تقانة التلقيح الاصطناعي

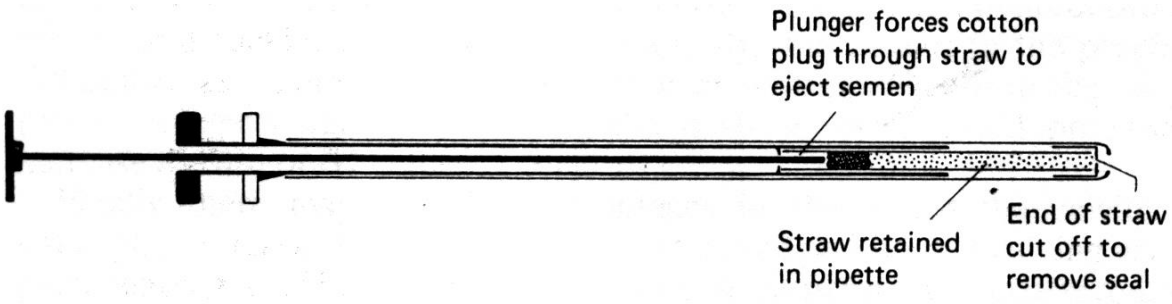
الدكتور محمد سعيد موسى
أستاذ علم التناسل وتقاناته الحيوية /التلقيح الاصطناعي ونقل الاجنة/ كلية الطب البيطري، جامعة حماه

إزالة التجميد عن القشات:
إن تدفئة القشات المجمدة عند الثيران يجب أن تكون سريعة قدر الإمكان. كلاسيكيا، تؤخذ القشة وتغطس في الماء الدافئ بدرجة 34°C – 37°C. نلاحظ إزالة التجميد في بداية الثلاثين ثانية. خلال هذا الوقت من الضروري تدفئة مسدس التلقيح بواسطة حكه أو فركه تحت الإبط. غير أنه إذا كانت درجة الحرارة المحيطية أقل من 20°C فإنه من المفضل الاحتفاظ بالقشة في الماء المدفئ حتى لحظة استعمالها وذلك حتى نتحاشى الصدمة الحرارية للحيوانات المنوية.

ينصح بعض المؤلفين بإجراء إزالة التجميد مباشرة في الجسم الحي أي في عنق الرحم (هذا ما يسمى التلقيح المباشر). تحدث إزالة التجميد بالواقع بدرجة حرارة مسدس التلقيح حيث يبدو بأن الوقت الوسطي بين وضع القشة في مسدس التلقيح و لحظة التلقيح حوالي 60 ثانية.

إن تعرض السائل المنوي لقطرة ماء يمكن أن يحرض على آفات خلوية غير قابلة للعكس وبالتالي موت الحيوانات المنوية. تدخل القشة في مسدس التلقيح بواسطة نهايتها التي تحتوي على السدادة القطنية بينما تقطع النهاية الأخرى بواسطة المقص. يجب أن نجري التلقيح في الـ 15 دقيقة التالية لخروج القشة من السائل الآزوتي. يجب أن يكون مسدس التلقيح و قثطرة التلقيح مغطين بقميص حامي من البلاستيك الذي سيثقب حين إدخال مسدس التلقيح في عنق الرحم.

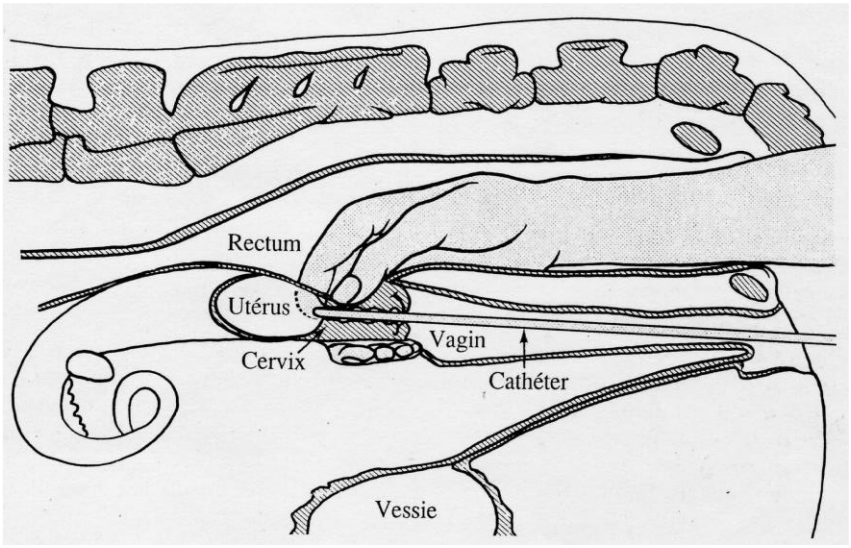
التلقيح:
عند الأبقار:
تتكون عدة التلقيح من مسدس التلقيح بطول 40 – 45 سم وبقطر 5 – 6 مم حاويا على جسم خارجي وكابس داخلي اسطواني حديدي وكذلك من غمد خارجي مصنوع من البلاستيك مثبت على مسدس التلقيح بواسطة حلقة صغيرة.



يوجد طريقتين للتلقيح يمكن أن تستعمل عند الأبقار:

الأولى: الطريق المهبلي وترتكز على استعمال فاتحة مهبل ومصدر ضوئي يسمح بإيداع السائل المنوي (الحيوانات المنوية) في الجزء الخلفي من قناة عنق الرحم. هذه الطريقة عمليا غير مستخدمة لا بل تكون مخصصة لبعض الحالات الفردية. ايضا يوجد المنظار الضوئي المزود بشاشة خارجية تظهر بوضوح فوهة عنق الرحم.

الثانية : الطريق المستقيمي و تعتبر الطريقة الأكثر استعمالا لأنها أكثر سرعة وصحية أكثر لكن أيضا لأنها تقدم إمكانية فحص مسبق للجهاز التناسلي الأنثوي والذي يهدف إلى تأكيد حالة الشبق عند الحيوان (وجود جريب ناضج على سطح المبيض و قساوة قرني الرحم ...). لكن أيضا تساعد على تحرر الأوكسيتوسين والذي بدوره يساعد على صعود الحيوانات المنوية إلى مكان الإخصاب في قناة فالوب. يمسك عنق الرحم يدويا (عبر) جدار المستقيم ثم يشدّ نحو الأمام مما يحول دون تشكيل طيات مهبلية التي يشتبه بها في إعاقة (سير) أو تقدم مسدس التلقيح في التجويف المهبلي. إن إدخال طرف مسدس التلقيح في عنق الرحم يمكن أن يسهّل بوضع الإبهام في الفتحة الخارجية لعنق الرحم مع المحافظة على تثبيت هذا الأخير بواسطة السبابة والوسطى. سيكون عبور عنق الرحم سهلا بتطبيق حركات جانبية وعمودية بواسطة اليد. عندما نعبر العنق فإن مسدس التلقيح سيصبح من السهل توجيهه نحو القرن الأيسر أو الأيمن. بالواقع يمكن أن يتم التلقيح في جسم الرحم أو في عنق الرحم. بكل الأحوال مهما كان المكان التشريحي للتلقيح فإنه من الممكن أن يؤدي إلى عودة للسائل المنوي باتجاه التجويف المهبلي غير أن ذلك يمكن أن يكون أقل عندما يكون التلقيح معمول في الجسم أو القرون الرحمية مما هو عليه في عنق الرحم.



عند الأبقار، نجري التلقيح الصناعي بعد 12 ساعة تقريبا من بداية الشبق. نعتمد بشكل عام على القاعدة الكلاسيكية AM/PM، PM/AM : شبق الصبح - تلقح مساءاً. شبق صباحاً – تلقيح مساءاً هناك بعض الطرق النوعية التي يمكن أن تكون مختلفة عن القاعدة الكلاسيكية و خاصة بعد المعالجة الهرمونية. في هذه الحالة يمكن أن نلجأ إلى إجراء تلقيحين بفارق 24 ساعة.

عند الخيول :

يمكن الاستفادة من التلقيح الاصطناعي ليس فقط بزيادة أعداد الأفراس التي يمكن تلقيحها بقذفة واحدة ولكن أيضاً للتغلب على المشاكل المرتبطة بالتناسل. يوفر التلقيح الاصطناعي طريقة لتخصيب الفرس دون التلامس المباشر بين الفرس والفحل، وهكذا نتجنب انتقال الأمراض من الفرس للفحل والعكس بالعكس. يمكن استخدامه لمنع انتقال الأمراض الزهرية، على سبيل المثال المستدمية التناسلية الخيلية، الحمى الطفحية الجماعية الخيلية، الكلبسيلة الغازية، الزائفة الزنجارية وكذلك الأمراض الأخرى غير

الزهرية مثل حمة الحلاء الخيلية نمط 1، الإجهاض المعدي، الأنفلونزا الخيلية، النحطة، فقر الدم الخمجي الخيلي. يمكن أيضاً معالجة المني بالممددات المحتوية على المضادات الحيوية، أو البنسلين أو بواسطة تقنية التلوث الأدنى والتي تتضمن سلسلة من مراحل التثفيل والغسيل بالممددات المحتوية على المضادات الحيوية. للإقلال من المحتوى البكتيري الطبيعي إلى أدنى درجة وتضاؤل الكائنات الحية الممرضة الكامنة. يعتبر مثل هذا المني مفيداً للأفراس التي تكون قابلة للخمج الرحمي بدرجة عالية.

يمكن أيضاً استخدام التلقيح الاصطناعي لتلقيح الأفراس اللاتي تعاني من شذوذات جسمانية وخصوصاً تلك التي كان سببها الحوادث. يعتبر تلقيح الأفراس اللاتي تعاني من شذوذات وراثية غير مرغوب فيه من جراء الخطورة في إدامة المشكلة. يمكن أيضاً تلقيح الأفراس اللاتي تعاني من المشاكل السلوكية بأمان أكثر دون تعريض الفحل للخطورة. يمكن تلقيح الأفراس اللاتي تم خياطة فرجها من خلال عملية كاسليك دون الاحتياج إلى إعادة فتحه وغلقه مرة أخرى عند كل تلقيح طبيعي. يمكن تدريب الفحول ذات المشاكل السلوكية بالوثب على الدمية، ماحياً خطورتها على الأفراس. في جميع هذه الأحوال، تتنازع الآراء بخصوص ما إذا كان يتعين تلقيح الحيوانات ذات الشذوذات، وعلى وجه الخصوص إذا كان هناك احتمال بتوارثها كخاصية طبيعية. أخيراً، يمكن الاستفادة من التلقيح الاصطناعي بالإمداد الفعلي للعمر التناسلي للفحل عقب نفوقه بفترة طويلة.

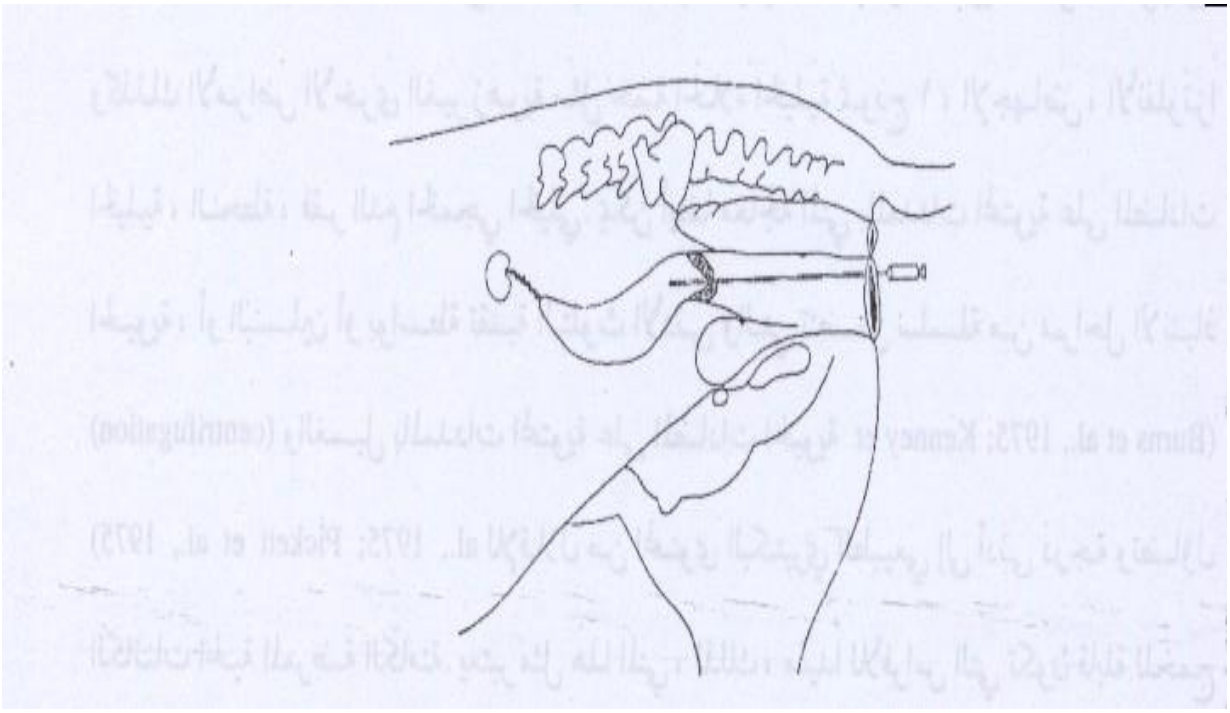
بما أن الخصائص الفيزيولوجية المتعلقة بالفرس (فترة الشبق، الفارق بين بداية الشبق و الإباضة، صعوبة التشخيص المبيضي) تختلف عن بقية الحيوانات الأخرى فإن نجاح التلقيح الاصطناعي سيحتاج في هذا الكائن أكثر من غيره إلى فحص مفصل ومتابعة مثلى ليس فقط للشبق ولكن أيضا للنمو الجريبي بواسطة الجس اليدوي للجهاز التناسلي وأيضا باستعمال الإيكوغرافي. بالاختلاف مع الكائنات الأخرى، لا يوجد فعلا عند الفرس بيك LH واضح لكن هناك ارتفاع مستمر لتركيزه خلال 6-7 أيام التي تسبقه، يصل التركيز الأقصى إلى حده ما بين 1-3 أيام بعد الإباضة.

يعطي تحديد لحظة الإباضة عند الفرس أهمية عملية حقيقية، تحدث الإباضة وسطيا عندما يصل قطر الجريب الناضج إلى 45 مم (قياس بالإيكوغرافي) هذا القطر يكون 40 مم في حالة الإباضة المزدوجة. لاحظنا أيضا وجود فروقات فصلية (48 مم في أيار و 40 مم في تموز). يمكن أن نقوم بتحريض الاباضة بحقن 3000 وحدة دولية من هرمون HCG عندما يصل قطر الجريب لـ 45 مم.
تتكون ببساطة عدة التلقيح من قثطرة بطول 60cm والتي يمكن وصلها مع سيرنغ 20 CC مزود بمكبس بدون كاوتشوك حيث أن الكاوتشوك يمكن أن يملك تأثير قاتل (سمي) للحيوانات المنوية.
- غسيل المنطقة الفرجية العجانية ثلاث مرات بالبوفيدون الصابوني ثم تنشف.
- تجهيز عينة السائل المنوي ضمن سيرنغ 20 CC (الموصوف سابقا) الموصول مع القثطرة
- طرف أو نهاية القثطرة تدخل عبر المهبل وعنق الرحم حتى تصل إلى جسم الرحم.
- إدخال الذراع المغطى بكيس الجس سيكون سهلا باستعمال جل (Gel) غير سام للحيوانات المنوية.

سنحصل على أفضل النتائج عند استخدام سائل منوي طازج وذلك عندما نجري التلقيح ما بين 48-72 ساعة قبل الإباضة إذا كان السائل المنوي ناتجا من حصان سوب فيرتيل (ضعيف الخصوبة) فإننا نجري تلقيحتين يوميا حتى التأكد من الإباضة. يجوز أن تلقح خلال بضع ساعات سابقة أو تالية للإباضة لكن في الحالة الثانية نلاحظ ارتفاع بالتموت الجنيني. عادة يتطلب التلقيح الاصطناعي عند الفرس استخدام السائل المنوي الطازج 500 مليون حيوان منوي متحرك و هذا يتطلب تجهيز السائل المنوي بحيث يتضمن 1-2- مليار حيوان منوي متحرك. بما أن أهمية الضياع اللازم بالشحن يبدو بأنه يوجد عتبة معينة متعلقة بالسائل المنوي المجمد. هناك قيم أعلى من 150 ← 300 لا بل 600 مليون حيوان منوي بالتلقيحة مطلوبة. لا يبدو بأن حجم الممدد المستعمل مؤثراً على النتائج المحصول عليها. هناك أحجام تستخدم بشكل كلاسيكي

عند استعمال سائل منوي طازج أو سائل منوي مبرد أو سائل منوي مجمد (10-30 مل، 60 -30 مل، 0.5- 5 مل بالتتالي).

ممكن أن ننصح باستخدام أحجام أكبر عند التلقيح في الشبق الأول بعد الولادة. أيضا هناك ما يسمى بالتلقيح في أعلى قمة في قرن الرحم باستعمال قشة واحدة حيث أعطت هذه الأخيرة نتائج مشابهة للنتائج المحصول عند استعمال جرعة تلقيح نظامية.



إن تحليل نتائج التلقيح الصناعي عند الخيول ليس بالأمر السهل. تكون لحظة التلقيح بالنسبة للإباضة متغيرة للغاية فضلا عن ذلك ينقصنا معلومات بشأن عدد الدورات الضرورية للحصول على حمل. باستعمال سائل منوي طازج و خلال شبق واحد كانت معدلات الحمل بعمر 50 يوم تتراوح ما بين 67 – 77 % بينما باستخدام السائل المنوي المجمد كانت ما بين 40 -80 %. من المعروف بأنه عند الخيول، التلقيح باستخدام سائل منوي مجمد يترافق بخطر كبير للتموت الجنيني بين اليوم 15 واليوم 50 يوم من الحمل من التلقيح باستخدام سائل منوي طازج (17-26% مقارنة 10-18%). الأسباب حتى الآن غير معروفة بشكل كامل.

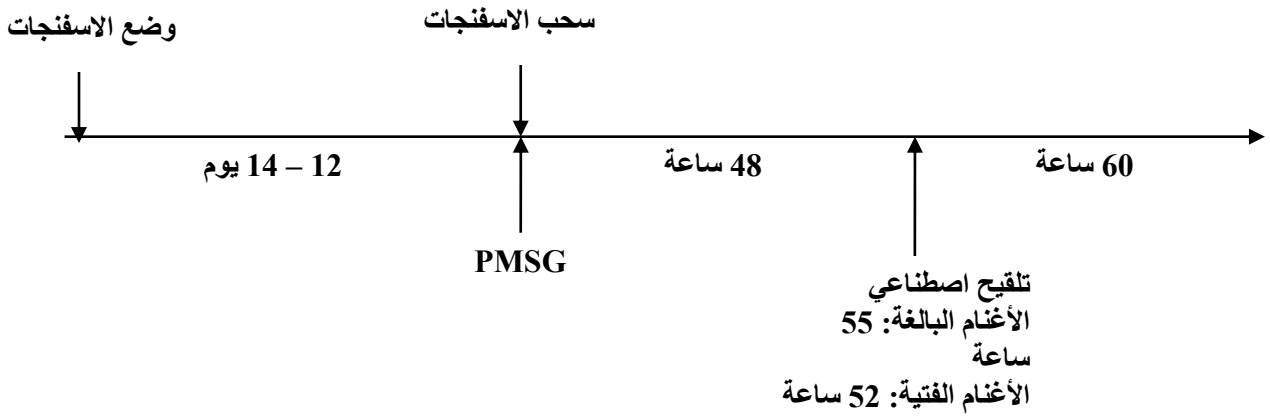
عند الأغنام والماعز:

تطور التلقيح الاصطناعي عند الأغنام و الماعز بشكل أساسي في فرنسا بشكل مستمر منذ عام 1971. في عام 1995، 773.000 نعجة (10% من النعاج) و 57.000 ماعز (6% من الماعز) لقحوا اعتبارا من جرعات منتجة في 18 مركز تلقيح منتشرة في أنحاء فرنسا. سمحت هذه الطريقة من التناسل برفع إنتاج الحليب وسطيا للقطعان الماعز 80 كغ من الحليب بالسنة (800 كغ مقارنة 720 كغ).

الخصوصيات التشريحية و الفيزيولوجية

يمثل التلقيح الصناعي عند المجترات الصغيرة بعض الخصوصيات التشريحية. فمثلا عند الأغنام، تحتوي الطبقة الداخلية لعنق الرحم على طيات متعددة و التي تجعل قناة عنق الرحم ملتوية جدا مما يعيق دخول القثطرة داخل الرحم كما هو الحال عند الأبقار. بالمقابل عند الماعز، يكون عنق الرحم مفتوح نصف فتحة خلال الشبق لذلك من الممكن اجتيازه في 10 – 30 % من الحالات. إن التلقيح باستعمال المنظار الداخلي (الاندوسكوب) يشكل طريقة بديلة لكن استعمالها قليل.

تعتبر المجترات الصغيرة بشكل أساسي كائنات ذات فعالية جنسية فصلية، في أكثر الأحيان تربى بقطعان كبيرة و تكون موزعة ضمن مجموعات. لا يجرى التلقيح الصناعي إلا عندما يتم التحريض وتوقيت الشبق بواسطة استعمال الإسفنجات التي تحتوي على البروجيستيرون على شكل أسيتات فلوروجيستون المستعمل عند الماعز و الأغنام، جرعة من البروستاغلاندين (فقط عند الماعز) و غونادوترفين PMSG. يتم استعمال هذه المواد ضمن بروتوكولات معينة إما على شكل معالجة طويلة أو معالجة قصيرة كما في البروتوكول التالي.



إجراء عملية التلقيح:

يجب تحاشي إجهاد الحيوانات أيضا يجب أن يتم تجهيز غرفة انتظار. إن التحكم بالحيوانات بوضعية عمودية يمكن أن يسهل عملية التلقيح. ينصح عند الماعز بإجراء فحص بالايكوغراف قبل التلقيح من أجل استبعاد الحيوانات التي لديها الحمل الكاذب.

عند الأغنام، يحفظ السائل المنوي (غير المجمد) و يجهز بقشات 0.5 مل حيث تتضمن كل قشة 400 مليون حيوان منوي. فترة الحفظ بدرجة حرارة 15°C + لا تتجاوز أبدا 10 ساعات. يجرى التلقيح في محاولة واحدة فقط 55 ساعة بعد سحب الاسفنجات للنعاج البالغة و بعد 52 ساعة للثنايا.

عند الماعز، السائل المنوي أيضا مجهز ضمن قشات 0.5 مل كل قشة تحتوي على 300 مليون حيوان منوي. تجرى تلقيحة واحدة 43 ساعة تقريبا بعد سحب الاسفنجات للماعز الألبي و 45 ساعة فيما بعد للماعز سانين. نادرا ما يجرى التلقيح على شبق ملاحظ 24 ساعة بعد بدايته.

تسحب القشة من خزان السائل الآزوتي و تغطس في حمام مائي بدرجة حرارة 37°C لمدة 15 ثانية ثم تجفف وتدخل في مسدس التلقيح الذي يجب أن يكون مدفئ مسبقا. تقطع نهاية القشة وتغطى بغمد الحماية ثم تحجز بحلقة المسدس. تغطس قشة السائل المنوي الطازج في الماء بدرجة حرارة 4°C (ماعز) أو بدرجة حرارة 15°C (أغنام).

ترفع مؤخرة الحيوان وتوضع على ستاند خاص وتنظف فتحة الحياء جيدا ثم يطهر المنظار المهبلي ويدخل ضمن المهبل ويحدد مكان عنق الرحم الذي غالبا يكون وردي أو محمر الشكل على أرضية المهبل. توجه نهاية مسدس التلقيح نحو فتحة عنق الرحم ثم يدخل فيها و يدفع المسدس إلى ابعد مكان ممكن بواسطة عمل حركات دوران للتغلب على التعرجات الموجودة في عنق الرحم. يزرق السائل المنوي و يسحب مسدس التلقيح. يطهر المنظار المهبلي بعد كل تلقيحة بين الحيوانات. يتوقف نجاح التلقيح على اختيار لحظة التلقيح بالنسبة للاباضة من معاملة خاصة للعنق.

طرق التلقيح الاصطناعي في الأغنام والماعز

- ❖ (الطريقة التقليدية) فاتحة المهبل مع مسدس التلقيح
- ❖ المنظار الضوئي Speculum وأداة التلقيح (المسدس الأنبوبي).
- ❖ التلقيح داخل الرحم باستخدام الأندوسكوب Endoscope.

الطريقة التقليدية:

- ❖ وتستخدم في التلقيح الاصطناعي بالسائل المنوي الطارج والمجمد وبطريقة القشات النموذجية (0.25 مل أو 0.5 مل).
- ❖ التلقيح الاصطناعي في الأغنام والماعز باستخدام فاتحة مهبلية هو تلقيح مهبلي-عنقي أو عبر عنق الرحم بعد عملية توقيت للشبق.



التلقيح باستخدام فاتحة مهبلية مع مصدر ضوئي



أدوات تقانة التلقيح الاصطناعي

طريقة المنظار الضوئي:

تستخدم في التلقيح الاصطناعي الطازج والمجمد.

يتكون المنظار من اسطوانة بطول 15 سم وقطر 2 سم وهو مزود بمنبع ضوئي.

طريقة التلقيح:

- تنظيف الفتحة الخارجية، ووضع مادة مزلقة على حواف المنظار لتسهيل دخوله
- يتم إذابة قشة السائل المنوي المجمد في حمام مائي أو (السائل المنوي الممدد الطازج)، ويتم السحب باستخدام محقن صغير.
- إدخال مسدس التلقيح عبر المنظار لتصل إلى عنق الرحم، حيث تتم محاولة إدخالها لمسافة (0.5 –2 سم) في عنق الرحم، حيث يتم الضغط على المحقن فينساب السائل المنوي في عنق الرحم أو قرب فتحته.



تقانة التلقيح الاصطناعي داخل الرحم باستخدام الأندوسكوب: Intrauterine AI technique

وهي طريقة شبه جراحية يتم خلالها إدخال منظار داخلي Endoscope إلى التجويف البطني للأغنام، التي تكون قد منعت من الطعام والشراب لمدة 12-18 ساعة.
يستعمل خاصة عند الأغنام التلقيح داخل الرحم بواسطة الاندوسكوب. تقدم هذه الطريقة ميزات مضاعفة برفع الخصوبة عند استعمال سائل منوي مجمد و استعمال عدد أقل بكثير من الحيوانات المنوية (تقريبا 10 مرات أقل من التلقيح عبر عنق الرحم). من اجل ذلك يجب أن توضع الحيوانات بدون طعام فترة 12 ساعة قبل التلقيح. يوضع الحيوان في وضعية اضطجاع ظهري و تثبت أطرافه الأربع. يعمل التخدير الموضعي بشكل نقطي على جانبي الخط الأبيض. ثم يتم عمل فتحتين في جدار البطن بواسطة تروكار (آلة جراحية للبزل). يتم إيداع السائل المنوي (بحجم نصف قشة) بواسطة مسدس خاص يسمى ترانسكاب في قمة كل قرن رحمي. التقنية صعبة و تحتاج إلى تمرن خاص و لا تسمح إلا بتلقيح وسطيا 25 نعجة بالساعة الواحدة.

محددات التلقيح الاصطناعي في عنق الرحم:

- الأغنام : معدل الخصوبة غير عالي
- عدد كبير من الحيوانات المنوية مطلوبة للتلقيح في عنق الرحم خاصة المجمدة (400 x 10^6spz)
- التداخل بين المعالجة الهرمونية لتوقيت الشبق وعبور الحيوانات المنوية عبر عنق الرحم

ميزات التلقيح داخل الرحم باستخدام الأندوسكوب:

- عدد أقل من الحيوانات المنوية (أقل بعشرة مرات)
- معدل خصوبة عالي (أعلى من 60 %)
- استعمال سائل منوي مجمد من سلالة متميزة وراثيا (60 – 70 مليون حيوان منوي) أو أحيانا أقل من ذلك
- زيادة عدد المواليد (اختبار النسل)

- نقل الأجنة: يحسن معدل الخصوبة للبويضات المحرضة للاباضة

نتائج التلقيح وعوامل تنوع الخصوبة:

عند الأغنام، تكون الخصوبة أفضل عند الثنايا منه عند النعاج البالغة وعند الماعز، تكون الخصوبة افضل مما هي عند الاغنام.

هناك عدة عوامل متنوعة يمكن أن تؤثر على النتائج التلقيح. في حال استعمال السائل المنوي الطازج، فإن معدل الخصوبة يكون أعلى عند الكباش المعمرة سنتين أو أكثر. من جهة أخرى يوجد فروق بين الملقحين. عند الماعز السانين، فان الخصوبة تكون بشكل منتظم اقل من تلك الملاحظة في سلالة الألبي. هذه الفروقات بين السلالات لم تلاحظ عند الأغنام. عند المجترات الصغيرة، تكرار المعالجات و توقيت الشبق خاصة عند استعمال الـ PMSG المتكرر يمكن أن يحرض على تشكيل أجسام مضادة و بالتالي إلى تخفيض الخصوبة.



بعض نتائج التلقيح الاصطناعي في عمليات الانتخاب والخلط الوراثي بهدف التحسين الوراثي ببعض المشاريع المنفذة في الدول العربية.

مكان التنفيذ	نوع الحيوان	طريقة التلقيح	معدل الولادات
الأردن	أغنام (36)	طازج ومجمد	%35
	ماعز (11)	طازج	%63
سوريا	أغنام (125)	طازج	%56
		مجمد	%43
اليمن/ أغنام	بوني ابيض (19)	مجمد	%47.4
	بوني اسود (16)	مجمد	%75
	تهامي (15)	مجمد	%40
اليمن/ ماعز	شراقي (6)	مجمد	%83.3
	بيتال (8)	مجمد	%62.5
	سردودي (27)	مجمد	%42.3
قطـــر	أغنام (126)	مجمد	% 69
الجزائر	ماعز (56)	مجمد	%63