Artykuł przeglądowy **Review**

Rozwój metod transferu zarodków u świń

JĘDRZEJ M. JAŚKOWSKI, KLAUS PETER BRÜSSOW*, PAWEŁ ANTOSIK

Katedra Weterynarii Rolniczej Wydziału Hodowli i Biologii Zwierząt AR, ul. Wojska Polskiego 52, 60-625 Poznań
*Forschungsinstitut für die Biologie landwirtschaftlicher Nutztiere, Dummerstorf, Deutschland

Jaśkowski J. M., Brüssow K.-P., Antosik P.

Development of embryotransfer methods in swine

Summary

Porcine embryo transfers have been performed for approximately 50 years, and surgical methods have been proven to be reliable for the transfer of embryos. On the 4th or 5th day after twelve to twenty embryos in stages of a few cells of morulae and blastocysts are moved into an isolated uterus horn or oviduct. Pregnancy rates and litter sizes after conventional surgery were 12% to 100% and 6 to 8 piglets, respectively. Its efficacy is dependent on age of recipients, the stage of embryo development, numbers of yellow bodies on the ovaries of the recipients, numbers and place in the uterus horn where embryos were transferred. Less invasive than surgical methods is endoscopic embryo transfer. Lately, the mini-laparotomy for embryo transfer has been described. This method consists of a midventral incision of 4cm enabling the surgeon to grasp a uterus horn with two fingers and exteriorize it. The results are comparable to conventional methods. The cervix is a barrier for transferring porcine embryos non-surgically. Different instruments for nonsurgical embryo transfer in swine were used. Most of them were modified versions of artificial spirette catheters and special instruments. The obtained results differed: from 30 to 60% of pregnancies and 1.8 to 6.2 live born piglets. The modified flexible catheters originally developed for deep intrauterine insemination in pigs were used to insert swine embryos. The time required to successfully complete the procedure of embryo transfer depends on the type of female, and lasts about 2.5 minutes. The farrowing rate was 70.8% and 6.9 piglets were born on average. This new method offers new possibilities for the nonsurgical transfer of embryos in swine.

Keywords: swine, embryo transfer

Transfer zarodków u świń, w przeciwieństwie do bydła nie znalazł dotychczas szerszego praktycznego zastosowania. Z danych statystycznych wynika, że w 2000 r. przeprowadzono na świecie zaledwie 260 zabiegów pozyskiwania zarodków. W tym samym roku dokonano transferu 7091 zarodków, prawie wyłącznie świeżych (27).

Mniejsze zainteresowanie transferem zarodków u świń wynikało z kilku powodów. W przeciwieństwie do krów, świnie cechuje znacznie większa plenność. Równocześnie świnie należą do zwierząt poliestralnych, ciąża ich trwa stosunkowo krótko, krótki jest także odstęp pokoleń, co znacznie ogranicza wykorzystanie transferu zarodków jako metody pozwalającej na znaczne przyspieszenie postępu hodowlanego. Jednym z istotnych elementów hamujących rozwój transferu zarodków u świń była dotąd także konieczność posługiwania się krwawymi metodami pozyskiwania oraz przenoszenia zarodków (2, 14, 15). Konieczność ta wynika z charakterystycznej budowy układu rozrodczego świń; długiej, trudnej do penetracji kateterem szyjki macicznej oraz długich rogów macicznych wykluczających głęboką depozycję zarodków przy pomocy dostępnych instrumentów. Nie bez znaczenia dla rozwoju metody w celach komercyjnych jest także stosunkowo wąska relacja dawczyń do biorczyń wyrażana stosunkiem 1 : 1 lub 1 : 1,5. Z drugiej strony, wydaje się, że transfer zarodków u świń w najbliższej przyszłości zyskiwać będzie na znaczeniu, biorąc pod uwagę możliwości szerszego wykorzystania bardziej złożonych technologii, takich jak hodowla zarodków *in vitro*, uzyskiwanie zwierząt transgenicznych i klonowanie. Pewien wpływ na rozwój metod przenoszenia zarodków będzie miał także rosnący obrót izolowanym materiałem biologicznym, ratowanie zagrożonych wyginięciem ras świń oraz eliminacja ryzyka transmisji chorób (6, 17, 22).

Transfer zarodków u świń jest kompleksem zabiegów, obejmujących dobór i hormonalne przygotowanie dawczyń, pozyskiwanie zarodków, ich obróbkę *in vitro* (ocena, sortowanie, krótkotrwała hodowla i transport), jak również przenoszenie zarodków do biorczyń o cyklu rujowym optymalnie zsynchronizowanym z cyklem rujowym dawczyń.

W niniejszym opracowaniu przedstawiono wyłącznie rozwój metod przenoszenia zarodków oraz ich efektywność u świń.

Przez długi czas jedyną dostępną metodą umożliwiającą depozycję zarodków w drogach rodnych był ich transfer metodą krwawą. Biorczyniami są lochy

lub loszki poddawane synchronizacji rui. W 4. lub 5. dniu po rui, bezpośrednio przed przystąpieniem do zabiegu chirurgicznego odpowiednio przygotowane farmakologicznie biorczynie układane są na grzbiecie i ustalane. Następnie w linii białej dokonywano laparotomi i ustalano macicę. Zarodki, w zależności od ich stopnia rozwoju wprowadzano wraz z niewielką ilością pożywki (0,3 ml), w liczbie około 20 do światła jajowodu lub macicy przy pomocy szklanej pipety (3, 8). Po zdeponowaniu zarodków dokonywano repozycji macicy i kilkoma szwami zamykano jamę brzuszną. Metoda chirurgiczna gwarantuje stosunkowo wysoki odsetek ciąż oraz satysfakcjonującą wielkość miotu. Efektywność metody zależy m.in. od wieku biorczyń, liczby wprowadzanych zarodków, ich stadium rozwoju i jakości, czasu przechowywania oraz stopnia synchronizacji dawczyni i biorczyni (2, 3, 8, 13). Jak wykazano, poziom progesteronu we krwi u dawczyń jest w dniu transferu wyższy niż u biorczyń. Analogiczne stężenia notuje się u biorczyń dopiero po upływie 24 godzin. Dla uzyskania lepszych wyników sugeruje się nieznaczne przesunięcie terminu transferu zarodków (4). W przypadku transferu zarodków do jajowodu biorczyń opóźnienie transferu o 24 godziny w porównaniu z terminem rui u dawczyń wpływa korzystnie na zwiększenie masy miotu, wielkość powierzchni łożyska i długość miejsca implantacji (31).

Coraz większe uznanie znajduje inna, mniej inwazyjna metoda przenoszenia zarodków z wykorzystaniem endoskopu (1, 5, 23, 26). Metoda ta stosowana była z powodzeniem w badaniach biomedycznych do diagnozowania zmian patologicznych na jajnikach, obserwacji dojrzewania pęcherzyków jajnikowych, ich owulacji, pozyskiwania zarodków, inseminacji dojajowodowej oraz OPU (5). Zabieg transferu zarodków jest stosunkowo prosty i przebiega w identyczny sposób jak pozyskiwanie zarodków metodą endoskopową. Po przebiciu powłok brzusznych i uchwyceniu jajowodu przy pomocy atraumatycznych szczypiec, przez stalowy kateter wprowadzane są zarodki z 0,1 ml pożywki do światła jajowodu bądź jednego z rogów macicy. Pierwsze próby transferu zarodków z wykorzystaniem endoskopu pozwoliły uzyskiwać zaledwie 14% ciąży, z których nie urodziło się żadne prosię. Pierwsze prosięta urodzone w wyniku zastosowania tej metody opisano w 1997 roku (1). Miejsce wprowadzenia zarodków nie różnicuje odsetka uzyskiwanych ciąży. Po wprowadzeniu zarodków do jajowodów stwierdzano ciążę u 33% biorczyń, natomiast po ich depozycji w macicy u 31,5%. Liczby rodzących się prosiąt nie były satysfakcjonujące i wynosiły od 1,8 w przypadku deponowania zarodków w jajowodach do 2,3 po umieszczeniu zarodków w macicy. Ostatnio przedstawiono endoskopową metodę przenoszenia zarodków nadającą się do rutynowej praktyki i pozwalającą na uzyskiwanie 90% odsetka ciężarnych samic (7). Uzyskane wyniki wskazują na możliwość wykorzystania w praktyce mało inwazyjnych technik przenoszenia zarodków. Pewnym mankamentem metody jest konieczność posiadania odpowiedniego ekwipunku oraz wyspecjalizowanego personelu.

Ostatnio opisano prostą metodę przenoszenia zarodków z zastosowaniem minilaparotomii (16). Polega ona na wykonaniu około 4 cm nacięcia pomiędzy drugą i trzecią parą sutek. Następnie 3 cm pętlę rogu macicy chwyta się pomiędzy palec wskazujący oraz duży i wydobywa na zewnętrz. W kolejnym kroku przy pomocy igły do światła macicy wprowadzane są zarodki. Metoda ta nie wymaga dokładnego ustalania miejsca depozycji zarodków. W badaniach porównawczych, w których oceniano efektywność metody minilaparoskopowej oraz tradycyjnie stosowanej metody chirurgicznej stwierdzono, że odsetek ciężarnych świń oraz wielkość miotu są porównywalne i wynoszą odpowiednio 67% i 60%, wielkość miotu zaś 6,2 i 7,4 prosiąt. Według autorów, istnieją realne szanse na wykorzystanie minilaparotomii w komercyjnym transferze zarodków. Sumaryczne zestawienie efektów krwawych technik przenoszenia świeżych zarodków u świń przedstawia tab. 1.

Badania nad bezkrwawym przenoszeniem zarodków u świń mają stosunkowo długą historię. Pierwszą ciążę, po przeniesieniu świeżych zarodków świńskich

Tab. 1. Sumaryczne zestawienie efektywności krwawych metod przenoszenia świeżych zarodków u świń

Metoda	Liczba biorczyń	Liczba zarodków	Miejsce depozycji	Stadium rozwojowe zarodka	% ciąży	Wielkość miotu	Autor
chirurgiczna (laparotomia)	19	13,1	róg macicy	morula do blastocysty	58,0	6,7	Brüssow i wsp. (2)
	58	12-20	jajowód	2 blastomerowe zarodki do mourli	56,9	7,2	Brüssow (3)
	54	12-20	róg macicy	morula do ekspandującej blastocysty	70,4	8,1	Brüssow (3)
	4	19-20	róg macicy	morula do blastocysty	75,0	11,8	Rátky i wsp. (23)
	20	18	róg macicy	blastocysty	60,0	7,4	Huang i wsp. (16)
endoskopowa	27	15-30	jajowód	2, 4 i 8 blastomerowe zarodki	33,0	1,8	Besenfelder i wsp. (1)
	12	23	róg macicy	morula do blastocysty	41,6	3,2	Besenfelder i wsp. (1)
	4	17,7	róg macicy	morula do blastocysty	50,0	5,8	Rátky i wsp. (23)
mini-laparotomia	15	18	róg macicy	blastocysty	67,0	6,2	Huang i wsp. (16)

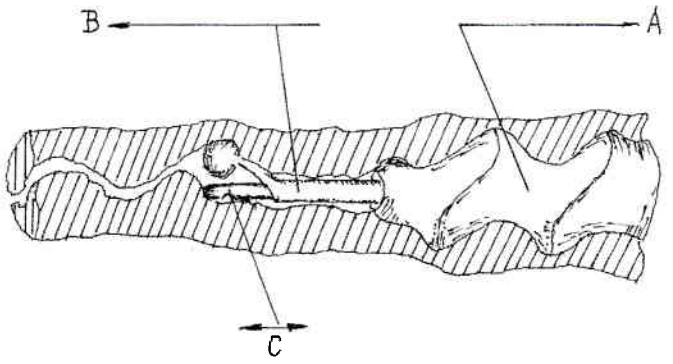
uzyskali Polge i Day w 1968 roku (21). Sukces ten powtórzyli po blisko 20 latach Sims i First, wprowadzając zarodki do macicy biorczyń przy pomocy spiralnego katetera, analogicznego do stosowanego podczas inseminacji (cyt. za 17, 29). Model spiralnego, plastikowego lub gumowego katetera z okleiną winylową, wykorzystywany był także na początku lat 90. (24). W badaniach tych zarodki w stadium ośmiu blastomerów do wczesnej blastocysty przenoszono do macicy 58 loszek, uzyskując 6 ciąż. Dwie biorczynie poddano ubojowi, stwierdzając w macicy obecność odp. dziewięciu i trzech normalnych płodów. Trzy kolejne biorczynie urodziły, odpowiednio, trzy, sześć i siedem żywych prosiąt, natomiast ostatnia poroniła między 45. a 60. dniem ciąży.

Prosty i oryginalny kateter do przenoszenia zarodków u świń opracowali w 1994 r. Hazeleger i wsp. (11). Eksperyment, w którym do macicy biorczyń deponowano zarodki w stadium moruli i blastocysty udowodnił, że istnieje możliwość skutecznego przenoszenia zarodków pozwalająca na uzyskiwanie wysokiego odsetka ciąży (11, 12). Opisany przyrząd składał się ze stalowego zgłębnika zagiętego na jednym z końców pod kątem prostym. Przy jego pomocy penetrowano szyjkę maciczną. Do stalowego zgłębnika przymocowana była sonda – plastikowa rureczka, przy pomocy której wprowadzano zarodki. Odsetek ciężarnych biorczyń istotnie zależał od rodzaju wprowadzanych do macicy zarodków. O ile w macicy deponowano zarodki w stadium moruli i blastocysty prośnych było 55% biorczyń, o tyle po wprowadzeniu wyłącznie blastocyst – tylko 10%. Odsetek ciąży zależał też od rozmiarów blastocysty oraz dawki PMSG użytej do wywołania rui, nie był natomiast zależny od wysokości dawki hCG stosowanej do wywoływania owulacji. Równocześnie, jeżeli średnica blastocysty była mniejsza od 158 mikormetrów, odsetek prośnych biorczyń wynosił 43%, natomiast w przypadku kiedy średnica ta była większa od 158 mikrometrów – 77% (13). Przeciętna wielkość miotu była wysoka i wynosiła 6,7 prosiąt. Kilka miesięcy później, używając identycznego katetera, którym wprowadzano do macicy od 28 do 30 zarodków wyłącznie w stadium wczesnej blastocysty, uzyskiwano 59% ciąży i 10,9 prosiąt w miocie (11).

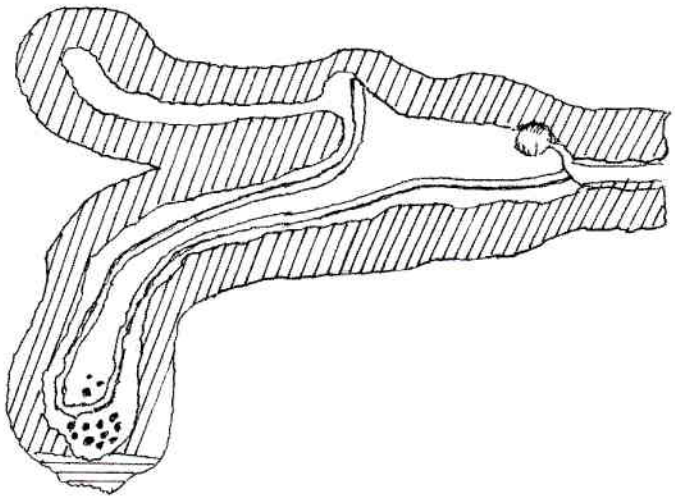
Udoskonaloną postacią przedstawionych wyżej kateterów są stosowane do komercyjnego transferu zarodków u świń w Holandii kateter Swinelet® (25) oraz kateter firmy Minitüb (20, 25). Ryc. 1 przedstawia spiralny kateter do przenoszenia zarodków u świń firmy Minitüb. Oryginalny kateter do przenoszenia zarodków u świń opisano w pod koniec lat dziewięćdziesiątych (12, 22, 28). Kateter ten składał się z trzech części. Pierwszą stanowił kateter spiralny wykorzystywany do sztucznego unasienniania świń. Do jego wnętrza wprowadzano transcerwikalną kaniulę, która zakończona była kulką, ułatwiającą pasaż kateteru przez szyjkę maciczną. Trzecią część natomiast stanowiła

Ryc. 1. Kateter firmy Minitüb

elastyczna rureczka o średnicy 5 mm i długości około 1,5 metra. Zadaniem wprowadzanego do szyjki macicznej katetera spiralnego (spirette) było jej uszczelnianie i ustalanie. Transcerwikalna kanilua wkręcana delikatnie zgodnie z ruchem wskazówek zegara do kanału szyjki macicznej, służyła do osiągnięcia światła trzonu macicy. W kolejnym kroku wprowadzano sondę. Jest ona na tyle sztywna, że można ją bez trudu wprowadzać do macicy i na tyle elastyczna, że po dotarciu do szczytu rogu macicznego zawija się w pętlę, koniec jej zaś opiera się o ścianę trzonu macicy. Pojawienie się oporu podczas wprowadzania sondy jest dowodem na jej właściwe ułożenie. Kolejnym krokiem jest głęboka depozycja zarodków. Ryc. 2 przedstawia sondę umieszczoną w kanale szyjki macicznej. Ryc. 3 przedstawia miejsce depozycji zarodków z zastosowaniem opisanego kateteru. W badaniach amerykańskich zarodki – przeciętnie 22,5 – wprowadzano do macicy 16 biorczyń. Część z biorczyń stymulowano hormonalnie, część przejawiała przed transferem naturalną ruję. Bezpośrednio przed transferem loszki biorczynie poddawano anestezji. Średni odsetek ciąży, z których narodziły się prosięta wyniósł 28,7% (od 12,9 do 55,6%). Wielkość miotu wynosiła średnio 6,2 prosięcia (od 4 do 10 w miocie). Warto dodać, że najwięcej prosiąt narodziło się u tych biorczyń, u których zarodki wprowadzano po naturalnej rui. Podobny kateter,



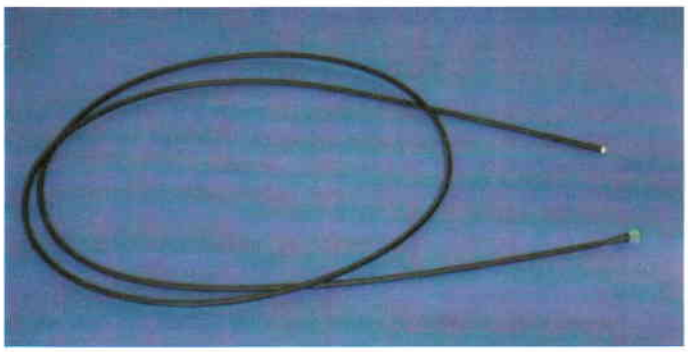
Ryc. 2. Kateter skonstruowany przez Amerykanów (22). Sonda i kaniula transcerwikalna są wprowadzane poprzez zmodyfikowany kateter spiralny (Spirette). Kateter spiralny jest używany do zamknięcia szyjki, jej usztywnienia i wyprostowania (ruch A). Następnie wprowadzana jest transcerwikalna kaniula poprzez jej wkręcenie zgodnie z ruchem wskazówek zegara i popchnięcie (ruch B). Zaraz po sforsowaniu szyjki przy pomocy kaniuli transcerwikalnej, można swobodnie wyprowadzić sondę (ruch C3).



Ryc. 3. Depozycja zarodków w macicy. Kiedy transcerwikalna kaniula znajduje się w świetle trzonu macicy, uwalniana jest sonda i wprowadzany jest płyn zawierający zarodki. Kiedy osiągnie on szczyt rogu macicy, plastikowa rureczka, z której jest zbudowana sonda, zawija się w pętlę. Sonda jest na tyle twarda, że zapewnia wystarczającą sztywność dla jej pasażu przez macicę, z drugiej strony na tyle miękka, że możliwe jest utworzenie pętli wewnątrz macicy. Po ulokowaniu do światła rogu macicy uwalniane są zarodki

którego modyfikację stanowił instrument przedstawiany powyżej, szczegółowo opisywano wcześniej (18). Składał się on także ze spiralnego katetera do inseminacji świń, transcerwikalnej kaniuli o wyglądzie śruby i skoku, umożliwiającym jej wprowadzanie poprzez fałdy kanału szyjki macicznej do macicy oraz właściwej, domacicznej sondy. Dodatkowym elementem był pręt do ustalenia głębokości wprowadzenia kaniuli transcerwikalnej do macicy. Zastosowanie tego modelu umożliwiło uzyskanie ciąży u 31% świń biorczyń i przeciętnie 6,1 prosiąt w miocie. W innych badaniach, korzystając z podobnego kateteru i wprowadzając do macicy średnio 11,7 zarodków, uzyskiwano 21,8% ciąży i 4,3 prosiąt w miocie (9). Dla porównania, zarodki pozyskiwane od tych samych biorczyń i przenoszone metodą krwawą pozwalały uzyskiwać 63,2% ciąży, z których narodziło się przeciętnie 7,1 prosiąt. Mankamentem przedstawionych wyżej kateterów była ich stosunkowo skomplikowana budowa. Przypuszczalnie z tego powodu nie cieszyły się one szerszym zainteresowaniem.

Znakomity kateter do bezkrwawego transferu zarodków opisali niedawno Hiszpanie (19, 20). Używali oni elastycznego kateteru, stosowanego wcześniej do głębokiego unasienniania świń, a nazwanego od miejsca jego opracowania, kateterem Murcia. Składa się on z dwóch części. Pierwszą jest zmodyfikowany kateter do sztucznego unasienniania, drugą natomiast, ponad metrowej długości (1,2 metra) sonda o średnicy 4 mm i świetle wewnętrznym 0,7 mm. Sztywność materiału, z którego wykonana jest sonda, zapewnia swobodne jej przesuwanie wewnątrz dróg rodnych biorczyni, natomiast elastyczność – odpowiednie jej ułożenie wewnątrz rogu. W badaniach wstępnych kontrolowano laparoskopowo ułożenie sondy wewnątrz rogu macicy. Kateter prawidłowo założony wyginał róg macicy w charakterystyczny łuk. Niezwykła długość sondy z kolei zapewnia głęboką depozycję zarodków. Z przeprowadzonych badań wynika, że głębokość, na jaką wprowadzano kateter do macicy wynosiła od 14 do 77 cm – średnio 55,2 cm. Jak podkreślają autorzy, zabieg transferu jest niezwykle prosty. Przeciętny czas niezbędny dla wprowadzenia zarodków wynosił około 2,4 minut i był nieco dłuższy u loszek. Równocześnie trudności, na jakie napotykano podczas wprowadzania kateteru w 83,3% uznano za nieznaczne, w pozostałych 16,7% przypadków za średnie do znacznych. Podobnie, zachowanie się świń podczas transferu zarodków określano w 87,5% jako spokojne. Kateter Murcia testowano na kilkudziesięciu biorczyniach, z których 70,8% okazało się prośnych rodząc średnio 6,9 prosiąt. Ryc. 4 przedstawia kateter Murcia.



Ryc. 4. Kateter Murcia

Elastyczny kateter posiada szereg zalet. Po pierwsze, w porównaniu z wcześniejszymi modelami kateterów, jest prosty i łatwy w użyciu. Po drugie, jako jedyny zapewnia głęboką depozycję zarodków. Z niektórych badań wiadomo, że wprowadzenie zarodków do trzonu macicy umożliwia uzyskanie 12% ciąży (30). Ich zdeponowanie w środkowej części rogu względnie w jego szczycie pozwala uzyskiwać odpowiednio 88% i 81% ciąży. Po trzecie, jest przyjazny dla biorczyń. Biorczynie mogą być wykorzystywane wielokrotnie, nadto nie wymagają wcześniejszego przygotowania farmakologicznego. Po czwarte wreszcie – nadaje się do wielokrotnego użycia.

Tab. 2 przedstawia sumaryczne zestawienie efektywności bezkrwawych metod przenoszenia zarodków u świń. Wynika z niej, że do bezkrwawego transferu zarodków u świń stosowane są różne narzędzia. Różna jest także liczba i stadium rozwoju zarodków, miejsce ich depozycji oraz ilość wprowadzanej z zarodkami pożywki. Doskonalenie tych metod, a także świadomość wpływu omówionych czynników ryzyka pozwala uzyskiwać coraz lepsze rezultaty w odniesieniu do odsetka ciężarnych biorczyń oraz wielkości miotów.

Reasumując, bezkrwawy transfer zarodków u świń umożliwia w obecnej chwili uzyskiwanie wyników

Tab. 2. Sumaryczne zestawienie bezkrwawych metod przenoszenia zarodków u świń

Rodzaj katetera[1]	Znieczulenie	Liczba biorczyń	Liczba zarodków	Ilość wprowadzonej pożywki (w ml)	Stadium rozwojowe zarodka	% ciąży	Wielkość miotu	Dane referencyjne
AI+SI	Tak	58	25-40	10-12	8 blastomerów do blastocysty	21,7	4,3	Reichenbach i wsp. (24)
AI	Tak	46	12,0	10-12	4 blastomerowe do blastocysty	22,0	4,3	Galvin i wsp. (10)
AI	Nie	21	17,0	≤ 0,1	morula do blastocysty	33,0	6,7	Hazeleger i wsp. (12)
AI+SI	Tak	16	22,5	< 0,3	4 komórkowe do blastocysty	31,0	6,2	Li i wsp. (18)
AI	Nie	25	18,0	30-50	4 blastomerowe do blastocysty	64,0	3,1	Yonemura i wsp. (29)
SI	Nie	45	25	brak danych	blastocysta	100,0	3,8	Smits (25)
SI	Nie	24	31	0,3	morula do blastocysty	70,8	6,9	Martinez i wsp. (20)

Objaśnienia: [1] AI – zmodyfikowany kateter do sztucznego unasienniania, SI – specjalny instrument

nieodbiegających od dotychczas używanych metod chirurgicznych. Fakt ten znacząco zwiększa możliwości wykorzystania przenoszenia zarodków w praktyce oraz sprzyja dynamicznemu rozwojowi biotechnologii stosowanych w rozrodzie świń.

Piśmiennictwo

1. *Besenfelder U., Mödl J., Mulle M., Brem G.*: Endoscopic embryo-collection and embryotransfer into the oviduct and the uterus of pigs. Theriogenology 1997, 47, 1051-1060.
2. *Brüssow K.-P., Kauffold M.*: Embryotrasnfer beim Schwein – ein Beitrag zur Methode. Mh. Vet.-Med. 1989, 44, 312-317.
3. *Brüssow K.-P.*: Ergebnisse der Übertragung von Embryonen in den Eileiter und Uterus beim Schwein. Mh. Vet.-Med. 1990, 45, 562-565.
4. *Brüssow K.-P., Schneider F.*: Steroidhormonverläufe bei Jungsau-Donoren nach Superovulatiosinduktion und ihr möglicher Einfluss auf Embryonenqualität und Transfererfolg. Mh. Vet.-Med. 1993, 48, 405-411.
5. *Brüssow K.-P., Rátky J.*: Endoscopic collection of porcine embryos. Reprod. Dom. Anim. 1996, 131, 711-715.
6. *Cameron R. D., Durack M., Fogarty R., Putra D. K., McVeigh J.*: Practical experience with commercial embryo transfer in pigs. Aust. Vet. J. 1989, 66, 314-318.
7. *Day B. N.*: Reproductive bitechnologies: current status in porcine reproduction. Anim. Reprod. Sci. 2000, 60-61, 161-172.
8. *Davies D. L., James J. E.*: Embryo transfer in swine. Med. Vet. Pract. 1984, 65, 191-195.
9. *Durco-Streverink D. W. B., Smits J. M., Hazeleger W., Merks J. W. M.*: Reproduction rsults after non-surgical embryo transfer in pigs. Theriogenology 2001, 55, 1, 361.
10. *Galvin J. M., Killian D. B., Stewart A. N. V.*: A procedure for succesfull non surgical embryo transfer in swine. Theriogenology 1994, 41, 1279-1289.
11. *Hazeleger W., Kemp B.*: Farrowing rate and litter size after transcervical embryo transfer in sows. Reprod. Dom. Anim. 1994, 29, 482-487.
12. *Hazeleger W., Jenneskens P., Kemp B.*: Non-sugrical transfer of porcine blastocysts. Theriogenology 1995, 43, 232.
13. *Hazeleger W., Kemp B.*: State of the art in pig embryo transfer. Theriogenology 1999, 51, 81-90.
14. *Hazeleger W., Bouwmann E. G., Noorduizen J. P., Kemp B.*: Effect of superovulation induction on embryonic development on day 5 and subsequent development and survival after nonsurgical embryo transfer in pigs. Theriogenology 2000, 52, 1063-1070.
15. *Hazeleger W., Kemp B.*: Recent developments in pig embryo transfer. Theriogenology 2001, 56, 1321-1331.
16. *Huang W. T., Wallenhorst C. K., Wallenhorst S., Holtz W.*: Transfer of porcine embryos trough mini-laparotomy. Theriogenology 2002, 57, 1533-1537.
17. *Jaśkowski J. M.*: Transfer zarodków u bydła i świń – praktyczne wykorzystanie w kraju i Europie, stosowane metody, aktywność zespołów ET, podobieństwa i różnice, [w:] Malinowski E., Kłosowska A., Twardoń J. (red.), Zaburzenia w rozrodzie zwierząt wysokoprodukcyjnych. PIWet. Puławy 2003, 84-89.
18. *Li J., Rieke A., Day B. N., Prather R. S.*: Technical note: porcine non-surgical embryo transfer. J. Anim. Sci. 1996, 74, 2263.
19. *Martinez E. A., Vazquez J. M., Roca J., Lucas X., Gil M. A., Vazquez J. L.*: Deep intrauterine insemination and embryo transfer in pigs. Reprod. Suppl. 2001, 58, 301-311.
20. *Martinez E. A., Caamano J. N., Gil M. A., Rieke A., McCaule T. C., Cantley T., Vazquez J. M., Roca J., Vazquez J. L., Bidon B. A., Murphy C. N., Prather R. S., Day B. N.*: Successful nonsurgical deep uterine embryo transfer in pigs. Theriogenology 2004, 61, 137-146.
21. *Polge C., Day B. N.*: Pregnancy following nonsurgical egg transfer in pigs. Vet. Rec. 1968, 82, 712.
22. *Prather R. S., Rieke A., Day B. N.*: Non-surgical embryo transfer in pigs: introduction of new genetics with little risk of disease transmission. UMC Anim. Sci. Departmental Report 1998, 43-45.
23. *Rátky J., Brüssow K.-P., Solti L., Torner H., Sarlos P.*: Ovarian response, ebryo recovery and results of embryo transfer in a hungarian native pigs. Theriogenology 2001, 56, 968-978.
24. *Reichenbach H. D., Mödl J., Brem G.*: Piglets born after transcervical transfer of embryos into recipient gilts. Vet. Rec. 1993, 13, 36-39.
25. *Smits H.*: Non surgical embryo transfer (ns-ET) in piogs. Adv. Pork Prod. 2002, 13, 1-7.
26. *Stein-Stefani J., Holtz W.*: Surgical and endoscopic transfer of porcine embryos to different uterine sites. Theriogenology 1987, 27, 278 abstr.
27. *Thibier M., Wagner H. G.*: World statistics for artificial insemination in cattle. Liv. Prod. Sci. 2002, 74, 203-212.
28. *Twardoń J., Jaśkowski J. M., Kotowicz S.*: Badania nad wywoływaniem superowulacji, techniką uzyskiwania i przenoszenia zarodków u świń. Medycyna Wet. 1999, 55, 433-435.
29. *Yonemura I., Fujuino Y., Irier S., Miura Y.*: Transcervical transfer of porcie embryos under practical conditions. J. Reprod. Dev. 1996, 42, 89-94.
30. *Wallenhorst S., Holtz W.*: Transfer of pig embryos to different uterine sites. J. Anim. Sci. 1999, 77, 2327-2329.
31. *Wilson M. E., Vonnahme K. A., Ford S. P.*: The role of altered uterine-embryo synchrony on conceptus growth in the pig. J. Anim. Sci. 2001, 79, 1863-1867.

Adres autora: prof. dr hab. Jędrzej M. Jaśkowski, ul. Wojska Polskiego 52, 60-625 Poznań

SEGEV G., BANETH G., LEVITIN B., SHLOSBERG A., AROCH I.: Przypadkowe zatrucie 17 psów lazalocydem. (Accidental poisoning of 17 dogs with lasalocid). Vet. Rec. 155, 174-176, 2004 (6)

W okresie 10 dni u 17 psów wystąpiło osłabienie i zaburzenia neurologiczne o różnym nasileniu. U części psów odruchy nerwowe były osłabione, występował ślinotok, duszność, biegunka, część psów leżała. Badanie toksykologiczne krwi metodą półilościowej chromatografii cienkowarstwowej wykazało obecność lazalocydu w ilości 50 mg/kg. Zatrucie wystąpiło po 12 godz. po spożyciu karmy. Dwa psy hospitalizowano, pozostałe leczono u właścicieli. U pięciu psów zastosowano aktywowany węgiel w ilości 1 g/kg. Jeden z hospitalizowanych psów z silnie nasilonymi objawami zatrucia padł po kilku godzinach od momentu rozpoczęcia leczenia. Cztery psy leczone u właścicieli padły, pozostałe wyleczono po 4 dniach.

G.