Operativna nega miši pri embriotransferju in vazektomiji

Katja Skulj, dr.vet.med.
Prof. dr. Simon Horvat
BF, Oddelek za zootehniko

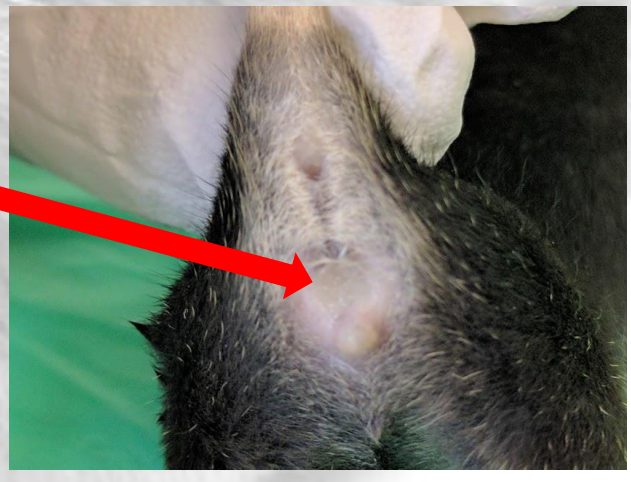
CRISPR Cas9

- Mikroinjiciranje, embriotransfer in vazektomija potekajo v okviru metode CRISPR Cas9
- Razvoj transgenih linij miši

MIKROINJICIRANJE 1. – 4. dan

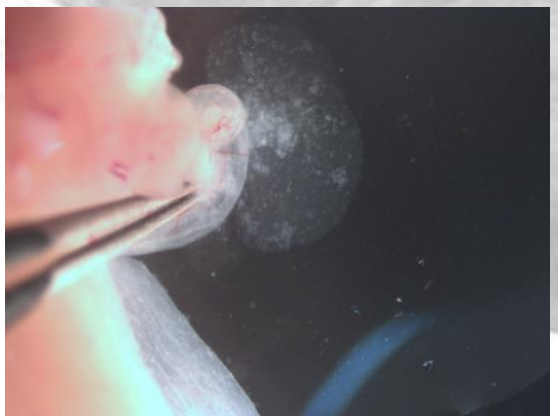
- Donor zigot so F1 samice (B6D2F1)
- Superovulacija
- Pregled samic na prisotnost vaginalnega čepa
- Izolacija jajčnikov pri samicah s čepom

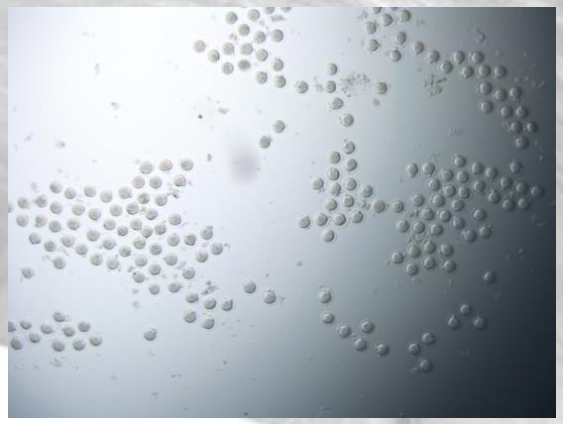
ČEP



MIKROINJICIRANJE – 4. dan

- Sprostitev kumulusa z zigotami iz ampule jajcevoda v medij M2 (hialuronidaza)
- Spiranje zigot in shranitev v M2, pokrito z oljem za embrije (Zenith)
- Mikroinjiciranje, inkubacija preko noči v M16





VAZEKTOMIJA

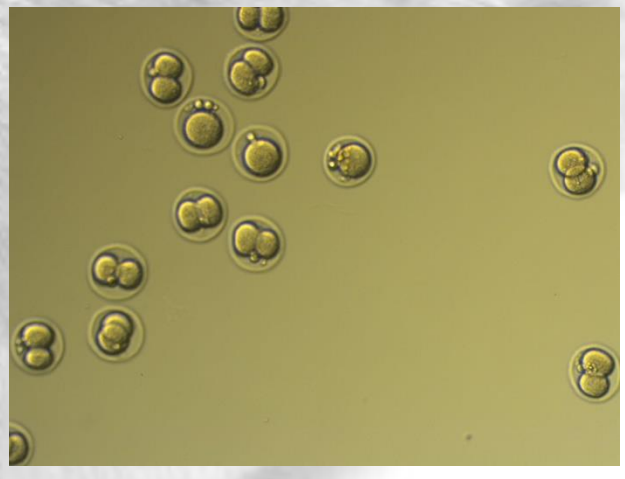
- Samci HSD:ICR (CD-1®)
- Vsaj 2 meseca pred MI/ET
- Pri starosti 8-12 tednov
- Preverjanje plodnost in vaginalnega čepa po OP
- Paritev s samicami – nadomestnimi materami za ET

EMBRIOTRANSFER - 4. dan

- Nadomestne matere samice HSD:ICR (CD-1®) → 15 - 20 samic
- Parimo z vazektomiranimi samci HSD:ICR (CD-1®)
- Razmerje: 1 samec in 2 samici

EMBRIOTRANSFER - 5. dan

- Pregled HSD:ICR (CD-1®) samic na prisotnost vaginalnega čepa
- Priprava HSD:ICR (CD-1®) samic
- Izbor dvoceličnih zigot
- Pripravimo zigote v ustno pipeto



TRAJANJE POSEGA

- Povprečno 20 minut (14 – 34 minut)
- Trajanje narkoze povprečno 52 minut

- Ocena težavnosti poskusa: Moderate/Zmeren

PERIOPERATIVNA NEGA

- Obogatitev - Nestlets, samica si pripravi gnezdo prej (Nestlest)
- 3 – 4 ure pred OP
- Hrana v kletko

TERMOREGULACIJA

- Peco Services

PERIOPERATIVNA NEGA

- Termoregulacija v kletki (38 °C)

PERIOPERATIVNA NEGA

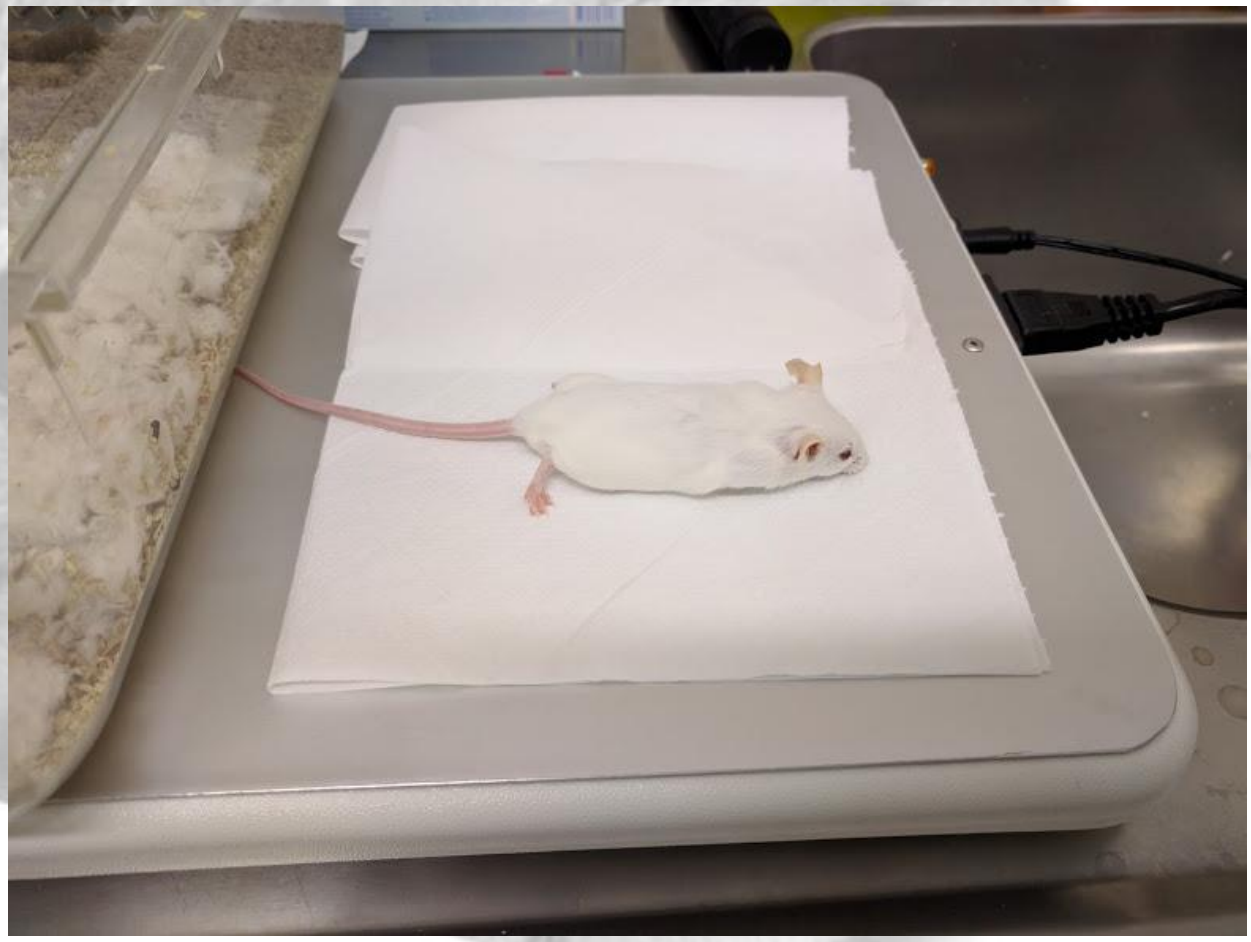
- Anestetika:
  - Ketamin (100mg/ml)
    - 0,5 µl/1g
  - Xylazin (20mg/ml)
    - 0,75/1g
  - V PBS
    - 3,75 µl/1g
  - 150-200 µl/30-35 g miš

PERIOPERATIVNA NEGA

- 2 minuti po i/p aplikaciji anestetika

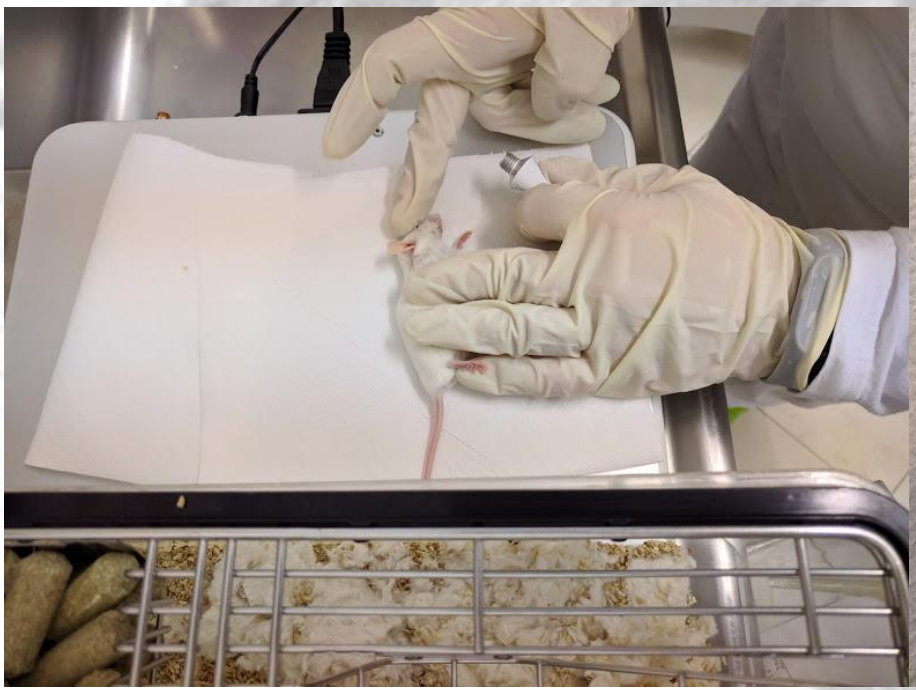
PERIOPERATIVNA NEGA

- 3 minute po aplikaciji anestetika



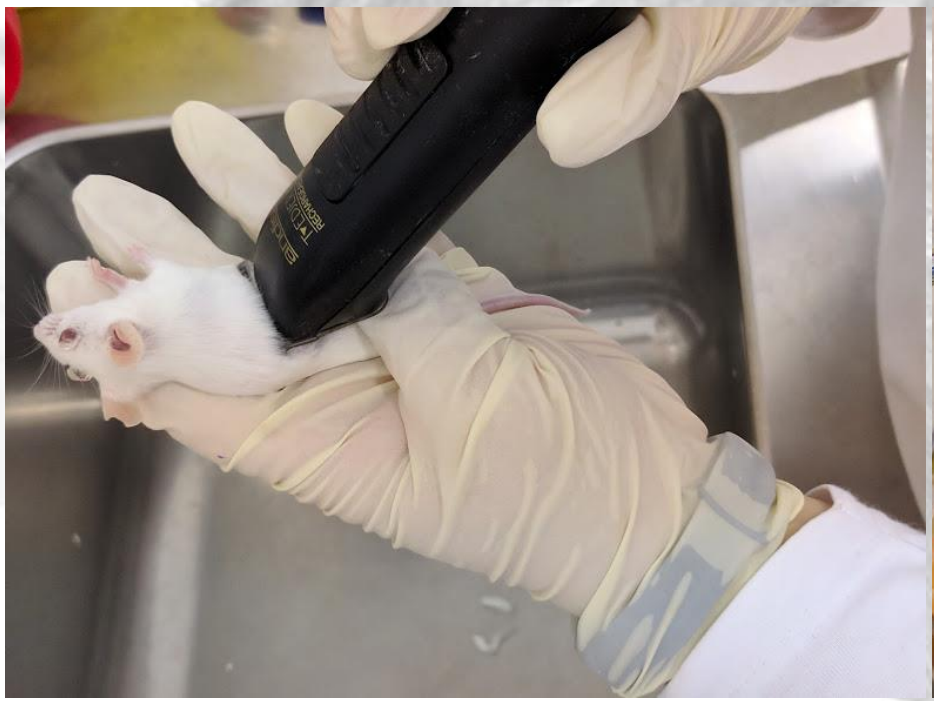
PERIOPERATIVNA NEGA

- Zaščita oči
- Normgel - 0,9 % NaCl v obliki gela



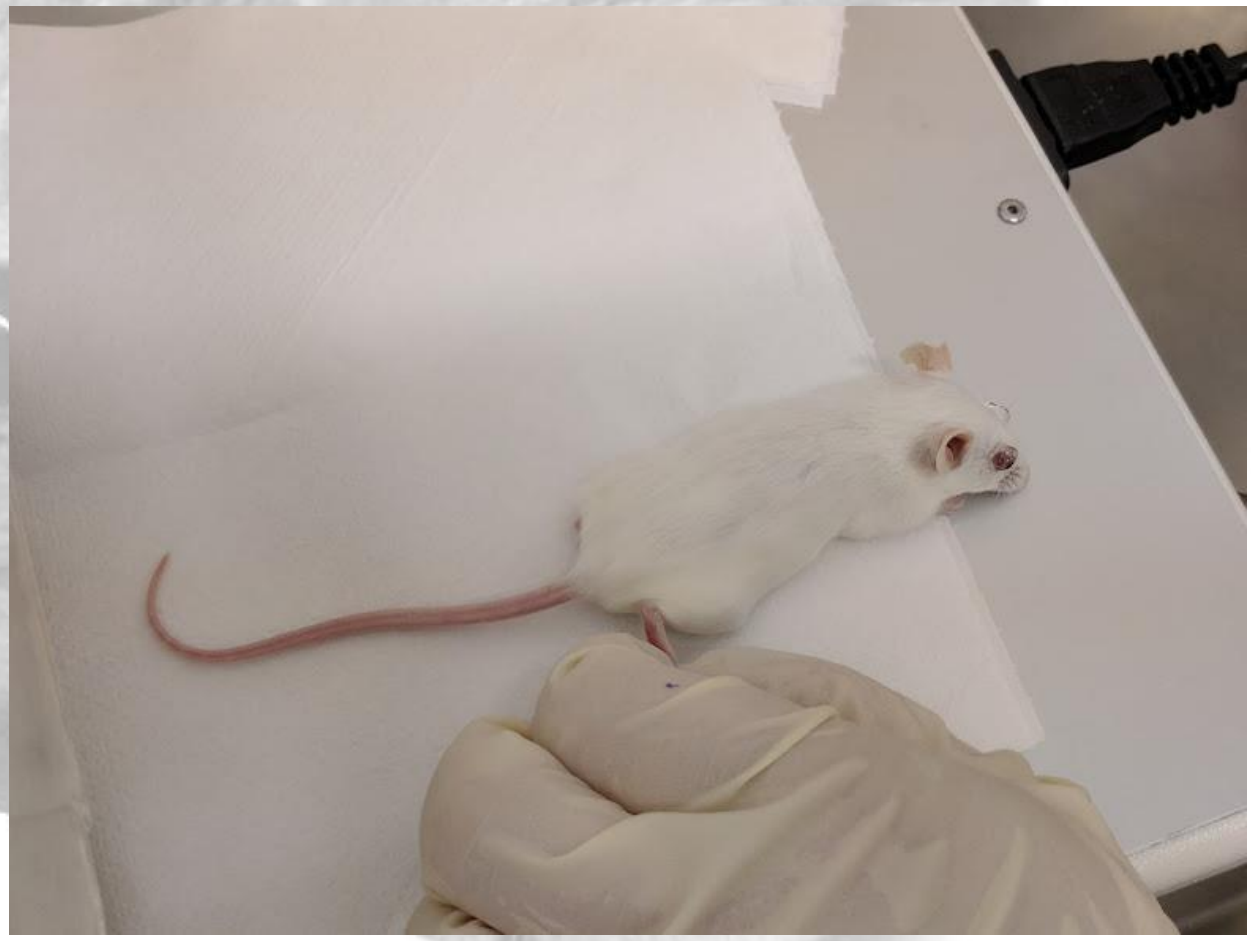
PERIOPERATIVNA NEGA

- Britje – 4 minute po aplikaciji anestetika
- Razkuževanje



MEDOPERATIVNA NEGA

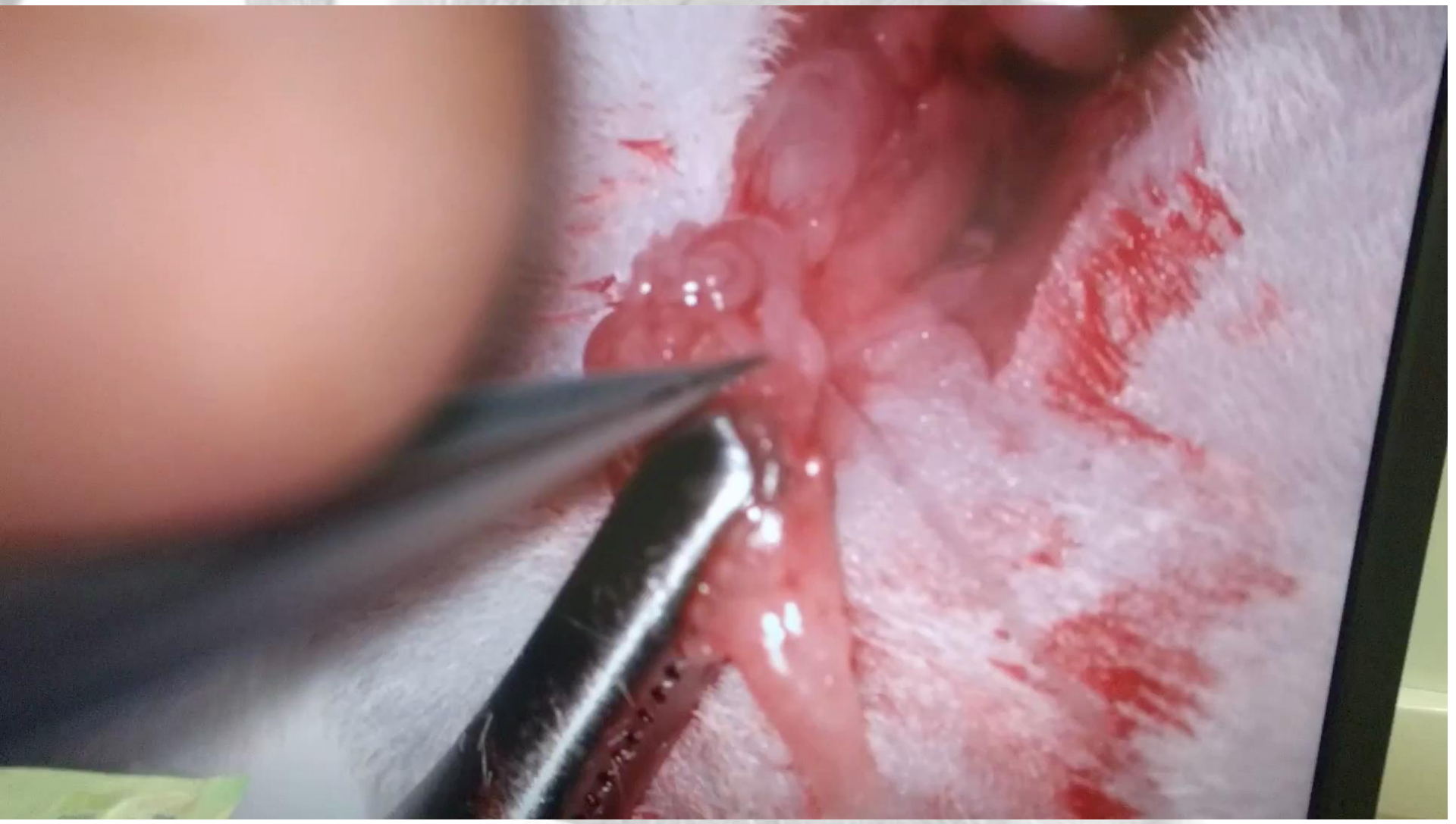
- Odsotnost prstnega refleksa



MEDOPERATIVNA NEGA

- Žival pripravljena za poseg
- → 5 minut po aplikaciji anestetika

EMBRIOTRANSFER - 5. dan



POSTOPERATIVNA NEGA

- Ogrevanje na plošči do prebujanja
- Cca 1 ura po aplikaciji
- T = 39,5 °C
- Zaščita oči

POSTOPERATIVNA NEGA

- Ogrevanje v kletki na plošči 3 – 4 ure
- Monitoring

POSTOPERATIVNA NEGA

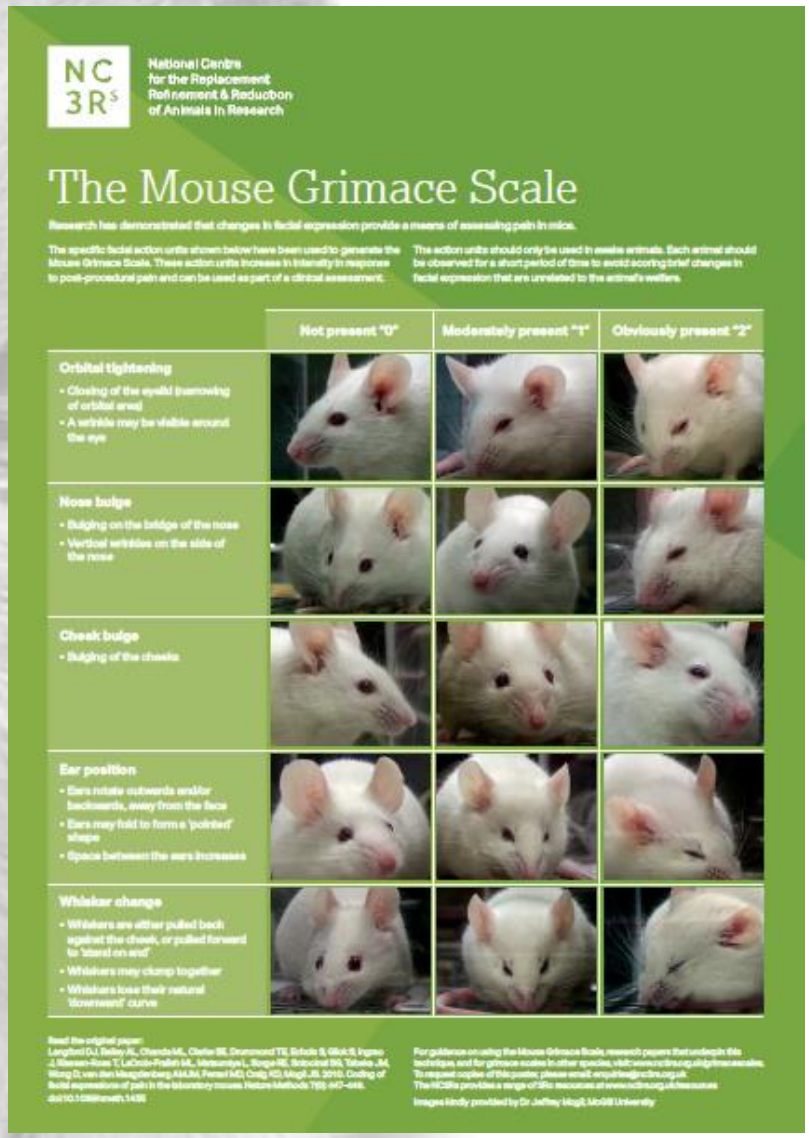
- Monitoring naslednje dni

POSTOPERATIVNA NEGA

- Obogatitev okolja - Nestlets
- Mouse house (hiška)
- Mezzanine (balkon)

POSTOPERATIVNA NEGA

- Mouse grimase scale
- Ocena
  - bolečine
  - stresa,
  - nelagodja …



KOMPLIKACIJE

- ET – brez post OP zapletov, ni poginov
- Vazektomije – 2 pogina od 12 OP v 2017

UČENJE IZ LASTNIH NAPAK

- Uporaba mazila za oči
- Čas ogrevanja post OP
- Sponk ne odstranjujemo

KASNEJŠA NEGA

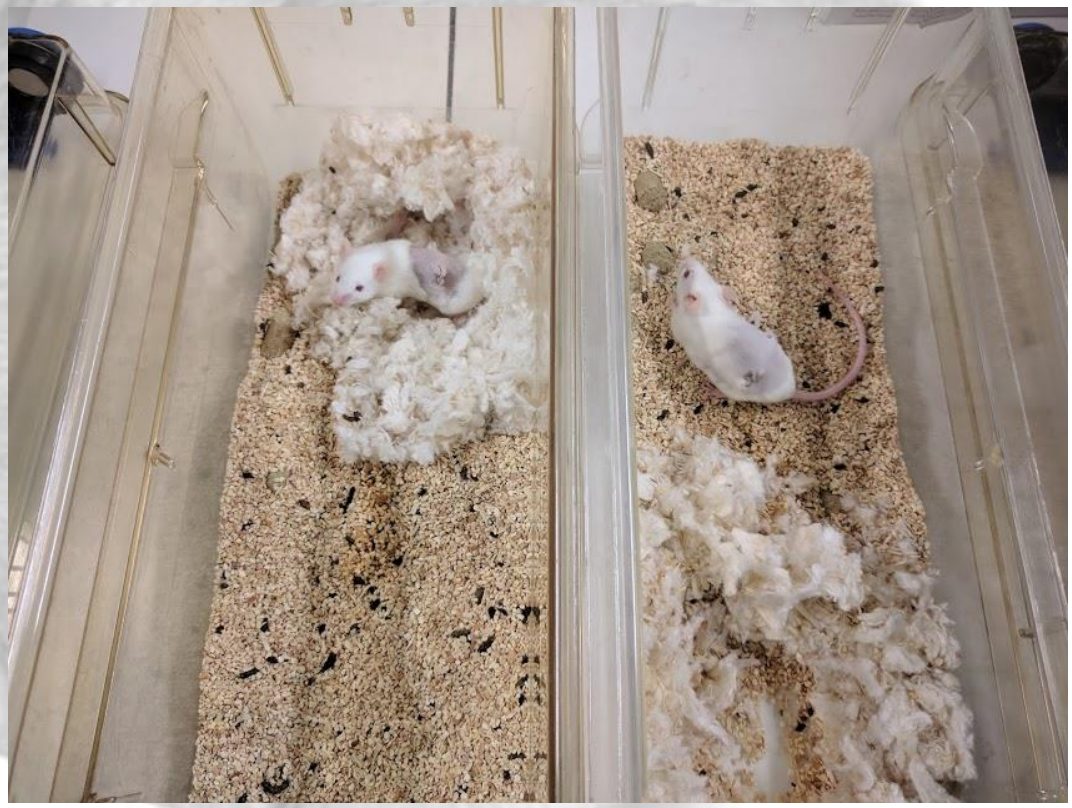
- Rokovanje z živalmi za čim manj stresa

KASNEJŠA NEGA

- The National Centre for the Replacement, Refinement & Reduction of Animals in Research (NC3Rs)
- Dve novi metodi
  - tunnel handling
  - cupping

KASNEJŠA NEGA

- Dnevni monitoring (3. dan po OP)
- Naredile so gnezda
- Rane so suhe
- So živahne



USPEHI - ET 2016

- 28 operacij ET, kotilo 19 samic (62 %)
- Skupaj 135 mladičev, povprečno 8,4
  Največ mladičev v gnezdu →14 (tri gnezda)

USPEHI - ET 2017

- 13 operacij ET, kotilo 9 samic (69,2 %)
- Skupaj 72 mladičev, povprečno → 9

USPEHI - ET 2017

- 35% uspešnost → število kotenih mladičev/število vstavljenih zigot
- Največ mladičev v gnezdu →16

HVALA