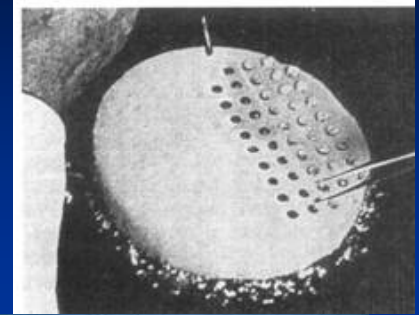


# METODE DSS-a

- PELETIRANJE



- PAJETE



- AMPULE



- PIPETE



# SMRZAVANJE U PAJETAMA

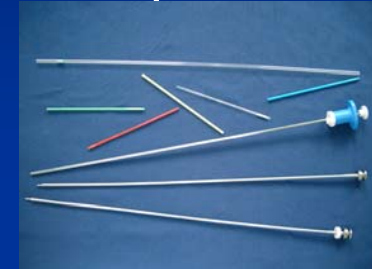
- sperma u cjevčicama, a kako su cjevčice bile nalik slami, nazvane pajetama (franc. *la paille* =slamka)
- sobzirom na dozu razrjeđenog sjemena razlikuju se:
  - minipajete od 0,25 mL,
  - midipajete od 0,45-0,50 mL i
  - makropajete od 1-1,2 mL



sve podjednake duljine, ali im je različita širina i zapremina

# SMRZAVANJE U PAJETAMA

- Danas se sve više prelazi na minipajete koje sadrže 0,25 mL sjemena, odnosno 10-20, ili 10-30 milijuna spermija



- Prednost u tome da je sjeme pohranjeno na taj način kvalitetnije, brže se smrzava - tanji sloj

- spremaju se u posude s tekućim  $N_2$   
250-600L tekućeg  $N_2$



# TRANSPORT SPERME

- transport DSS jednostavan
- DSS se mora držati u specijalnim posudama s tekućim dušikom, a u njima i se i transportira
- može na neograničene udaljenosti, treba PAZITI da u kontejneru ima dovoljno tekućeg  $N_2$ , (svaki 2. dan kontrola)
- Za transport DSS danas se koriste manji kontejneri s tekućim  $N_2$  i na mjestu UO uzima se potrebni br. doza



# UMJETNO OSJEMENJIVANJE

Ime je doslovni prijevod s njemačkog udomaćen u mnogim jezicima.

Umjetno **samo** stavljanje sjemena u ženske spolne organe.

# UMJETNO OSJEMENJIVANJE

UO je važan način rasplodivanja životinja, temelji se na 3 osnovne pretpostavke:

1. da spermiji mogu preživjeti izvan tijela
2. da se nakon toga mogu aplicirati u sp. organe ženke na način s prihvatljivim uspjehom koncepcije
3. da se može otkriti plodni period ženke

# UMJETNO OSJEMENJIVANJE

- brzo može mijenjati pasminski sastav
- izravni utječe na selekciju i stvaranje hibrida (meso, mlijeko itd.).
- npr. bik godišnje oplodi 80-120 krava, dok se ejakulatom osjemeni isti br. krava
- jednostavniji i jeftiniji transport
- brže progeno testiranje



# ZOOHIGIJENSKI ZNAČAJ

- onemogućuju različite spolne zarazne bolesti: genitalna kampilobakterijaza, trihomonijaza, bruceloza, TBC genitalija, itd.
- kontrola rasplodnjaka i plotkinja, bolesne životinje se izlučuju iz rasploda.



# MEDICINSKI ZNAČAJ

- ginekološki pregledi i na vrijeme se mogu dg.
  - eventualne sp. bolesti i
  - patološka stanja (prirođena ili stečena)
- DS samo sperma zdravih rasplodnjaka (progeni i ostali testovi).
- povećava se plodnost -liječi se sterilitet
- oplođuju se samo plotkinje u estrusu,
- izlučuju se neplodne životinje,
- kontrolira se puerperij itd.

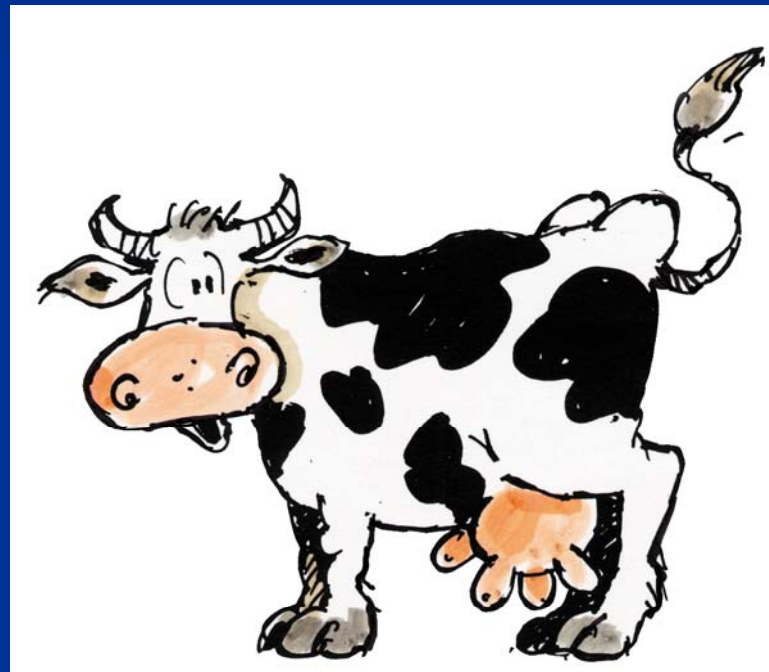


# EKONOMSKI ZNAČAJ

- povećava se ukupna stočarska proizvodnja.
- potrebno je manje rasplodnjaka
- manji su troškovi prehrane, držanja, liječenja, karantene, itd.



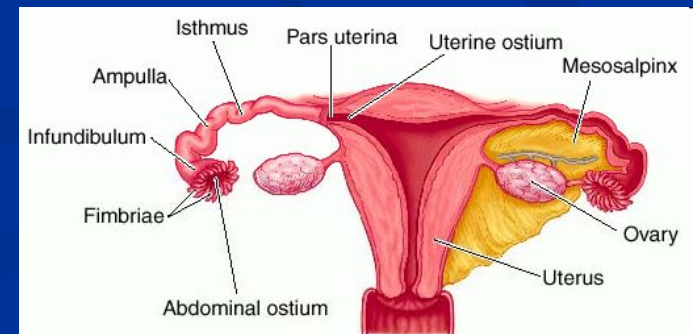
# UMJETNO OSJEMENJIVANJE GOVEDA



# UMJETNO OSJEMENJIVANJE

Poslije prirodnog pripusta, od ukupnog ejakulata

- 95% propada u rodnici zbog nepovoljnih uvjeta
- 5% dospijeva u cerviks
- svega oko 2% stigne u jajovode



# ORGANIZACIJA UO-a

Organizacija osjemenjivanja goveda (DSS)  
organizirana je na 3 načina:

1. stacionarno u stanici ili ambulanti 2x dnevno (ujutro i predvečer).
2. na punktovima samo jednom dnevno
3. na poziv vlasnika – u optimalno vrijeme



# POSTUPAK ODMRZAVANJA DSS

- Podizanje i vađenje sjemena iz kontejnera
- Otresanje ostataka vode sa pajete
- Prebacivanje u toplu vodu (39-40°C)
- Odmrzavanje kroz 30-60 sek



# PRIPREMA ZA UO

- Vađenje i brisanje pajete
- Stavljanje u pistolet
- Rezanje čepa
- Stavljanje navlake i učvršćivanje s pomoću prstena



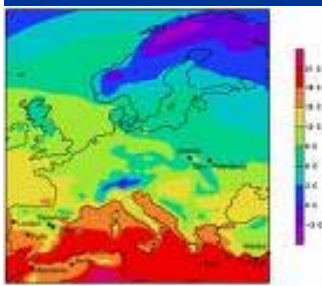


# UMJETNO OSJEMENJIVANJE

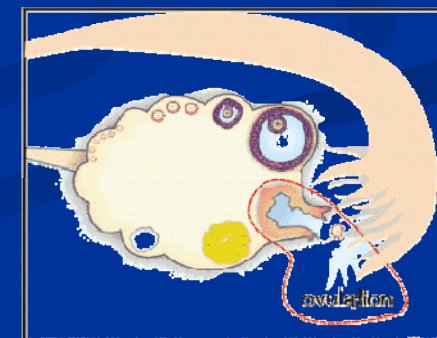
- Estrus traje 2-30h



- Na trajanje utječu: pasmina, godišnje doba, prisutstvo bika, prehrana, proizvodnja mlijeka, prisutstvo drugih krava



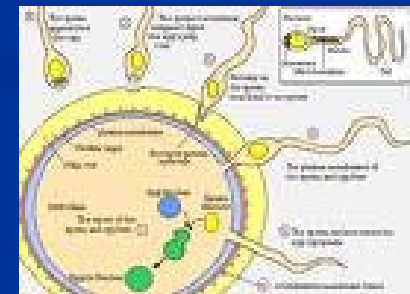
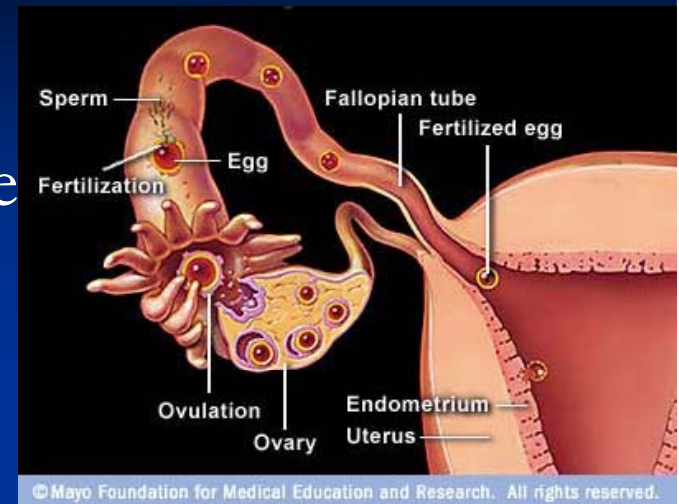
- Ovulacija 10-12h nakon estrusa





# UMJETNO OSJEMENJIVANJE

- Sljedećih 6h j.stanica prolazi 1/3 puta kroz jajovod i pritom dolazi do oplodnje (30h nakon estrusa)
- Spermiji po dolasku u spolne organe ženke nisu odmah sposobni za oplodnju
- Najbolje da spermiji budu u jajovodu u trenutku ovulacije
- Idealno vrijeme za UO je 6-24h prije ovulacije.



# UMJETNO OSJEMENJIVANJE

- 75% goveda počinje se tjerati noću i rano ujutro.

- Plotkinje čije se tjeranje otkrije

- ujutro UO poslije popodne

- poslije podne UO sutradan ujutro



- Ako se ne zna točan početak estrusa ili ako se UO samo 1x dnevno (npr. punktovi), plotkinje treba UO odmah nakon što se uoče znakovi estrusa!

# UMJETNO OSJEMENJIVANJE

PRIJE UO VAŽNO PREGLEDATI KRAVE VAGINALNO I REKTALNO !!!

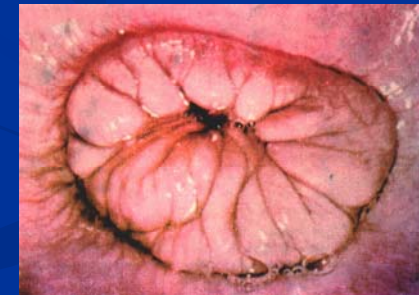


■ Odluka hoće li se plotkinja UO na osnovu nalaza na sp. organima:

- hiperemija, otvorenost cerviksa,

- kvaliteta estrusne sluzi,

- nalaz F<sub>3</sub> na jajniku



# UMJETNO OSJEMENJIVANJE

Ako se ustanovi da je folikul puknuo već prije pregleda, plotkinja se može UO, ali treba upozoriti vlasnika da će se, najvjerojatnije, **pregoniti**.



Ako folikul pukne tijekom same pretrage, izgled za uspjeh je PUNO manji

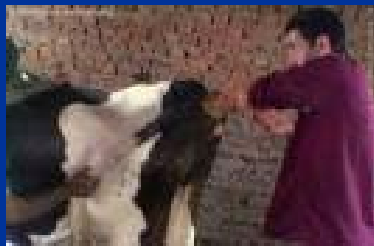


# UMJETNO OSJEMENJIVANJE

Ako se nađu neke patološke promjene na spolnim organima -

Prema **opsegu promjena** i **dijagnozi** odluka treba li plotkinju:

- **UO,**



- **UO i liječiti ili**



- **samo liječiti**



# MJESTO UO

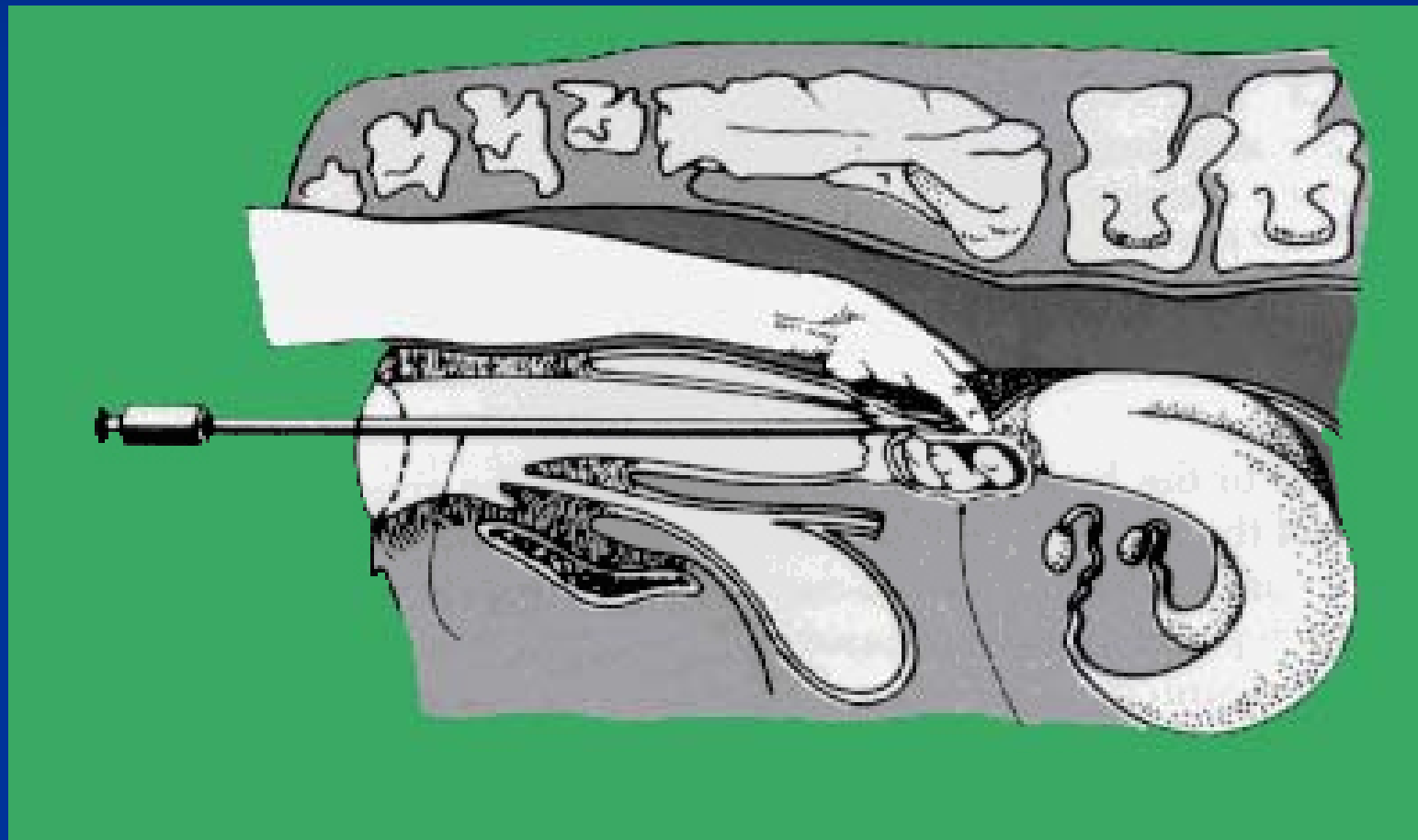
- 1. Duboko intracervikalno** - približno 1 cm ispred unutarnjeg (kranijalnog) otvora cerviksa
- 2. Plitko intracervikalno** - u prednju polovicu cervikalnog kanala (slabiji rezultati)
- 3. Intrauterino** osjemenjivanje - u tijelo ili sve do bifurkacije rogova maternice
- 4. Vaginalno**

# TEHNIKE UO

1. vizualno osjemenjivanje
2. izvlačenje cerviksa Albrechtsenovim kliještima
3. manocervikalna tehnika osjemenjivanja
4. dvoručna metoda s fiksacijom cerviksa

# BIMANUALNA METODA UO

Prikaz bimanualne metode osjemenjivanja  
goveda (intracervikalno polaganje DSS-a)





# DOZA ZA UO

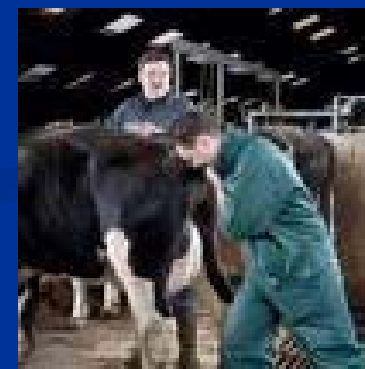
sjeme se polaže

- u cerviks (duboko intracervikalno) ili
- u tijelo maternice

**Doza za U.O. goveda  
mora sadržavati najmanje  
15 do 20 milijuna  
progresivno pokretljivih spermija**

# PROVJERA USPJEHA UO

- pregled krava na gravidnost (klinički pregled: rektalni, ultrazvučni).
- anketom pomoću koje se može ustanoviti koliko se osjemenjenih krava otelilo.
- Non-return metoda (NR)



# NON RETURN METODA

- najjednostavnija, ali manje pouzdana metoda od ostalih
- Provodi se u područjima s 100% -im obuhvatom UO-a

**NR =60** odnosno **NR =90**

**-10%**

**(prodane, liječene ili uginule)**

# INDEKS OSJEMENJIVANJA

To je ukupan broj doza sjemena podijeljen s brojem steonih krava.

**IP** do 1,4 - vrlo dobro,

do 2,0 - dobro,

više od 2,0 - loše!

# UMJETNO OSJEMENJIVANJE OVACA



# UMJETNO OSJEMENJIVANJE OVACA

- u razdoblju merinizacije UO ovaca je kod nas uzelo velikog maha,
- **danas - rijetko.** To je velika šteta jer omogućuje ekonomično ovčarstvo.
- sjemenom jednog ovna godišnje se može osjemeniti 2.000 do 3.000 ovaca

# POSEBNOSTI UO-a OVACA

- detekcija estrusa – samo uz prisutstvo ovnova
- razlozi zbog kojih se U.O. ovaca u svijetu manje primjenjuje:  
skuplje od pripusta -troškovi manipulacije sa sjemenom i postupka UO ovaca (prijevoz, boravak na pašnjacima, hvatanje ovaca, detekcija estrusa itd).



# ORGANIZACIJA UO OVACA

- Poslije odbića janjadi iz stada izlučiti bolesne i jalove ovce
- Poboljšati prehranu 30-60 d prije sezone mrkanja i u srpnju treba odvojiti ovnove iz stada
- Organizirati manje stanice za U.O. gdje ćemo uzimati, ocjenjivati i razrjeđivati sjeme ovnova, a ujedno pronalaziti ovce u estrusu i osjemenjivati ih.



# ORGANIZACIJA UO OVACA

- Da bi se tijekom sezone mrkanja UO moglo nesmetao odvijati, treba osigurati dovoljno trave za hranu
- Oko stanice za UO do sezone mrkanja zabraniti ispašu
- Potrebno osigurati 2 ovna-probača na svakih 100 ovaca (najbolji ovnovi s izraženim libidom u dobi od 2-4 god.)



# ORGANIZACIJA UO OVACA

Ovan probač

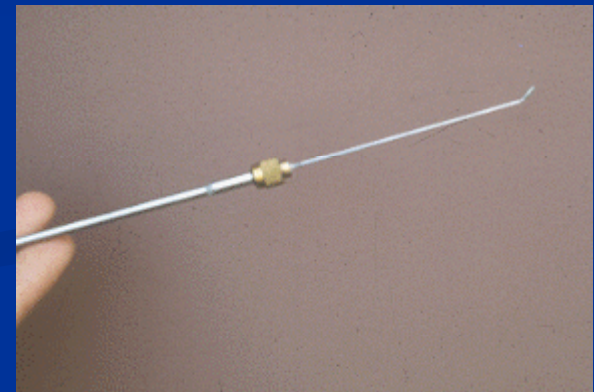


Pribor za U.O. ovaca



# ORGANIZACIJA UO OVACA

- prisutni znakovi estrusa,
- kroz otvoreni spekulum uvlači se pipeta za UO
  - vrhom se ulazi u vanjski cervikalni otvor 1-2 cm ili dublje (**bolji % koncepcije**)



## **Problem:**

- ulaz u portio vaginalis cervicis otežava divertikulum (pokriva ulaz u cerviks)
- teško duboko i/cerv. UO

# DOZE ZA UO OVACA

## Doza za ovce:

0,1 mL nerazrijeđene, ili  
0,2 razrijeđene svježije sperme.

## Dvizice:

vrlo uzak ulaz u vaginu, teško im stavljamo spekulum UO  
intravaginalno većom dozom

Doza: 0,2-0,3 nerazrijeđene ili  
0,4-0,6 razrijeđene sperme.

**DOZA ZA UO MORA SADRŽAVATI MIN. 50-150  
MILIJUNA SPERMIJA.**



# UO OVACA SVJEŽOM SPERMOM

Ovce u estrusu osjemenimo i označimo bojom.

Ukoliko se i dalje mrču ponavljamo UO za 24h

Najbolji rezultati UO postižu se kada je u vagini veća količina bistre sluzi.

**Očekivani uspjeh koncepcije**

**razrjeđenom sviježom spermom varira između 65 i 80%.**

# UO OVACA DSS-om

U.O. ovaca DSS-om

## ■ aplikacija kroz cerviks:

- loša koncepcije i
- Malo janjenja (25-40%).

U praksi:

## ■ Laparoskopiska intrauterino aplikacija

DSS u oba roga



# UO OVACA DSS-om

- ovce moraju biti bez hrane i vode najmanje 12h prije UO
- postotak koncepcije i janjenja znatno je bolji, čak 60 do 70%. Dakle, podjednako rezultatu ostvarenom uporabom svježje razrijeđene ili nerazrijeđene sperme.

# UMJETNO OSJEMENJIVANJE KOZA





# UMJETNO OSJEMENJIVANJE KOZA

- prirodno parenje: 1 jarac / 30-tak koza
- ejakulatom jarca UO nekoliko stotina koza
- Za UO koza danas se u svijetu uglavnom upotrebljava DSS jarčeva aplicirana **duboko intracervikalno.**



# ORGANIZACIJA UO KOZA

- vanjski znakovi estrusa su vidljivi
- estrus traje duže nego kod ovaca
- UO se obavlja na poziv vlasnika slično kao UO goveda

# UO KOZA

- Postupak DS-a jarčevog sjemena razlikuje od postupka smrzavanja sjemena ovna
- Enzim fosfolipaza (bulbouretralne žlijezde)
  - koagulira žumanjčani razrjeđivač i
  - hidroliza lecitina do masnih kiselina i lizolecitina (štete spermi)

# UO KOZA

- Prije razrjeđivanja sjemena s razrjeđivačem koji sadrži žumanjak iz ejakulata se mora ukloniti!

ili

Razrjeđivači za jarčevo sjeme se zasnivaju se na **obranom mlijeku** u kojem spermiji mogu preživjeti bez problema.



# DOZE ZA UO KOZA

DSS smrzava se u:

- minipajetama 0,25 mL ili
- midipajetama 0,50 mL.

**DSS (1 doza) nakon postupka smrzavanja-  
odmrzavanja**

**mora sadržavati**

**najmanje 50 milijuna progresivno pokretljivih  
spermija.**

# ZNAKOVI ESTRUSA

Koze imaju izraženije znakove estrusa:

- nemir, meketanje, vrte repom,
- skaču na druge koze, gubitak apetita
- smanjena proizvodnja mlijeka
- često mokrenje i defeciranje

# ZNAKOVI ESTRUSA

- stidnica hiperemična, edematozna i vlažna
- iz rodnice se cijedi manja kol. bistre, viskozne sluzi, prema kraju estrusa postaje sve gušća i mutnija
- Estrus traje 30-40h, ovulacija 12-36h od početka
- Koze UO 18-24h nakon što smo uočili vanjske znakova estrusa





# UO KOZA

Za U.O. koza tekućom spermom koristimo:

- staklenu (plastičnu) pipetu
- plastičnu brizgalicu od 1 mL (međusobno spojene kratkom gumenom cijevi)





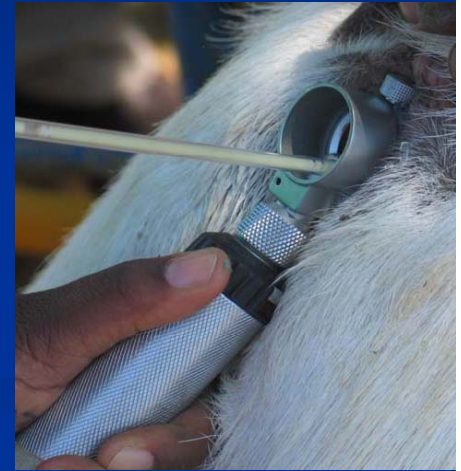
# UO KOZA

- Poslije svakog UO pipetu treba prebrisati vatom natopljenom u 75%-tnom etilnom alkoholu
- preporučuje se i zamjena pipete steriliziranom poslije svakih 5 UO



# UO KOZA

- izvor svjetla na glavi osjemenjivača ili spekulumu.
- osjemenjivač kroz otvoreni spekulum uvlači pipetu kroz vanjski cervikalni otvor najmanje 1-2 cm u cervikalni kanal ili kranijalnije (bolja koncepcija)



## DOZA:

- Aplicira se 0,1 mL nerazrijeđene ili
- 0,2 mL razrijeđene sperme.

# UO KOZA

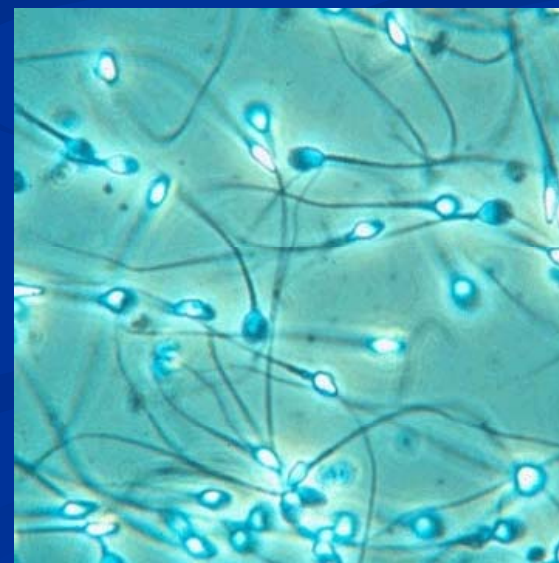
- Najbolji rezultati UO postižu se kada u rodnici ima veća količina bistre sluzi.
- Za U.O. DSS-om jarčeva upotrebljavamo pistolet kraći od onog za U.O. krava

## Koncepcija nakon osjemenjivanja koza:

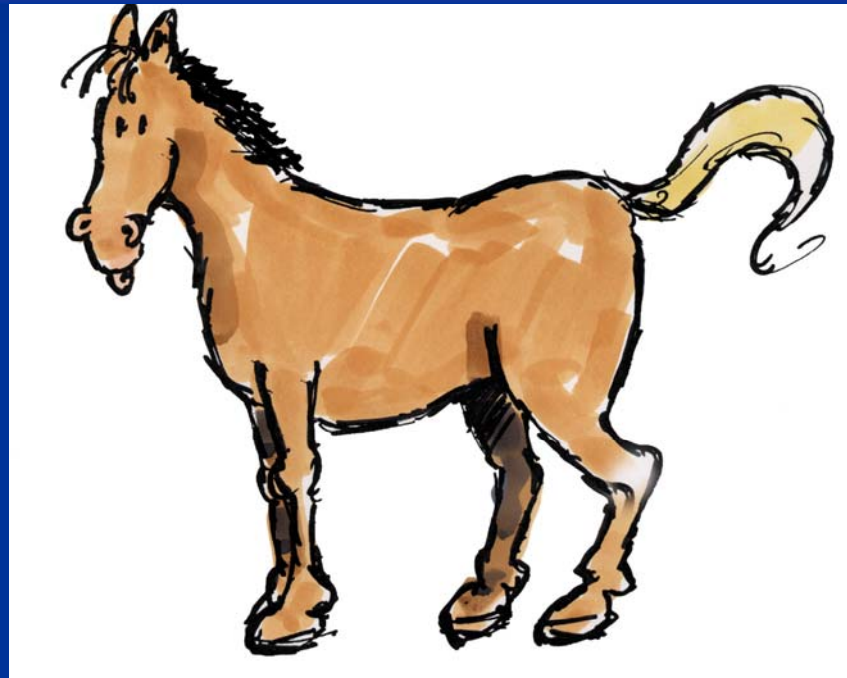
- svježom, razrijeđenom spermom oko 75%
- DS sjemenom oko 65%

# UO KOZA

- DSS smrznuto u mini ili midipajetama aplicira se duboko intracervikalno.
- Uspjeh UO ovisi o nizu različitih činitelja, kvaliteta sperme.
- Smatra se da najkvaliteniju spermu imaju jarčevi u dobi između 2 do 3 godine.



# UMJETNO OSJEMENJIVANJE KONJA



# UO KOBILA

- U svijetu se provodi godinama.
- Neke konjogojske udruge dozvoljavaju U.O. samo sa svježom razrijeđenom spermom na mjestu polučivanja
- druge dozvoljavaju i uporabu svježeg transportiranog sjemena i DSS
- elitne udruge, engl. punokrvnjaka **ne dozvoljavaju** U.O. osim iznimno, u slučajevima kada je to medicinski indicirano





# ORGANIZACIJA UO KOBILA

- tehnički zahtjevnija zbog kompliciranijeg postupka polučivanja ejakulata
- sjeme nekih pastuha ne podnosi smrzavanje (individualna predispozicija)
- kobile bez pastuha ne pokazuju uočljive znakove estrusa, estrus traje dugo
- svakodnevni rektalni pregled jajnika



# POSTUPAK S EJAKULATOM

- Ejakulacija frakcionirana
- Procijeđivanje ejakulata (samo 1. frakcija)
- Nerazrijeđeno odmah potrošiti
- Razrijeđeno na 4°C do 48h (72h)
- Može i DSS





# UO KOBILA

- Većina se autora slaže da je uporabom DSS uspjeh koncepcije niži.
- Doza razrijeđenog sjemena za UO iznosi 10 do 20 mL s 200 do 400 milijuna spermija.



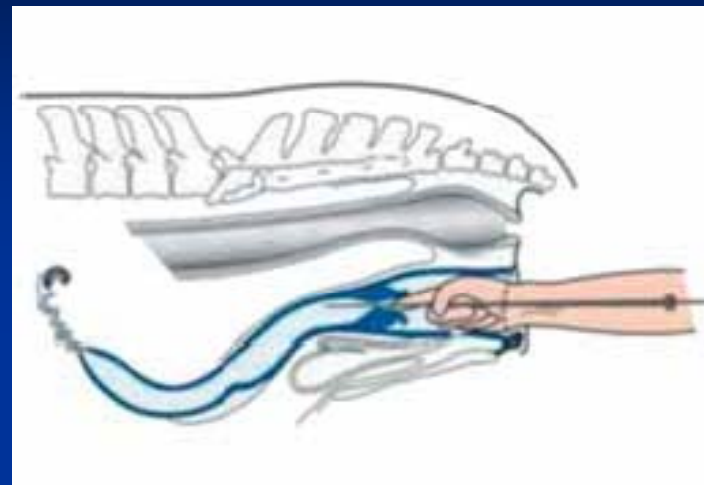
# UO KOBILA

- Kobile sputane ili smještene u stojnicu.
- Stidnicu oprati i dezinficirati.
- Nakon pranja i dezinfekcije stavlja se vaginalni spekulum i kroz cervikalni kanal uvodi sterilan kateter u maternicu.



# UO KOBILA

- Jednostaniji način
- Kateter uvodimo rukom na kojoj je sterilizirana rukavica (lubrikant)
- Ruku u čijoj šaci se nalazi vrh katetera guramo do pred cerviks.
- Prstom uvodačom pronalazimo ulazak u cerv. kanal u koji guramo kateter sve do 10-tak cm u corpus

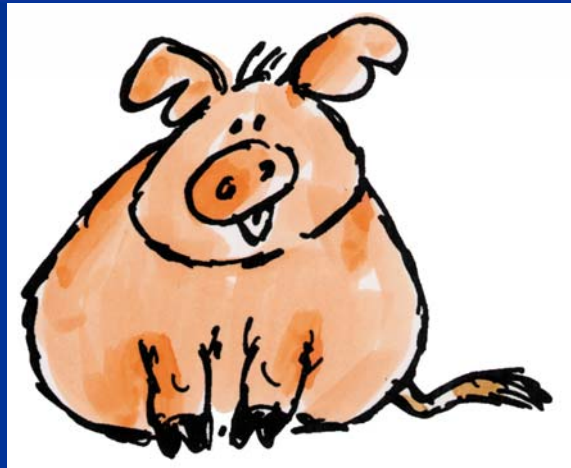


# UO KOBILA

- UO intrauterino.
- Sjeme se aplicira pomoću staklene ili plastične brizgalice zapremine 30-50 mL izravno u corpus kroz gumeni ili plastični kateter.
- Ejakulatom UO 8-40 kobila
- Poslije UO uz obaveznu kontrolu ovulacije folikula, primjenom
  - svježe razrijeđene sperme gravidno preko 50%,
  - ohlađene 25-40%,
  - uporabom DSS rezultati su 35-45%.

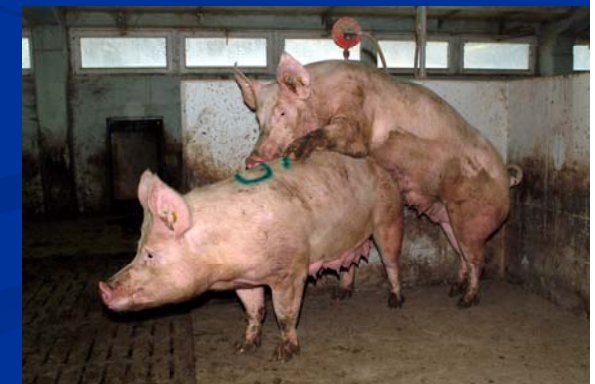
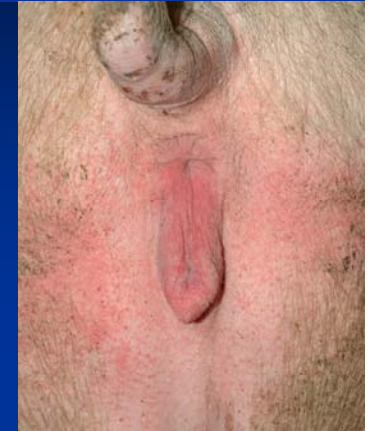


# UMJETNO OSJEMENJIVANJE SVINJA



# UO SVINJA

- U nas od 60-tih, a u svijetu od 30-tih godina 20. stoljeća.
- Danas UO uglavnom jedini način rasplodivanja svinja na farmama Europe
- **2 problema:** 1. otkrivanje estrusa, 2. kratko vrijeme preživljavanja sperme *in vitro* (osjetljivi smrzavanja/odmrzavanja)
- Za postizanje zadovoljavajućeg uspjeha koncepcije i veličine legla poželjna su višekratna UO razrijeđenim sjemenom



# ORGANIZACIJA UO SVINJA

1. Nerasti u centru za UO - sjeme se šalje na teren.
2. Velike farme. Farma s više od 500 krmača sama organizira centar gdje se polučuje, ocjenjuje i razrjeđuje ejakulat
3. Centri za razmnožavanje svinja pri vet. stanicama



Sjemenom nerasta može se UO 8-14 krmača.

# POLUČIVANJE EJAKULATA



- Ejakulacija traje dugo
- Polučivanje sjemena svakih 5-7 d manualnom fiksacijom penisa
- Kad se frakcije pomiješaju u ml ejakulata nalazimo 150-250 milijuna spermija.
- DOZA mora sadržavati najmanje 2 do 3 milijarde spermija u 100 ml



# RAZJEĐIVAČI

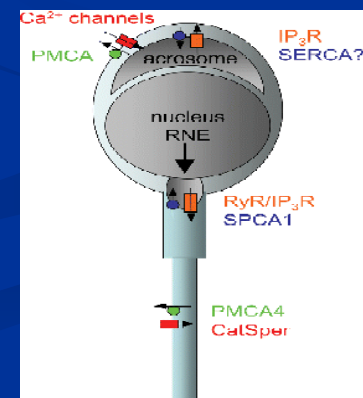
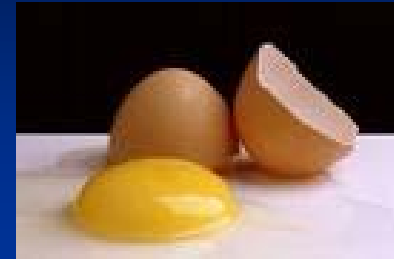
- **helatonski** razrjeđivači (3dana)
- “Zorolesco” 5 dana, “Beltsville” 4 dana uz čuvanje na temperaturama od 12 do 24°C.
- Postotak suprasnosti nakon UO svježom spermom iznosi:  
za krmače 75% i više,  
za nazimice i prvopraskinje 70%,(9-11 prasadi)



# UO DSS

**Glavni problemi prilikom DS sperme nerasta su:**

- a) razrjeđivačima na bazi žumanjka ili obranog mlijeka ne postiže se razina zaštite od temperaturnog šoka
- b) glicerol najbolji krioprotektor sperme nerasta, no toksični učinak izraženiji nego na spermije drugih vrsta;
- c) postupkom DSS nerasta oštećuje se 40-60% akrosoma, dok je u tekućoj spermi % neznan



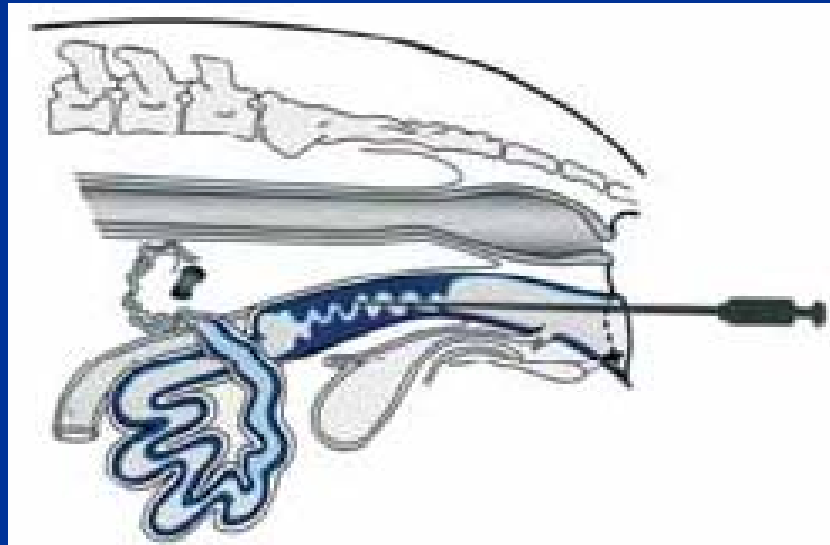
# VRIJEME ZA UO

- Estrus traje u prosjeku 53 sata, ovulacija se odvija prosječno 36-44h nakon početka vanjskih znakova estrusa.
- **aktivni refleks opasivanja.**
- **pasivni refleks opasivanja (najpovoljnije vrijeme za UO)**
- Otkrivanje –nerast probač i različiti testovi



# UO SVINJA

- Dvokratno UO u razmacima od 16 do 24h



# UMJETNO OSJEMENJIVANJE PASA



# UO KUJA

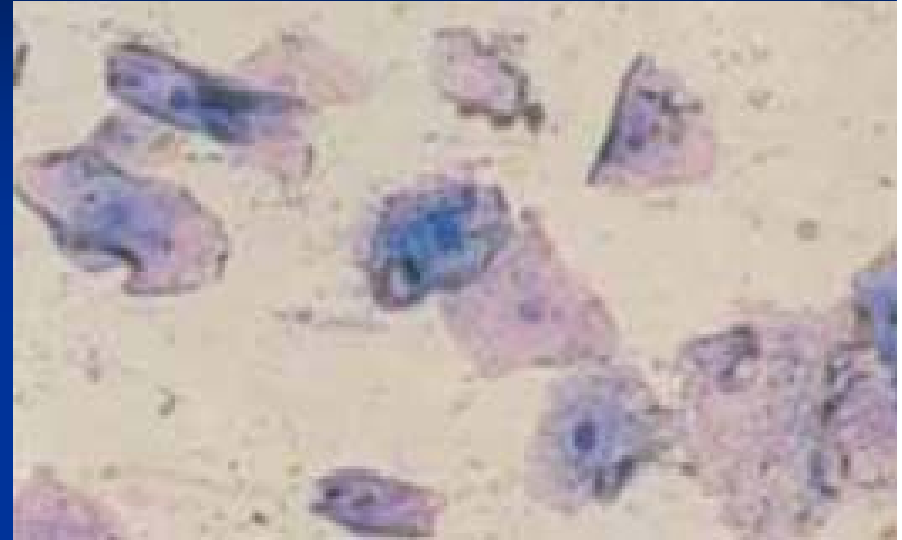
Indikacije za UO kuja su:

- partner visokovrijednih kuja ne može obaviti koitus
- partneri međusobno vrlo udaljeni (najčešće različite države), a vlasnik želi osjemeniti kuju iz uzgojnih razloga
- mladi i neiskusni partneri
- stečene malformacije vagine



# OPTIMALNO VRIJEME ZA UO

- Vaginalno-citološki bris  
(min. 80% kornificiranih  
epitelnih stanica)



- Određivanje razine  
progesterona



# DOZA ZA UO KUJA

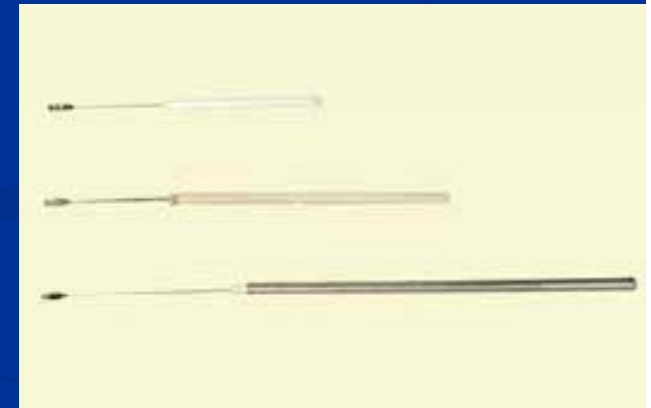
- najmanje 100 milijuna spermija (o tome ovisi uspjeh UO i br. štenadi)
- količine manje od 2 mL neprikladne za aplikaciju, dio ostane na stijenkama brizgalice i pipete





# UO KUJA

- Intrauterino
- Nerazrjeđeno odmah
- Razrjeđeno za 48h
- DSS- skandinavskim kateterom



# UO KUJA DSS-om

- Doza DSS za osjemenjivanje iznosi 2 do 2,5 mL s ukupno približno  $2 \times 10^8$  spermija.
- Ukoliko je progresivna pokretljivost preko 50% sperma dobra, oko 50% sperma prosječne kvalitete, ispod 50% loša.

**HVALA!!!**



**NEED YOUR ATTENTION**