

Embryotransplantation

Dyrlæge Frede Nielsen

Blommevej 7, 6870 Ølgod

Danmark

Tlf.: +45 30730299, Email: cowembryosmail.com

OM EMBRYOTRANSPLANTATION

Ved en **embryotransplantation (ET, ægtransplantation)** overføres 7-7½ dage gamle embryoner (befrugtede æg) fra en **donor** til en eller flere **recipienter**, der således kommer til at fungere som fostermødre eller rugemødre for donorens afkom.

En embryotransplantation falder arbejdsmæssigt i flere dele:

1) Hormonbehandling af donor

For at få donoren til at løsne mere end ét æg behandles den med **follikelstimulerende hormon (FSH)** morgen og aften i 3½ - 4 dage, 7 – 8 gange i alt. Behandlingen foretages midt i en brunstcyklus, d.v.s indledes mellem 8 og 14 dage efter sidste brunst.

Samtidig med næstsidste FSH-indsprøjtning behandles donoren tillige med **prostaglandin**, som fremkalder en brunst i løbet af knapt to døgn. Brunsten hos donorer kommer ikke blot hurtigt efter prostaglandinbehandlingen, den er i reglen også kraftig og forholdsvis kortvarig.

2) Insemination af donor.

Det anbefales at **inseminere donoren to gange**, første gang 6 – 10 timer efter begyndelsen af stående brunst, 2. gang ca. 12 timer senere. Som hovedregel gælder, at **1. insemination skal ske mens donoren stadig er brunstig, 2. insemination nogle timer efter brunstens afslutning**. I forbindelse med ægtransplantation er der større risiko for at inseminere for sent end for tidligt. Eventuelt anvendes to sædstrå ved 1. inseminering.

Brug af **kønssorteret sæd** i forbindelse med ægtransplantation kan have meget stor interesse, men er ikke uproblematisk: Dels er sæden meget stærkt fortyndet (2 mio. sædceller pr. strå mod normalt det 5-10 dobbelte), dels har den været udsat for en -for sædceller- meget hårdhændet behandling. Som minimum må det anbefales at bruge **to strå ved hver inseminering**, og inseminatoren skal være dækket af et specielt plastovertræk som ved overførsel af embryoner. I almindelighed anbefales det ikke at tilstræbe særlig ”dyb” inseminering, fordi risikoen for at beskadige bøvæggen derved stiger. -- I Holland f. eks. anbefales det at inseminere 3 gange med 8 timers mellemrum, hvor 1 insemination foretages få timer efter brunstens begyndelse. Der anvendes så 1 sædstrå ved første og tredje insemination og to strå ved anden insemination. Under alle omstændigheder må der iflg. alle erfaringer forventes en lavere og især en mere varierende befrugtningsprocent.

Hvis sæden er stærkt rationeret eller meget kostbar, men af god kvalitet, kan det forsvares at nøjes med een insemination, som så foretages 12-18 timer efter brunstens begyndelse. Også hos kvier med en meget kort brunst kan det være rimeligt kun at inseminere een gang.

Hvis en donor ikke viser **tydelig brunstadsfærd**, er det erfaringsmæssigt ensbetydende med, at den kun er svagt eller slet ikke stimuleret. Hvis den bliver **brunstig** ½-1 døgn **senere end forventet** ifølge planen er der i reglen heller ikke mere end højst et par æg. I ingen af disse tilfælde bør der derfor anvendes meget kostbar eller rationeret sæd.

Selve insemineringen udføres med omhu og skånsomhed, og sæden behandles optimalt. Det vil bl. a. sige, at donoren skal insemineres straks sæden er optøet, at der altså **ikke må tões sæd op til flere inseminationer ad gangen**

3) Brunstsynkronisering af recipienter

Recipienterne skal være brunstige så vidt muligt nøjagtigt samtidig med donor. Derfor behandles også de med prostaglandin, kvier ½ og køer 1 døgn før donor. Denne forskel beror på, at kvier sædvanligvis bliver brunstige 2-2½ døgn efter behandling med prostaglandin, køer 3-3½ døgn efter.

For at få recipienter nok vil det undertiden være nødvendigt at behandle en del af kvierne to gange (dobbeltsynkronisere), første gang i forbindelse med donorens brunst forud for FSH-behandlingen.

Hvorvidt det er nødvendigt at behandle recipientkvier med prostaglandin to gange afhænger af i hvor høj grad de forud for hormonbehandlingen har fulgtes med donoren med hensyn til brunst. Har de været brunstige indenfor de sidste 5 døgn før donoren eller forventes de at blive det i løbet af de første 5 døgn efter, er der ingen grund til at spekulere på dobbeltsynkronisering. Har kvierne derimod været brunstige midt i donors brunstcyklus, vil de kun kunne anvendes som recipienter, hvis de bliver dobbelssynkroniserede. - Køer må det normalt frarådes at dobbeltsynkronisere.

Både køer og kvier kan anvendes som recipienter, men de højeste drægtighedsprocenter opnås hos kvier.

Man må regne med at skulle **bruge megen tid på brunstkontrollen**. Enkelte dyr reagerer ikke på prostaglandinbehandlingen, og det er afgørende at få udpeget disse. Brunsttidspunktet skal endvidere noteres, idet de embryoner, der er længst fremme i udvikling skal overføres til de recipienter, der først har været brunstige, og omvendt.

4) Skyllingen

Skyllingen foretages 7-7½ dage efter donorens brunst. Ved skyllingen sprøjtes i alt 1-2 liter væske i småportioner gennem et såkaldt ballonkateter ind i børen og suges straks efter ud igen. Skyllingen varer en lille time og kan uden problemer udføres i enhver stald. Ved skylning af køer skal donoren stå med forbenene hævet 30-40 cm.

Ved en endetarmsundersøgelse af donorens æggestokke forud for skyllingen kan man få et skøn over det mulige antal æg. Hvis donoren slet ikke har reageret på FSH-behandlingen er der naturligvis ingen grund til at skylle den. Det forekommer erfaringsmæssigt hos ca. 5% af alle donorer behandlet med FSH.

5) Ægfinding og kvalitetsvurdering

Efter skylningen filtreres skyllevæsken, og filtratet med æggene undersøges under mikroskop ved 12-18 ganges forstørrelse. Æggene måler ca. 0,1 mm i diameter.

Når æggene er fundet, renses de for slim og andre urenheder ved at blive ført gennem en serie plastskåle med ren skyllevæske.

I gennemsnit findes der 9-12 æg pr. skylning. Heraf er i gennemsnit kun ca. 5-7 egnede til overførsel. Resten kan være ubefrugtede eller af meget dårlig kvalitet. Embryonerne klassificeres dels efter udviklingsstadium, dels efter andelen af døde eller unormale celler.

Normalt har de embryoner som findes ved skylning 50 – 120 celler, og udviklingsstadiene betegnes **morula** (brombærstadiet) eller **blastocyst** (signétringsstadiet). Dertil kommer undergrupper (se billederne bag i hæftet).

Internationalt har man vedtaget at anvende følgende koder til betegnelse af **embryonernes udviklingsstadium**:

- 3: tidlig morula
- 4: morula
- 5: tidlig blastocyst
- 6: blastocyst
- 7: ekspanderet blastocyst

Embryonernes kvalitet angives også ved kodebetegnelser, fra 1 til 4 eller fra A til E:

- 1: god (ingen eller kun mindre væsentlige fejl, over 85% levende celler - kan fryses)
- 2: rimelig (mindst 50% levende celler, evt uregelmæssig form)
- 3: dårlig (mindst 25% tilsyneladende levende celler)
- 4: døde eller degenererede æg

Det skal understreges, at vurderingen af embryoner er subjektiv, og at ikke alle - heller ikke sagkyndige - vurderer ens.

6) Overførsel til recipienter

Før embryonerne kan overføres til recipienter suges de op i sterile plaststrå af samme slags som anvendes til frosset sæd. Til overførslen anvendes en forlænget inseminator, og hele proceduren ligner udefra betragtet en insemination.

Forskellen er for det første, at embryoner skal placeres så langt fremme i børhornet som vel muligt, mens sæd til sammenligning blot skal lige indenfor børhalsen. Recipienterne er ikke brunstige, hvilket betyder dels at det kan være vanskeligere at føre inseminatoren gennem børhalsen, dels at børen er mere sårbar overfor infektion end den ville være under brunst. Derfor er det nødvendigt at transplantationen gennemføres så skånsomt og renligt som

overhovedet muligt. Det er grunden til at for transplantationen.

recipienten om muligt rygmarvsbedøves forud

Før overførslen undersøges recipienternes kønsorganer omhyggeligt, og erfaringsmæssigt må ca. 25% af recipienterne kasseres, enten fordi de har æggestokcyster eller for små gule legemer, eller fordi de ikke har været brunstige samtidig med donoren. Frafaldsprocenten er større blandt køer end kvier.

7) Drægtighedsundersøgelse

Drægtighedsundersøgelse af recipienter bør i almindelighed vente til ca. 6 uger efter transplantationen (7 uger efter inseminationen). Ved tidligere undersøgelse synes der at være større risiko for fejl diagnose end normalt ved tidlig drægtighedsundersøgelse.

I perioden indtil drægtighedsundersøgelsen bør man ikke inseminere recipienterne, selv om de ser ud til at være brunstige. Drægtige recipienter kan nemlig vise symptomer på brunst ca. 2 og 5 uger efter transplantationen (henhv. 3 og 6 uger efter forudgående brunst).

Der er formentlig en lidt større hyppighed af tidlig fosterdød efter embryotransplantation end normalt.

8) Frysning af embryoner

Det er muligt at fryse embryoner og opbevare dem i flydende nitrogen. Gode embryoner tåler frysning og optøning forholdsvis godt, og reduktionen af drægtighedsprocenten er meget lille, på trods af at undersøgelser har vist, at gns. 35 – 40 % af cellerne i embryonerne dør ved frysningen. Ved frysning af embryoner af ringere kvalitet reduceres antallet af drægtigheder meget betydeligt i forhold til det, der kunne være opnået, hvis embryonerne var blevet overført straks efter skylningen.

Derfor bør der til enhver skylning forberedes et mindste antal recipienter, f. eks. 3-5, så de ikke frysbare embryoner kan udnyttes.

Levende celler skal forud for frysning tilsættes et **frysebeskyttende stof**, hvis virkning bl. a. er at forhindre dannelsen af iskrystaller i cellernes indre, hvilket ellers ville dræbe cellerne. Som frysebeskyttende stof er der traditionelt anvendt **glycerol**, som tåles forholdsvis godt. Det anvendes således altid ved frysning af tyresæd. I forbindelse med frysning af embryoner er der den praktiske ulempe ved glycerol, at embryonerne forud for overførslen til recipienter skal tages ud af det strå, hvori de er frosset, og føres gennem en række petriskåle med forskellige opløsninger, hvori glycerolet langsomt fjernes fra embryonerne. I modsat fald - hvis embryonerne straks blev overført til recipienter – ville cellerne blive beskadiget og gå til grunde. Den kontrollerede fjernelse af glycerol kræver imidlertid mikroskop og andet laboratorieudstyr og tager tid.

Af besparelshensyn er glycerol derfor her i landet – som i adskillige andre lande - blevet erstattet med **ethylenglycol**. Fordelen er, at embryoner frosset i ethylenglycol kan overføres umiddelbart efter optøningen, direkte fra det strå hvori de er frosset, ligesom tyresæd. Ethylenglycol anses af nogle for at være mere skadeligt for embryonerne end glycerol, hvorfor

det anbefales at embryonerne overføres meget hurtigt efter optøningen (indenfor 2-3 minutter). Resultatmæssigt anses ethylenglycol for knapt så sikkert som glycerol.

I nogle lande, USA og Frankrig f. eks., anvendes glycerol stadig i et vist omfang, så undertiden skal importembryoner optøes på den tidkrævende og for os gammeldags måde.

Behandling af donor efter skyllingen:

FSH-behandlingen af donor kan medføre uheldige bivirkninger. Den vigtigste er en påvirkning af yveret, så der forekommer **mælkeløb**, begyndende 5-7 dage efter brunsten, d.v.s. samtidig med eller et par dage før skyllingen. Mælkeløb ses især hos donorer som har reageret stærkt på hormonbehandlingen og hænger formentlig sammen med at der er en unormalt høj mængde af hormonet progesteron i blodet hos disse køer. For at minimere den skadelige effekt heraf vil man oftest behandle donorkøer med prostaglandin straks efter skyllingen og i tilgift give oxytocin før hver malkning de første 4 dage efter skyllingen.

En anden mulig bivirkning er midlertidigt **nedsat modstandskraft** overfor infektioner med f. eks. øget celletal og yverbetændelsesrisiko til følge. Årsagen hertil har formentlig en forbindelse med den høje østrogenproduktion omkring brunsten, som uundgåeligt følger med mange ægløsninger. Det er derfor vigtigt at være ekstra opmærksom på en eventuel begyndende yverbetændelse i dagene omkring hormonbehandling og brunst.

Det forekommer, at donorer er **drægtige efter skyllingen**, på trods af prostaglandinbehandling. Risikoen herfor er større når prostaglandinbehandlingen foretages i umiddelbar tilslutning til skyllingen, således som det er reglen hos malkekøer, end når prostaglandinbehandlingen venter til 1 – 2 uger efter skyllingen.

Årsagerne til, at drægtighed efter skyllingen ofte er problematisk, er dels de indlysende: At donoren skal skylles igen, at den skal være drægtig med en anden tyr end den der anvendt ved skyllingen, eller, for en donorkvies vedkommende, at den er for ung, men også, at der kan være mere end eet æg tilbage i børen med tvillinge-, trillinge- eller firlingedrægtighed til følge.

FORUDSÆTNINGER FOR GODE RESULTATER VED EMBRYOTRANSPLANTATION

A: KRAV TIL DONORER

- 1) Normal æggestokfunktion, dvs. **2-3 tydelige brunster** med regelmæssige intervaller. Ingen æggestokcyster eller brummersymptomer i det hele taget indenfor de sidste 6 uger. Intet unormalt skedeflåd.
- 2) **Rimelig ernæringstilstand.** Donorer må helst hverken tabe sig eller være for fede. Vedrørende fodring i øvrigt gælder stort set det samme som er anført nedenfor om recipienter, idet dog vilkårene naturligvis er vidt forskellige for højtydende malkekøer på den ene side og kvier samt kødkvæg på den anden.
- 3) **God sundhedstilstand** – ikke ketose, løbedrejning eller smertefulde klov- eller benproblemer indenfor det sidste par måneder.

B: KRAV TIL RECIPIENTER

- 1) **Kvier er bedre** recipienter **end køer**- det gælder især for SDM, i mindre grad jersey og kødkvæg.
- 2) Normal æggestokfunktion (som donor). - Intet unormalt skedeflåd
- 3) Normal forudgående frugtbarhed - helst ikke mere end 1 eller højst 2 forudgående forgæves insemineringer.
- 4) Sikker brunstkontrol - vær forberedt på at bruge megen tid på brunstkontrollen!
- 5) Kvier hverken for små og magre eller gamle og fede. Køer helst over 2 måneder fra kælvningen og i positiv energibalance.
- 6) Ved fodringen af recipienter skal man være opmærksom på følgende:
 - a) Som hovedregel gælder, at recipientkvier (ligesom donorkvier) skal **fodres svagt til moderat hvad energi angår, så de ikke bliver fede**. Foderrationen skal om muligt være baseret på græsmarksprodukter (græsensilage af god kvalitet), hvorimod majsensilage i større mængder ikke er hensigtsmæssig. **Foderrationens struktur** skal være i orden (evt. via groft hø eller frøgræshalm). Fodringen i tiden før og efter transplantationen skal være **stabil og ensartet**. Bratte foderskift skal undgås. Recipienter (og donorer) må **ikke** fodres, så de får **diarré**.
 - b) Der skal **ikke** gives mere **protein** end normerne foreskriver. Rapsskrå er erfaringsmæssigt en god proteinkilde.
 - c) Om muligt skal foderrationen indeholde **carotin** (frisk græs, god græsensilage, grønt hø (lucernehø) eller eventuelt et par kg. grøntpiller dagligt de sidste 3 uger før transplantationen.
 - d) Recipienternes forsyning med mineraler og vitaminer skal være tilstrækkelig. Tilskud af Selen og E-vitamin kan ofte tilrådes. Til dyr på stald skal der gives tilskud af A-vitamin.

- 7) Recipienterne må ikke udsættes for stress det sidste par uger før transplantationen og den første måned efter. Ved stress tænkes f. eks. på flytning, sammenblanding, transport, betydelige foderskift (herunder udbinding på græs). Dyr med klov- og benproblemer, f. eks. digital dermatitis, bruges så vidt muligt ikke.

C: KRAV TIL SÆD OG INSEMINATION

- 1) Det er her vigtigt at være klar over, at **FSH-behandlingen** af donorer i sig selv har en **negativ effekt på chancen for befrugtning**:

Befrugtningen af æggene sker i den øverste del af æggeledeerne. Ved inseminationen placeres sæden i den allerbageste del af børen. Sædcellerne skal altså - til alt held kun delvist ved egen kraft - bevæge sig og bevæges den forholdsvis lange vej gennem børhorn og æggeleder frem til ægget.

Adskillige undersøgelser har vist, at **antallet af sædceller**, der når frem til det afsnit af æggelederen, hvor befrugtningen skal ske, er meget **betydeligt lavere hos donorer behandlet med FSH** end hos dyr, der ikke er behandlet med dette hormon. Forhindringen, stedet som sædcellerne hos donorer har vanskeligt ved at passere, er formentligt lokaliseret til overgangen mellem bør og æggeleder.

Af ovennævnte grund og fordi der jo er flere æg, der helst skulle befrugtes, er det i forbindelse med embryotransplantation i særdeleshed **vigtigt, at sæden har en god befrugtningsevne, og at antallet af sædceller er tilstrækkeligt højt**. Dette beror primært på tyrens frugtbarhed og på sædens fortyndingsgrad, men også på sædens behandling under transport og optøning. De forskelle, der normalt er mellem tyre med hensyn til frugtbarhed, bliver mere udtalte, når sæden anvendes i forbindelse med ET. Er der tvivl om en tyrs frugtbarhed, eller vides sæden at være stærkt fortyndet, må det derfor anbefales at anvende derfor to sædstrå ved første insemination.

Anvendelse af **kønssorteret sæd** til donorkøer kan have meget stor interesse, men er problematisk af to årsager: Dels er antallet af sædceller pr. strå væsentligt lavere for kønssorteret end for ikke kønssorteret sæd, dels udgør selve sorteringen en meget hård belastning for sædcellerne (først fortyndes sæden unaturligt, dernæst farves med et farvestof som specifikt binder sig til cellernes arvemateriale (DNA), så presses cellerne under tryk gennem en tynd dyse for med stor hastighed at passere sorteringsenheden, og endeligt koncentrerer den fortyndede sædvæske igen ved centrifugering).

Vil man forsøge med kønssorteret sæd, skal der anvendes 3-4 sædstrå, 2 + 2(1), eller 1 + 2 + 1. Inseminatoren beskyttes med et plastovertræk som ved overførsel af embryoner. Befrugtningsprocenten må forventes at blive lavere end normalt, og variationen mellem tyre er efter alle erfaringer større end ved brug af ikke sorteret sæd.

En del kvægavlere har haft held med at anvende en kombination af kønssorteret og ikke kønssorteret sæd: Først bruges på det optimale tidspunkt (ca. 8 timer efter begyndelsen af stående brunst) 2 strå med sorteret sæd, og 12-14 timer derefter, når den sorte sæd må formodes ikke at være befrugtningdygtig længere, et strå med ikke sorteret sæd.

- 2) **Insemineringen skal udføres skånsomt, renligt** og på det optimale tidspunkt. I forbindelse med inseminationen bør inseminatoren **ikke undersøge (føle på)**

æggestokkene. Ved insemination af flere dyr ad gangen. donorer anbefales det, at der ikke optøs sæd til flere dyr ad gangen.

- 3) **Brunstkontrollen** skal være så sikker som muligt. Enkelte donorer har en meget kort brunst, f. eks. et par timer midt om natten forud for den forventede brunstdag.

RESULTATER AF ÆGTRANSPLANTATION

I mange år har resultaterne ligget på følgende niveau:

Antal æg pr skylning, gns.	10-12
Antal overførbare embryoner, gns,	6-7
Pct.dr.friske embryoner, kval.A og B (1)	50-80%
- - - - , - C (2)	20-50%
- - - - , - D (3)	10-20%
- - - - , - E (3)	5-10%
Pct.dr.frosne - , - A og B	50-80%
Antal drægtigheder pr skylning, gns.	4-5
Andel donorer ikke stimuleret	5-10%
Andel donorer uden overførb. embr.	10-15%

Vigtigt ved vurdering af gennemsnitsresultater er det at vide, at tallene dækker over **store variationer**, dels fordi de enkelte donorerers reaktion på superovulationsbehandlingen er stærkt svingende, dels fordi der er stor forskel på andelen af ubefrugtede æg og på ægkvaliteten i øvrigt fra skylning til skylning. Resultaterne ved skylning af kvier er generelt lidt dårligere end ved skylning af køer.

KØNSBESTEMMELSE AF EMBRYONER OG FOSTRE

Ved anvendelse af moderne DNA teknologi er det muligt at bestemme kønnet på embryoner. Alt hvad der behøves for at foretage DNA-bestemmelsen er nogle få celler. Denne **celleprøve** - biopsi - kan udtages på to måder: Enten stikkes en tynd nål ind gennem embryonets skal (zona) og det nødvendige antal celler suges ud, eller der skæres et stykke af embryonet med en skarp kniv. Den sidste metode er den letteste at udføre, men samtidig den der beskadiger embryonet mest.

Selve **DNA-undersøgelsen** er i princippet meget kompliceret, men der er udviklet praksisegnede testkits, så det er muligt at udføre kønsbestemmelsen i praksis. Det sker rutinemæssigt flere steder i bl. a. Tyskland, Holland, Frankrig og Belgien. Her i landet skønnes behovet at være meget lille, idet der næsten kun foretages ægtransplantation på køer hvorfra der kan sælges tyre til kvægavlsforeningen, således at tyrekalve og kviekalve har nogenlunde samme værdi.

Sikkerheden på DNA-undersøgelsen er høj, men metoden er behæftet med praktiske ulemper og begrænsninger: Den omstændighed, at DNA-bestemmelsen tager adskillige timer at gennemføre indebærer, at kønsbestemmelse kun er aktuel for de frysable embryoner, i gennemsnit kun ca. 60% af de befrugtede embryoner. Dertil kommer, at udtagningen af celleprøven forringer embryonets chance for at overleve frysningen. Alt i betynder det, at kønsbestemmelse af embryoner, i hvert fald under aktuelle danske forhold, kun vil have begrænset praktisk interesse. I forbindelse med skylning af køer, som ikke længere har kvægavlsforeningernes interesse som tyremødre, men som alligevel har en høj avlsværdi og samtidig er gode donorer (giver mange embryoner), kan der dog nok forventes en vis efterspørgsel.

Kvægfostre kan kønsbestemmes ved hjælp af **ultralydscanning** i perioden fra ca. 55. til 70. drægtighedsdag. Ved undersøgelsen føres scannerens såkaldte transducer eller lyd hoved ind i recipientens endetarm og presses så tæt ned mod den drægtige bør som muligt. På scannerens skærm kan man - efter nogen søgen - se om fostret har et penisanlæg lige bag navlen eller et clitoris anlæg under halen. Sikkerheden på undersøgelsen er omkring 90%. I nogle få tilfælde kan det ikke lade sig gøre at få et så tydeligt billede af fostret, at kønnet kan bestemmes. Undersøgelsen skader ikke fostret.

SMITTERISIKO

Risikoen for at overføre smitte er ved forskriftsmæssigt udført embryotransplantation uhyre lille. Køb af embryoner anses for at være den sikreste metode til indførsel af nyt avlsmateriale fra udlandet, sikrere end køb af både levende dyr og sæd. I konsekvens heraf er der da også sket betydelige lettelser af procedurerne omkring import af embryoner, f. eks. kan embryoner fra EF og USA overføres direkte i købers besætning, uden særlige karantæneforanstaltninger, og omvendt kan embryoner udskyllet i almindelige danske besætninger uden videre eksporteres.

SPECIELT FOR KØBERE AF FROSNE EMBRYONER

I de senere år er det blevet almindeligere at købe embryoner, indenlands og udenlands. Undertiden har køberne ikke forud haft erfaring med ægtransplantation. Men for at undgå, at erhvervelsen af de ofte kostbare embryoner skal blive en skuffelse, så er det vigtigt, at køberen har kendskab til nogle grundlæggende forhold vedrørende ægtransplantation:

1) Recipienter

Kvaliteten af frosne embryoner kan være forskellig, også selv om de er af første kvalitet, og det er ikke noget en køber har ret store muligheder for at ændre. Alligevel har den der køber embryoner stor indflydelse på det endelige resultat i form af antallet af drægtigheder, nemlig ved at sørge for gode recipienter:

- A) For det første gennem udvalget af recipienter. **Kvier er alt andet lige bedre recipienter end køer.** Det gælder udpræget for SDM, i mindre grad for jersey. Mindst forskel mellem kviers og køers frugtbarhed er der hos kødkvæg, formentlig fordi mælkeproduktionen der ikke er så belastende.

Kvier skal ikke være for gamle eller fede. Særligt uheldigt er det naturligvis at bruge kvier der ikke er blevet drægtige til normal alder, enten fordi de ikke har vist brunst eller fordi de er løbet om gentagne gange.

Hvis man **indkøber recipientkvier**, skal man sikre sig at de har en for deres alder normal størrelse. Kvier, som i en længere periode under deres opvækst har været udsat for sult eller fejlnæring, er dårlige recipienter. Efter indkøbet er det klogest at give kvierne en tilpasningsperiode på mindst en måned før de anvendes som recipienter.

I perioden omkring transplantationen bør recipienter **ikke** udsættes for **stress**. F. eks. bør de ikke flyttes, og andre kvier bør ikke lukkes sammen med dem fra ca. 14 dage før transplantationen til 14 dage efter. Udbinding af kvier bør ikke ske før tidligst 14 dage efter overførslen af embryoner.

Hvis der anvendes **køer**, skal de helst være mindst 3 måneder fra kælvningen, og de må ikke have haft børbetændelse eller æggestokcyster. Huldet skal være middel, specielt må køerne ikke være for magre. De må ikke have haft ketose eller løbedrejning. Smertefulde klov- og benlidelser (f. eks. digital dermatitis, såleknusning og hasebetændelse) påvirker resultatet negativt. Gamle køer er alt andet lige ikke så gode recipienter som unge køer.

- B) **Fodringen** af recipientkvier bør ikke være for stærk. Der bør indgå **græsmarksprodukter** i rationen, dog helst ikke 3-4-5 slætsensilage af tvivlsom kvalitet. Foderstrukturen skal være god, evt. via groft hø eller frøgræshalm. Majsensilage må ikke udgøre for stor en andel, bl. a. for at undgå at kvierne bliver for fede. **Rapsskrå** er erfaringsmæssigt en god proteinkilde. Vitaminforsyningen skal være rigelig, i tvivlstilfælde gives en støddosering med ADE-vitamin 3 – 4 uger før transplantationen.

- C) **Brunstkontrollen** er helt afgørende for resultatet. **Embryonerne** er skyllet ud og frosset 7 – 7½ døgn efter at donoren var brunstig, og derfor skal de **overføres** til recipienter 7 – 7½ døgn efter **begyndelsen af recipienternes brunst**. Ved brunst forstås i denne forbindelse **stående brunst**.

Det vil sige, at hvis en recipient står for opspring en mandag morgen eller formiddag, skal embryonet overføres den næstfølgende mandag formiddag eller eftermiddag. Begynder en recipient at stå for opspring en mandag eftermiddag eller aften, skal embryonet overføres

den næstfølgende mandag eftermiddag / aften eller tirsdag formiddag. Frosne embryoner tåler ikke afvigelser hvad angår afstand fra brunst til overførsel lige så godt som ikke frosne, såkaldt ”varme” embryoner.

Det har været fremført, at drægtighedschancen skulle være højere ved overførsel efter **spontan brunst** end ved overførsel efter **brunst fremkaldt med prostaglandin**. Talrige undersøgelser, her i landet og i udlandet, har imidlertid vist, at dette ikke er rigtigt. En brunst er en brunst, uanset om den er kommet spontant eller er fremkaldt ved prostaglandinbehandling.

Problemet med prostaglandinbehandling er snarere et andet, nemlig at det bliver **vanskeligere at gennemføre en sikker brunstkontrol når antallet af brunstige dyr i en flok øges**. Er der én brunstig kvie i en flok, er den relativt let at spotte. Er der 25, er det praktisk taget umuligt at fastslå et sikkert brunsttidspunkt for alle. De kvier, der først bliver brunstige, trækker andre med sig, og der er talrige eksempler på, at drægtige kvier agerer brunstige, så selv særdeles erfarne folk er overbevist om, at de også er det.

Man skal ikke forlade sig på, at den dyrlæge eller inseminør, der 7 dage senere skal overføre embryoner, kan sortere de kvier fra, som ikke har været brunstige indenfor det accepterede tidsinterval. Ingen mennesker kan med sikkerhed føle forskel på om en recipient har været brunstig for 6, 7, 8 eller for den sags skyld 12 eller 14 dage siden.

Derfor skal man være indstillet på at bruge **megen tid på brunstkontrollen**, også sen aften/nat, og man skal helst se både at recipienterne vil springe og selv stå for opspring. Blødning er, når den kan konstateres, naturligvis et særdeles nyttigt bevis på, at der har været en brunst. Aktivitetsmålere kan være et værdifuldt hjælpemiddel i brunstkontrollen.

2) Embryonernes kvalitet

Embryoner som sælges er, eller bør i hvert fald være, af bedste kvalitet. Men der eksisterer **ingen objektive**, praktisk anvendelige **mål for embryokvalitet**. Tværtimod er der tale om en subjektiv vurdering, som kan variere fra person til person.

Og selv når den samme person har foretaget vurderingen, kan der for embryoner af tilsyneladende samme kvalitet være ret **store forskelle i drægtighedsprocenter fra donor til donor og fra skylning til skylning**. Opgørelser fra bl. a. Frankrig har endog vist, at **den anvendte tyr** kan have indflydelse ikke blot på æggets chance for at blive befrugtet, men også på det befrugtede ægs chance for at resultere i en drægtighed – uafhængigt af den tilsyneladende embryokvalitet. Undersøgelser har endvidere vist, at i gennemsnit **35 – 40% af cellerne i et embryo dør under frysningen og optøningen**, men også, at embryoner fra nogle donorer klarer frysning og optøning bedre end embryoner fra andre donorer.

Disse forskelle kan ingen mennesker – sælger eller skylledyrlæge – naturligvis lastes for. Men det betyder måske, at en køber af mange embryoner gør klogt i at sprede indkøbene på flere forskellige donorer og skylninger.