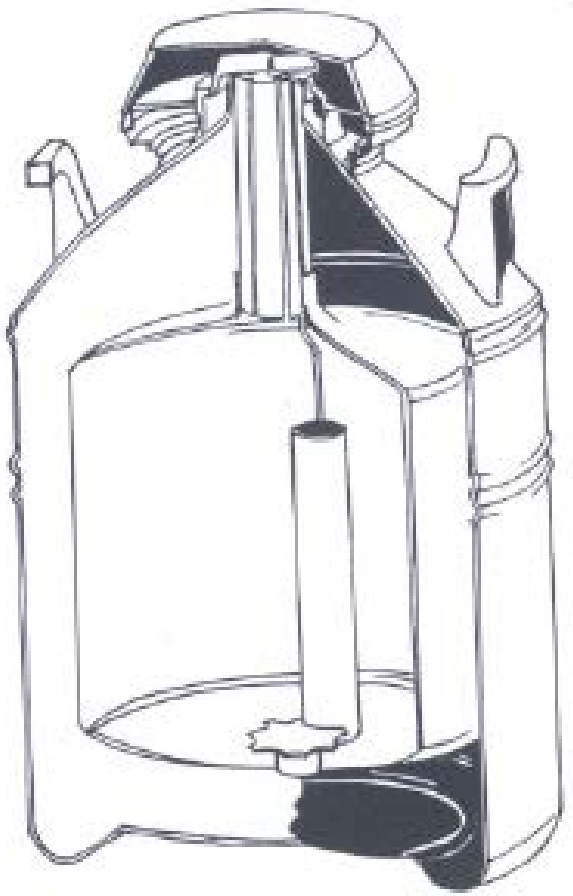
- Jonge ooien misschien iets eerder.

De apparatuur (www.minitube.de)

1. Container met vloeibare stikstof.
2. Inseminatie pistolet- QuickLock inseminatie pistolet voor kleine herkauwers. Geschikt voor verschillende rietjes (0,2ml, 0,5ml en minitubes).
3. Universele sheaths.
4. Een pincet om de rietjes uit de container te halen.
5. Ontdooi eenheid met elektrische temperatuur controle of een eenvoudige thermosfles.
6. Thermometer en stopwatch.
7. Schaar.

De sperma container (1)

- Veel verschillende afmetingen
- De container heeft
  - 6 stalen cylinders (canisters)
  - In elke canister zitten meerdere plastic bekers (goblets) boven elkaar
  - In elke goblet staan de rietjes met diepgevroren sperma



De sperma container (2)

- Bevat vloeibare stikstof (-196 C).
- Vloeibare stikstof kan verwondingen geven in direct contact met de huid.
- De damp van stikstof is zwaarder dan zuurstof.
- De dop van de container mag er niet strak opzitten. De damp moet kunnen ontsnappen om ontploffing te voorkomen.

- De stistof verdampt continu uit de container
- De verdamping neemt af als het stikstof niveau in de container lager wordt.
- Hoe lang er voldoende stikstof in de contaner is hangt af van de grootte en hoe vaak de container geopend wordt.

NSG
Norsk sau og geit

De sperma container (3)

- Wees er zeker van dat er altijd genoeg stikstof in de container is.
- Het stikstofniveau mag nooit lager zijn dan 5 cm
- Check regelmatig het stikstof niveau
  - Plaats een peilstok van hout of plastic op de bodem van de container. Houd die erin totdat de stikstof niet meer kookt (30sec).
  - Haal de peilstok omhoog en meet hoeveel cm stikstof er in de container is.

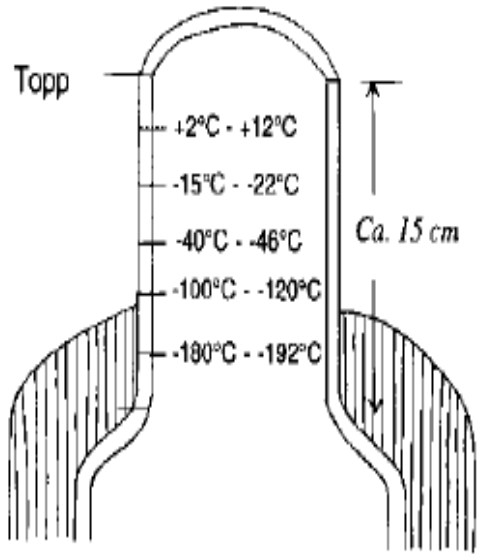
NSG
Norsk sau og geit

De behandeling van diepgevroren sperma

- De temperatuur is van groot belang wanneer je met diepvries sperma werkt!
- 3 Kritieke punten: Het is slecht als:
  1. De temperatuur van de rietjes komt boven de -100 °C en daalt dan weer naar -196 °C
  2. Het ontdooien gaat:
     - Te langzaam
     - Te snel
     - Duurt te lang
  3. Na het ontdooien daalt de temperatuur weer.

1.Vermijd temperaturen boven de – 100 C in het diepvriessperma

- Haal de cylinders nooit langer dan 5 seconden omhoog
- De top van het rietje mag nooit hoger komen dan 5 cm onder de rand van de container
- Als het niet lukt om binnen 5 seconden het rietje te vinden dat u zoekt, houd de cylinder dan opnieuw minstens 20 seconden onder de vloeibare stikstof



Typisk temperaturforskjell i halsåpningen på feltbeholder med flytende nitrogen.

Rietjes niet hoger houden dan 5 cm onder de top, en niet langer dan 5 sec.

- Het risico van schade aan de zaadcellen neemt toe wanneer het stikstofniveau daalt in de container
- Als we de rietjes niet op de juiste manier uit de container halen, worden de zaadcellen in de top van het rietje beschadigd. Het aantal vruchtbare zaadcellen daalt. Dat aantal is cruciaal bij de kunstmatige inseminatie van schapen.
- Houd de top van de rietjes niet hoger dan 5 cm onder de rand van de container, en nooit langer dan 5 seconden. Dat voorkomt schade aan het diepgevroren sperma.

NSG
Norsk sau og geit

2. Ontdooien van rammensperma

- Ontdooi methode is cruciaal!
- Ontdooien rietjes in een warm water bad. De tijdsduur en de temperatuur moeten nauwkeurig in acht genomen worden:
  - Medium rietje: 50°C (48-52 C) in 14 seconden
    Mini rietje: 35°C in 15 seconden
    Minitüb-rietje: 70°C in 8 seconden
- Te lang ontdooien in 50-70°C doodt de spermacellen.
- Een te lage temperatuur geeft een te langzame ontdooiing. Dit geeft vermindering of totaal verlies van bevruchtend vermogen.

NSG
Norsk sau og geit

Drie typen rietjes

Type rietje	Productie jaren in Nw	Volume	Lengte	Wand	Ont-dooi temp	Ont-dooi tijd
Medium-rietje	2006 →	0,5 ml	Lang	Dik	50º	14 sec.
Mini-rietje	2002-2005 Importsperma	0,2 ml	Lang	Dun	35º	15 sec.
Minitüb-rietje	→2001	0,2 ml	Kort	Dik	70º	8 sec.

Medium rietjes worden gebruikt in Noorwegen sinds 2006.

Rammen sperma uit de UK wordt in Noorwegen geleverd in mini rietjes met dezelfde hoeveelheid zaadcellen.

NSG
Norsk sau og geit

3. De temperatuur daalt na ontdooien

- De temperatuur van het sperma mag niet dalen na het ontdooien. Na het ontdooien is de sperma temperatuur 32 -33 °C.

- **Verwarm de inseminatie pistolet altijd voor het rietje te laden!** Controleer de temperatuur tegen de wang.

Hanteren van het rietje

- Gebruik een pincet om het rietje uit de container te halen en in de ontdooi eenheid te plaatsen.
- Verwijder de waterdruppels op het rietje met een schoon stuk papier.
- Plaats het rietje in de voorverwarmde inseminatiepistolet.
- Snij de top van het rietje eraf met een schaar.
- Plaats een schone universele sheath over de QuickLock inseminatie-pistolet.



Generelle hygieniske prinsipper kjennetegner fagmannen.
1. Tørk av strået med engangspapir.
2. Rengjør saks regelmessig med desinfiserende middel.
3. Hold inseminatoren ren. Kan om

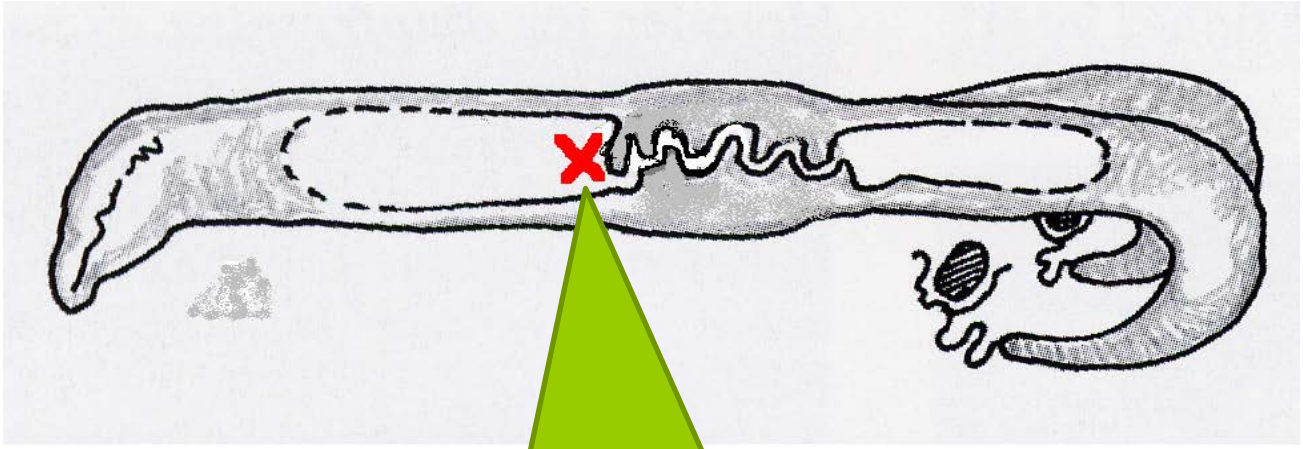
NSG
Norsk Sau og Geit

Na het ontdooien

- Het sperma moet zo snel mogelijk na het ontdooien gebruikt worden.
- Ontdooi niet meer dan één rietje tegelijk.

Deponeren van het sperma in de vagina

- Het sperma wordt gedeponeerd in het binnenste deel van de vagina.



Deponeren in de vagina

- De stareflex **moet** gestimuleerd worden!
- Het verdient aanbeveling om de ooi tijdens de inseminatie neuscontact te laten hebben met de ram.
  - Zet de ram strak vast met de kop omlaag in een kleine ruimte naast de ooi. Laat de ooi de ram opzoeken. Gebruik een voorschoot om ongelukken te voorkomen.
- Vermijd stress voor, tijdens en na de inseminatie.

NSG
Norsk sau og geit

Gebruik geen kracht bij de inseminatie!

Deponeren in de vagina (3)

- Als de ooi smerig is, droog haar dan af met een stuk papier; gebruik geen water en zeep.
- Spreid de schaamlippen met de vingers om contact te voorkomen van de inseminatiepistolet met huid of vuil.
- De inseminatie pistolet wordt over de eerste 3-4 cm in een hoek naar boven ingebracht. Hierdoor voorkom je dat de pistolet de urethra ingaat.
- Daarna wordt de pistolet zachtjes horizontaal verder geduwd totdat de pipet niet verder kan.
  - De vagina is tussen de 10-15 cm lang
  - De Quicklock pipet is 30 cm
- Wanneer de pipet niet verder wil en de baarmoedermond bereikt heeft, kan het sperma gedeponeerd worden.

NSG
Norsk sau og geit

Deponeren in de vagina (4)

- Wees er zeker van dat je de plunjer vooruit beweegt en niet de inseminatie pistolet naar achteren haalt.
- Duw de plunjer zachtjes vooruit.
- Haal de pistolet langzaam uit de vagina.

Waarom halen we succes met KI bij schapen in Noorwegen?

- Hoog aantal spermacellen per dosis (240 miljoen)
- Natuurlijke bronst in het fokseizoen
- Sperma van rammen wordt ook gewonnen in het fokseizoen
- Goede bronstdetectie tenminste tweemaal per dag
- Correcte ontdooiing en behandeling van het sperma.

NSG
Norsk sau og geit

Inseminatie – Stap voor stap (1)

1. Begin niet met ontdooien voordat alles klaar is.
2. **Voorkom stress**, vooral bij omgang met de ooi.
3. **Prepareer de ooi! Stareflex!**
   Laat een ram contact hebben met de ooi bij de inseminatie.
4. Plaats de spermacontainer en de apparatuur dichtbij de plek waar je gaat insemineren.
5. Vul de thermosfles met water en wees er zeker van dat de temperatuur correct is (+/- 2 C).
6. Weet waar je het goede rietje kunt vinden.

NSG
Norsk sau og geit

Inseminatie
Stap voor stap (2)

7. Verwarm de inseminatie pistolet voor!
8. Rietjes maximaal **5 cm** onder de top gedurende minder dan **5** seconden!!!
9. Gebruik een pincet om het rietje te pakken.
10. Plaats het rietje zo snel mogelijk in de thermosfles.
11. Ontdooi op de goede temperatuur en gedurende de juiste tijd.
12. Droog het rietje direct af met een stuk papier.
13. Plaats het rietje in de voorverwarmde inseminatie pipet op de juiste manier.
14. Gebruik een schaar om de top van het rietje te knippen.

NSG
Norsk sau og geit

Inseminatie
Stap voor stap (3)

15. Een universele sheath wordt geplaatst om de inseminatiepipet.
16. Wees er zeker van dat de sheath goed vastzit in het QuickLock systeem
17. Duw de plunjer naar voren totdat een druppel sperma zichtbaar is.
18. Voer dan direct de inseminatie uit.
19. Spreidt de schaamlippen.
20. Breng de inseminatiepipet de eerste 3-4 cm omhoog gericht en daarna horizontaal in.
21. Gebruik geen kracht; stop bij weerstand.

NSG
Norsk sau og geit

Inseminatie
Stap voor stap (4)

22. Houdt de pipet op zijn plaats en duw de plunjer zachtjes voorwaarts.
23. Haal de pistolet terug.
24. Laat de ooi een paar minuten bij de ram staan.