



Embryo transplantatie bij het paard

W.K. Hendriks DVM Dipl ECAR KNMvD Erk Paardendierenarts
De Graafschap Dierenartsen / Hendriks EQ Repro Consultancy / Seldsum EQ Hendriks

CV – werkervaring

- ▶ 2001 Dierenarts
Utrecht University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Equine Sciences, Division of Equine Reproduction, Utrecht, NL
- ▶ 2001-2002 Docent
Groenhorst College, Barneveld, NL
- ▶ 2002-2008 Specialist in Opleiding
- ▶ 2008-2012 Specialist Voortplanting Paard (Diplomate ECAR Equine Reproduction) docent, PhD student
Utrecht University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Equine Sciences, division Equine Reproduction, Utrecht, NL
- ▶ Maart 2012 Hendriks EQ Repro Consultancy, Ellecom, NL
 - ▶ DVM, Diplomate ECAR Equine Reproduction
- ▶ Okt 2016 Seldsum EQ Hendriks
 - ▶ Moderne voortplantingstechnieken paard
- ▶ Febr 2018 PhD “Optimizing equine assisted reproductive technologies”
- ▶ April 2020 Clinical Director Paard De Graafschap Dierenartsen

Toepassen moderne voortplantingstechnieken:

1. Genetische vooruitgang
2. Sport en fokkerij combineren
3. Afwijkend geslachtsapparaat
4. Merries met afwijkende gezondheidstatus
5. Import/export



Moderne voortplantingstechnieken (on)mogelijkheden:

- ▶ **Embryo transplantatie (ET)**
- ▶ Ovum pick up / ovum transplantatie
- ▶ In vitro fertilisatie (IVF),
Intracytoplasmatische sperma injectie (ICSI)
- ▶ Sperma sexen
- ▶ Superovulatie
- ▶ Invriezen embryo
- ▶ Genomics (identificatie van DNA markers)
- ▶ Klonen SCNT



Embryotransplantatie, trend of toekomst in prestatiefokkerij?



ET veulen Jersey x Jazz



Governor (Totilas x Jazz)

Embryo transplantatie

- ▶ Eerste experimentele ET – 1971
Cambridge, GB (Allen and Rowson)
- ▶ Eerste ET veulen 1974 (niet-chirurgisch)
(Oguri and Tsutsumi)
- ▶ Explosieve toename ET in jaren 90 (mn. polo ponies)
- ▶ Afgelopen 10 jaar sterke toename in NL
- Laatste jaren in Nederland zijn de resultaten verbeterd, mede dankzij meer kennis, ervaring en betere technieken.



Wat is embryotransplantatie?

- ▶ Het jonge **embryo** wordt uit de baarmoeder van een **donormerrie** gespoeld en overgeplaatst in de baarmoeder van een **draagmerrie**.
- ▶ Het **embryo** ontwikkelt zich in de **draagmerrie** en het **veulen** wordt na de geboorte opgevoed door de **draagmerrie**.
- ▶ De **donormerrie** levert dus alleen het genetisch materiaal, de rest wordt volledig verzorgd door de **draagmerrie**.



Waarom embryotransplantatie?

- ▶ **Meerdere nakomelingen** per jaar van waardevolle fokmerries
- ▶ Combinatie **sport en fokkerij (!)(?)**
- ▶ Merries die de dracht zelf niet in stand **kunnen** houden.
- ▶ Merries met **geboorte- en/of zoogproblemen**.
- ▶ Dekken van een **2-jarige !!**
- ▶ Merrie met laat veulen, **niet overslaan**
- ▶ ET is ook de basis voor moeilijkere technieken (IVF, klonen, testen ontwikkelen voor genetische afwijkingen)



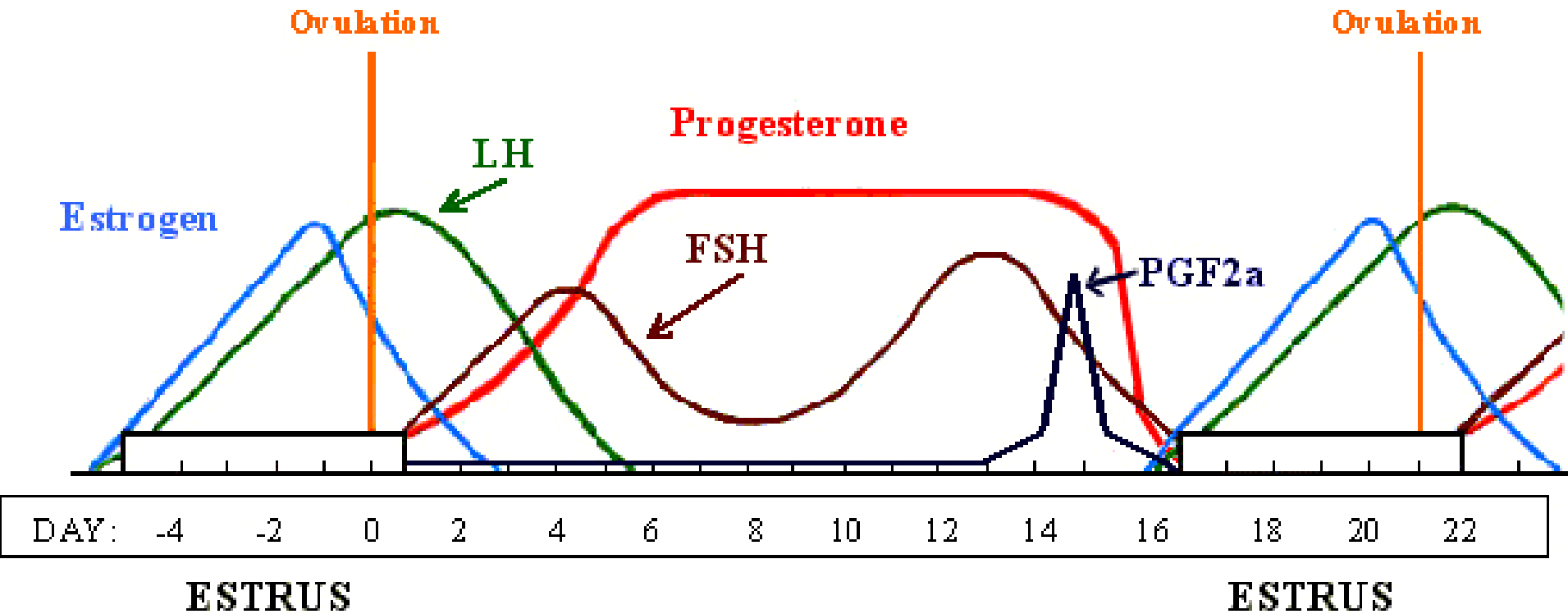
Aanvang ET – cyclus begeleiding

- ▶ Donor en ontvangsters
- ▶ Stadium cyclus
- ▶ Synchronisatie
- ▶ Inseminatie donor (type sperma)
- ▶ Gebruik ontvangsters (eigen of lease)
- ▶ Kosten

- ▶ **Kan tegen teleurstellingen!!!**



Cyclis merrie



Fertiliteitonderzoek

- ▶ Schouwen
- ▶ Rectaal onderzoek (palpatie en echografie)
- ▶ Evaluatie:
 - Baarmoeder
 - Eierstokken
 - Ophangbanden
 - Vagina



Synchroniseren donor - draagmerrie

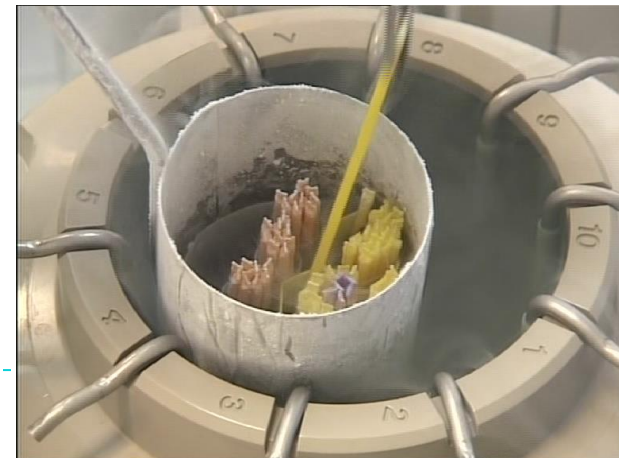
- ▶ Bij elkaar gehuisvest?
- ▶ Hormonaal ingrijpen:
 - ▶ Opstarten hengstigheid
 - ▶ Gebruik van niet-cyclische draagmerries?
 - ▶ Ovulatie stimuleren: wie als eerste?



Donor merrie - 1

Voorwaarden

- ▶ Vruchtbaar!
- ▶ Kwaliteitsvol (genetisch, sportprestaties, fokkerij)
- ▶ Leeftijd belangrijke factor voor succes
(tot +/- 14 jaar grotere kans op slagen)
- ▶ Gebruik vruchtbare hengst! (vers sperma hogere slagingskansen dan bij diepvriessperma)
- ▶ Stressfactoren minimaal



Donor - 2

Management

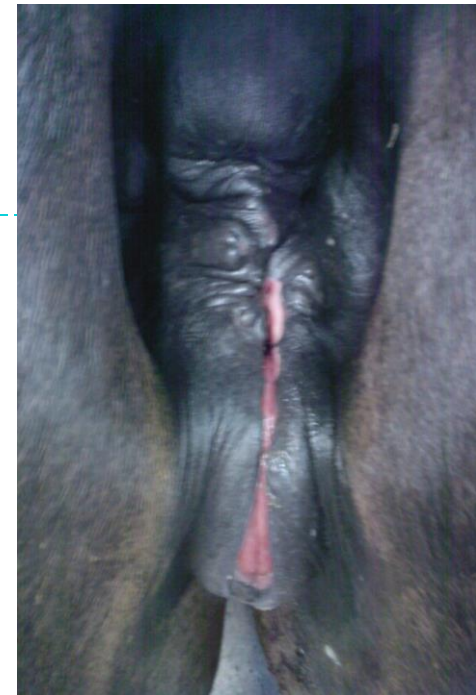
- ▶ Historie donor!! Controle donor vooraf aan ET (evt swab vooraf)
- ▶ Exacte ovulatiemoment bepalen (ovulatie is Dag 0)
- ▶ Rust rondom ovulatie tot aan spoelen embryo
- ▶ Dag 7-9 na ovulatie spoelen en dezelfde dag (<24 uur) overzetten
- ▶ Oudere merries en diepvriessperma niet vóór dag 8



Ontvangster - 1

Voorwaarden

- ▶ Gezond (mag echter gering kreupel zijn)
- ▶ Vruchtbaar
- ▶ Leeftijd (3 tot max 14 jaar)
- ▶ Karakter goed (zogen, omgang, stalgedrag)
- ▶ Formaat (wel bepalend voor geboortegewicht, niet voor uiteindelijke stokmaat, dit is in de basis genetisch bepaald. Liefst 1:1)
- ▶ Evt slijmmonster, Caslick



Ontvangster - 2

Management

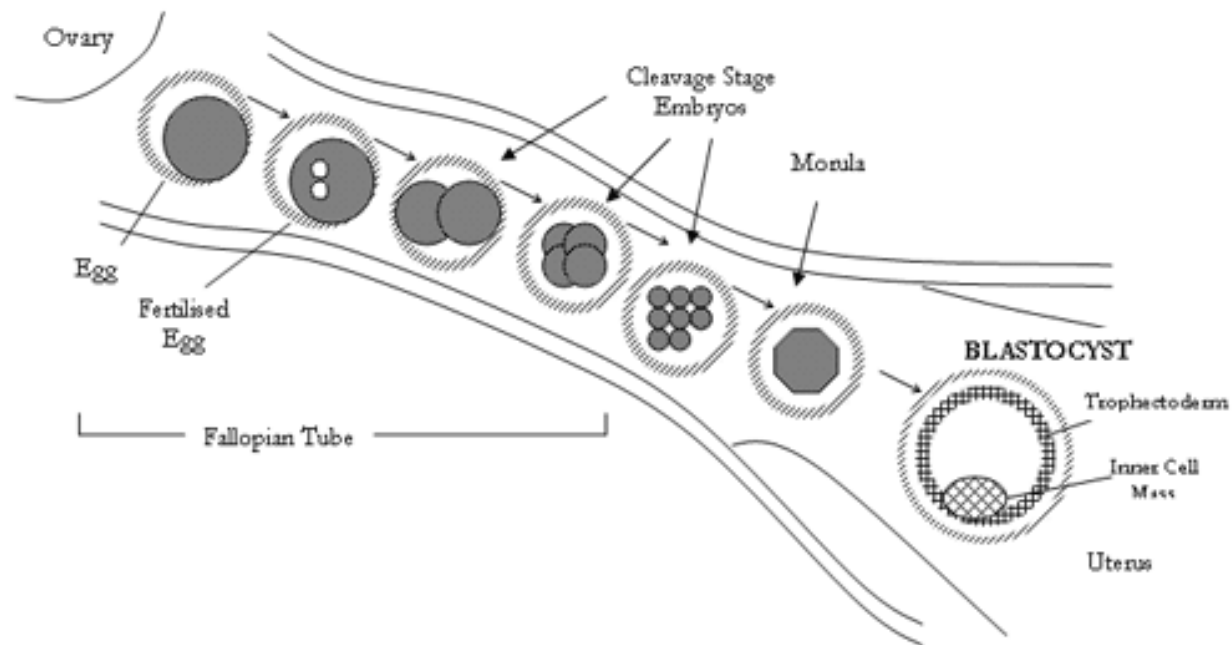
- ▶ Synchroniseren met donor (hengstig spuiten PG, chorulon)
- ▶ Exacte ovulatie moment bepalen, dagelijks scannen (ovulatie is d0)
- ▶ 24 uur vóór tot 72 ná ovulatie donormerrie ovulatie (d+1 tm d-3)
- ▶ Zéker een dag na ovulatie scannen (ivm vocht of tweede follikel)
- ▶ Hoe meer ontvangsters hoe groter de kans (min 2 a 3) op geschikte draagmoeder. Echter 1 op 1 synchronisatie is mogelijk
- ▶ In december beginnen met licht





Dag van embryo spoeling

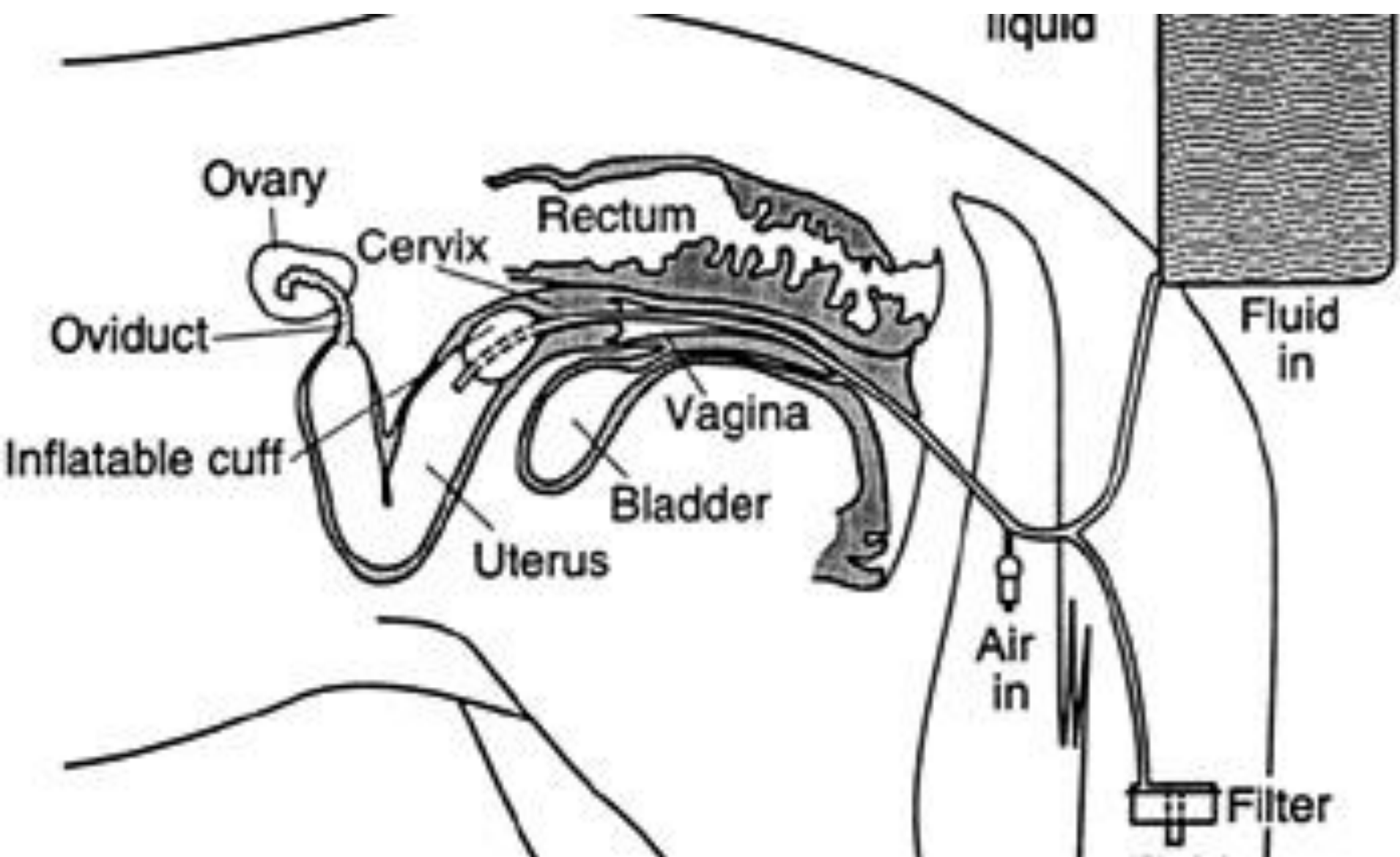
- ▶ Tijdstip arriveren - embryo in uterus afhankelijk van:
 - ▶ Moment van spoelen
 - ▶ Seizoen
 - ▶ Type sperma



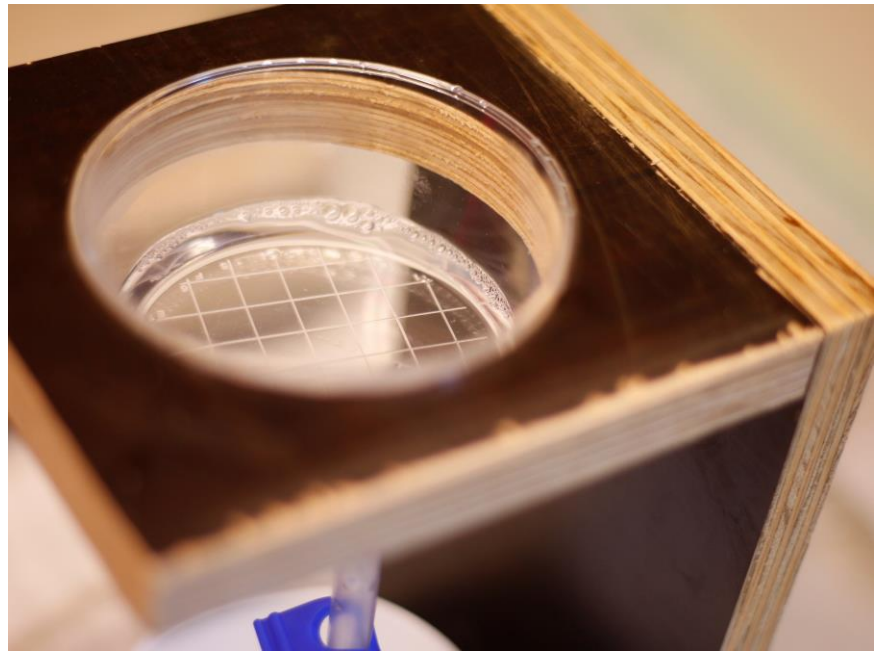
Embryo spoeling

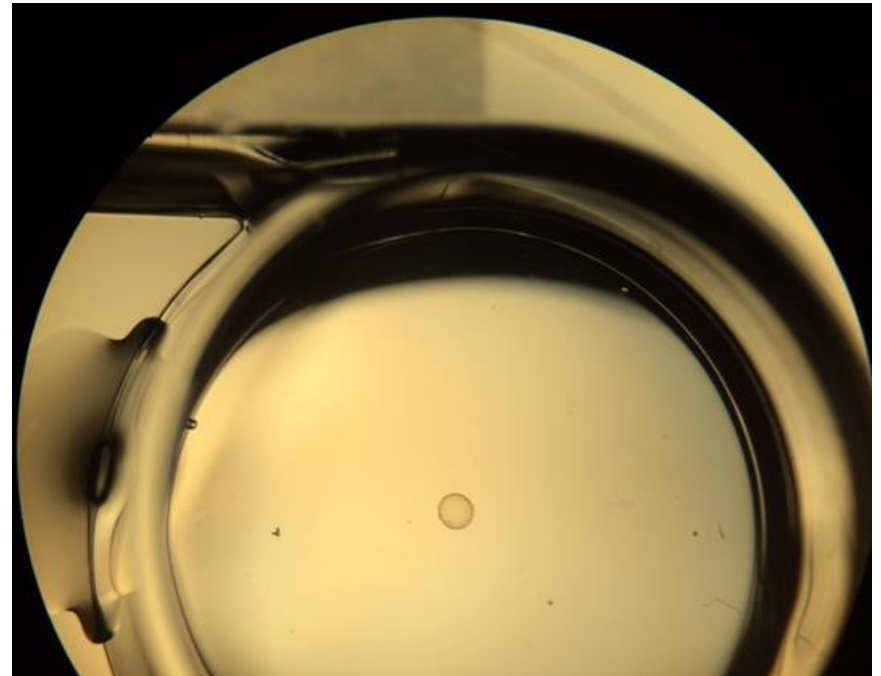
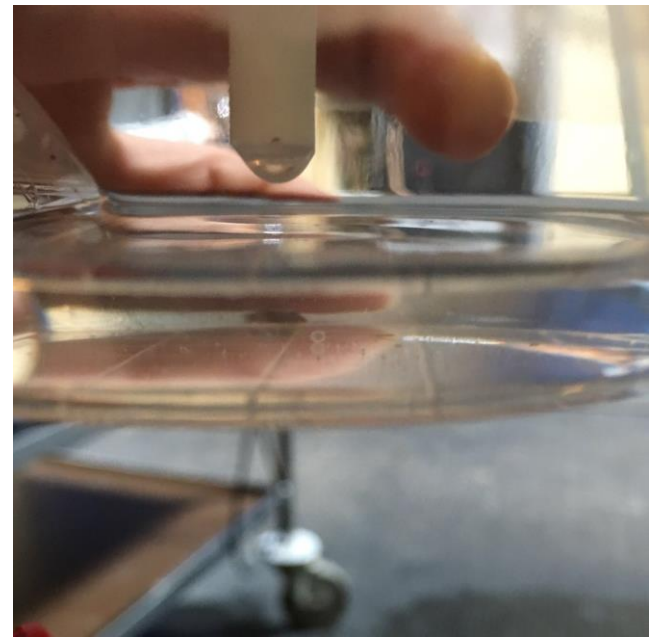
- ▶ D6 – D9, gangbaar is D8
- ▶ Opvoelbox
 - ▶ Controle donormerrie (echografisch: CL (s),vocht, oedeem, blaas)
 - ▶ Evt. sederen donormerrie.
- ▶ Materiaal: bionacatheter, 3-weg spoelsysteem, embryo filter, spoelvloeistof Dulbecco' s PBS en FCS of Ringer of EmCare (37° C; volume)
- ▶ Uitvoeren flush (0,5 – 2 liter; 3-6x) (hygiëne!)
- ▶ Na flush wel/niet hengstig spuiten











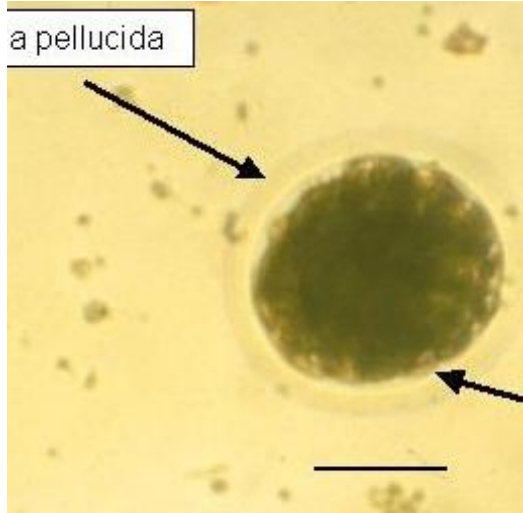
Wassen van het embryo



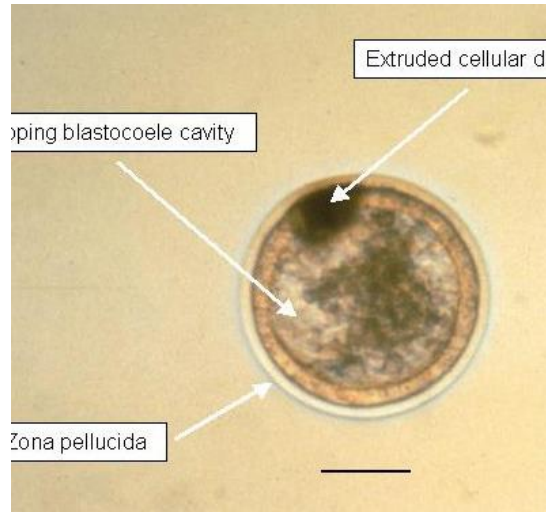
Embryo spoeling - succes

- ▶ Vers/gekoeld sperma: 52%
- ▶ Diepvriessperma: 33%
- ▶ Effect leeftijd donor merrie:
 - ▶ ≤ 15 jr 57%
 - ▶ > 15 jr 39% (McCue *et al.* 2010)
- ▶ Synchroniteit donor – ontvangster merrie
 - ▶ 2 dagen voor tot 6 dagen na ovulatie:
drachtpercentage 60-100% (Wilsher *et al.* 2010)

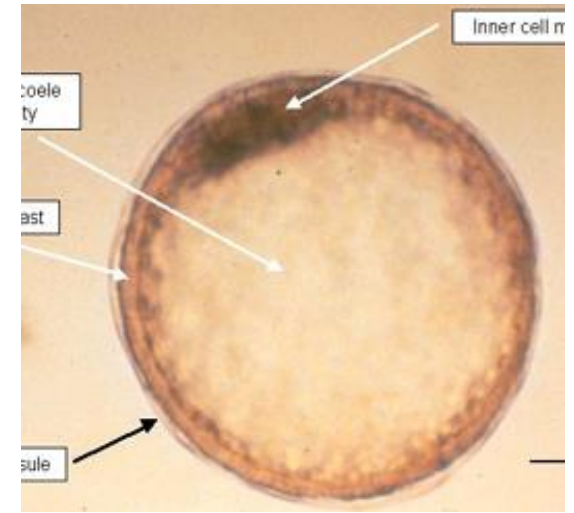




Morula



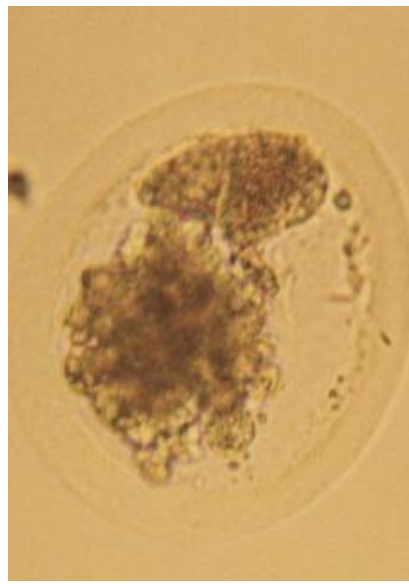
Early blastocyst



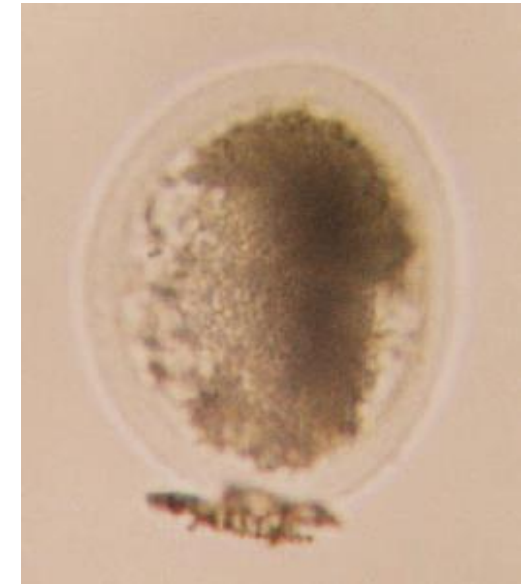
Expanded blastocyst



Graad 2 expanded blastocyst



Graad 4 embryo



Onbevuchte eicellen
(Blijven normaal achter in het oviduct)

Embryotransplantatie

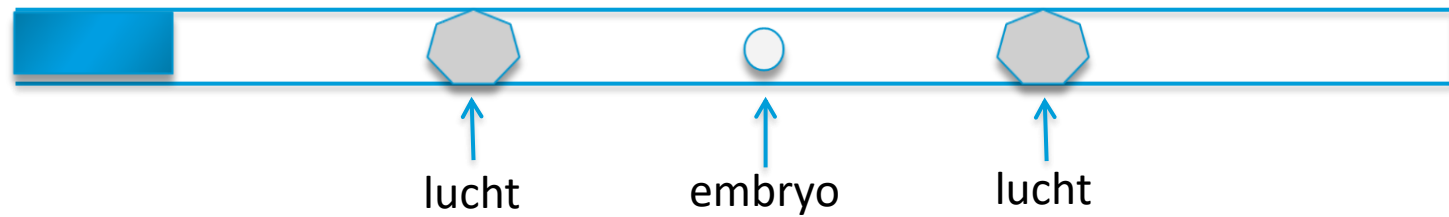
- ▶ Embryo direct transplanteren in draagmoeder. Embryo in rietje via pistolet in draagmoeder brengen (steriel!!!)
- ▶ Embryo gekoeld versturen naar draagmerrie locatie. Embryo rustig laten afkoelen en in transportmedium vervoeren (HippoXpress) binnen 12 / 24 uur overzetten



Transplantatie techniek

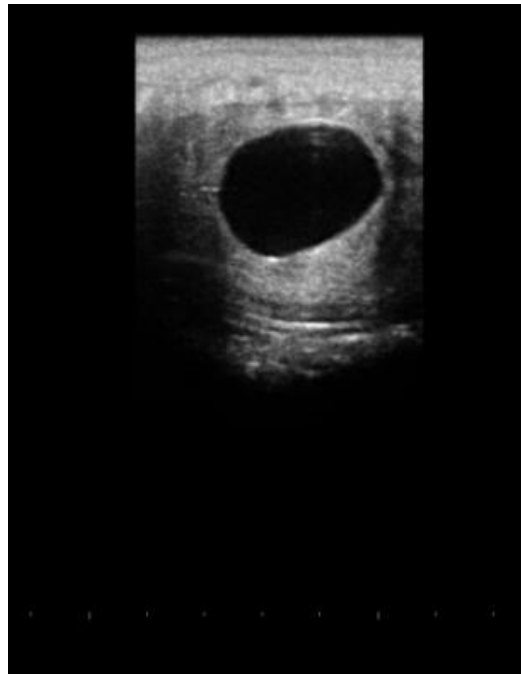
1. Controle draagmerrie – geschiktheid
geslachtsapparaat/gezondheid
2. Sederen draagmerrie.
3. Omgeving schede grondig reinigen en
desinfecteren – HYGIENE!!!!
4. Embryo klaar maken voor transplantatie (in
rietje in pistolet)
5. Embryo transplanteren (evt. Wilsher forceps)
6. Na transplantatie pistolet controleren onder
microscoop op evt. achterblijven embryo.
7. Evt. medicatie (hormonen, NSAID's, AB)





Drachtcontrole

- ▶ Zichtbaar vanaf D9-10, optimaal D14-16
 - ▶ Palpatie, echografie (rond), locatie?



Kans op dracht *na transplantatie*

- ▶ Embryo kwaliteit
- ▶ Ervaring d'arts
- ▶ Techniek (chirurgisch vs. non-chirurgisch)
- ▶ Hygiëne
- ▶ Verse embryo's >75% op D12-14
- ▶ Koelen en opslag/transport tot 24 h bij 5°C heeft geen nadelig effect op kans op dracht (Squires et al, 2003)



Statistieken

Ca. **50-60 %** embryo na spoeling

- * vers sperma: 70%
- * gekoeld sperma: 60 %
- * diepvries sperma: 40 %

Gemiddeld **80-90 %** aanslaan embryo in draagmoeder

Gemiddeld **70 %** levend veulen

Dit komt gemiddeld neer op 3 cycli spoelen voor 1 levend geboren veulen!!



Kosten ET

Gemiddeld kostenplaatje per embryo:

-Dekgeld:	1500
-Dierenarts (begeleiden en spoelen):	1200
-Eigen draagmerrie (begeleiding en transfer):	1000
-Gehuurde draagmerrie:	2500
-Aanvullende kosten (vb stamboek, DNA):	200
-10 % ingecalculeerd verlies:	800

Conclusie: ET-veulen heeft dus al zeker 3200 euro (eigen merrie) of 4700 Euro (huurmerrie) gekost! excl dekgeld en evt stallingskosten



Kritische kijk op ET

- ▶ ET kost “veel” geld, dus nakomeling moet tijdens dracht/na de geboorte voldoende geld op brengen!
- ▶ Intensieve begeleiding donor en ontvanger noodzakelijk, waarbij het succes van vele factoren afhankelijk is.
- ▶ Combinatie (top)sport en embryotransplantatie is mogelijk, maar is fysiek en vooral management-technisch niet altijd makkelijk uitvoerbaar, met wisselend succes.



Trend of toekomst?

Voor kwaliteitsvolle topmerries al trend, maar voor gewone fokmerrie beslist geen toekomst.

Embryotransplantatie biedt voor prestatie-fokkerij zeker extra kansen





Elke
donderdagavond
20 uur

- 25 maart **Vorbereiding voor het keuringsseizoen,
hoe maak ik mijn paard keuringsklaar**
Jong KFPS
- 1 april **Alles over de aanlegtesten: IBOP en ABFP**
Wytske Schuth
- 8 april **Hoe werkt het met predikaten en welke wordt wanneer toegekend**
Sabien Zwaga
- 15 april **Fokkerscafe: Op stal met fokkers**
Vanuit de stallen van De Nieuwe heuvel gaan we in gesprek met
Peter Spahn, Rien van der Schaft en... olv Alice Booi