

Die internationalen KB Neuigkeiten von Minitüb

Sperm Notes

Beurteilung von Spermienqualität: die Morphologie	Seite 2
Automatische Abfüllsysteme für Ebersamen	Seite 4
Androstar® Plus - Verdünnermedium für die Langzeitkonservierung von Ebersperma	Seite 4
Landwirt Hansen sieht völlig klar	Seite 6
Neue Poster von Minitüb	Seite 7
Minitüb auf der EuroTier	Seite 8

Minitüb

Abfüll- und Labortechnik GmbH & Co. KG

Hauptstrasse 41
84184 Tiefenbach - Deutschland
Telefon: +49 (0) 8709 9229 0
Fax: +49 (0) 8709 9229 39
Email: minitube@minitube.de
Internet: www.minitube.de



Our knowledge - Your success

Beurteilung von Spermienqualität: die Morphologie

In der klassischen Spermaanlyse werden makroskopische, mikroskopische und ggf. auch chemisch-physikalische Verfahren heran gezogen um die Qualität eines Ejakulats zu bestimmen (siehe Übersicht 1).

Übersicht 1: Standardbeurteilung für Nutztiersperma

makroskopisch	mikroskopisch	chemisch-physikalisch
<ul style="list-style-type: none"> • Volumen • Aussehen • Geruch 	<ul style="list-style-type: none"> • Konzentration • Motilität • Agglutinationen • Kontaminationen • Morphologie 	<ul style="list-style-type: none"> • pH-Wert • Osmolarität

Alle diese Kriterien sind wichtig, um beurteilen zu können, ob ein Ejakulat für die Konservierung und Besamung genutzt werden kann oder nicht. Speziell die mikroskopische Untersuchung der Spermazellen hat in den letzten Jahren, bedingt durch neue technische Möglichkeiten, erheblich an Bedeutung gewonnen: CASA (Computer Assisted Semen Analysis) - Systeme ermöglichen eine objektive wie zeitsparende Methode der Qualitätsbestimmung von Sperma. Neben der Messung von Motilität und Konzentration wird auch die Morphologie der Spermazellen als Beurteilungskriterium heran gezogen, um die Fruchtbarkeit eines Eberjakulates zu bestimmen. Denn bewegliche Spermien können morphologisch abnormal sein und stehen aufgrund eines solchen Defekts nicht für die Befruchtung einer Eizelle zur Verfügung.

Morphologische Defekte der Spermazellen können die Kopfkappe betreffen (Akrosom-Integrität), den Kopf selbst oder den Hals. Verschiedene Schleifenformen des Schwanzes sowie Protoplasmatropfen sind häufig anzutreffende Abnormalitäten. Übersicht 3 zeigt einige Beispiele morphologisch abnormaler Spermien.

An die Spermienmorphologie werden, ähnlich wie bei der Spermienmotilität, Mindestanforderungen gestellt, die für die Verwendung eines Ejakulates erfüllt sein müssen. Der Zentralverband der Deutschen Schweineproduktion e.V. (ZDS) beispielsweise hat die Anforderungen an ein Eberjakulat definiert (siehe Übersicht 2).

Sind die angegebenen Werte überschritten, so bedeutet dies eine Minderung der Fruchtbarkeit der Spermaportion. So zeigte z.B. eine Untersuchung von Waberksi et al. (1994) dass ein erhöhter Anteil von morphologisch abnormalen Spermien negativ mit der Trächtigkeitsrate korreliert ist. Darüber hinaus korrelierte ein erhöhter Anteil von Spermien mit Plasmotropfen negativ mit der Wurfgröße.

Welche Möglichkeiten, werden heute angeboten um die Morphologie der Spermien zu messen? Eine umfassende Analyse der Spermienmorphologie kann nur mit einem Phasenkontrastmikroskop unter 1000facher Vergrößerung mit Ölimmersion durchgeführt werden. Die Untersuchung ist zeitaufwendig und erfordert eine geübte Laborkraft. Die wenigsten Labore verfügen zum einen über diese Ausstattung und zum anderen über die dafür erforderliche Zeit.

„kleine Morphologie“

Daher gibt es einfache, aber dennoch aussagekräftige Methoden, die eine oberflächliche, jedoch praxistaugliche Beurteilung der Morphologie erlauben. Mit dem CASA-System Sperm Vision™ kann die Einschätzung der Morphologie bereits während der Untersuchung der Spermienbeweglichkeit durchgeführt werden. Dies ermöglicht die

Übersicht 2: Mindestanforderungen an Ebersperma

Morphologisch abnormale Spermien einschl. Spermien mit Plasmotropfen (%)	≤ 25
Spermien mit Kopfveränderungen (%)	≤ 5
Spermien mit Akrosomveränderungen (%)	≤ 10
Spermien mit Plasmotropfen (%)	≤ 15
Spermien mit Schleifen (%)	≤ 15
Spermien mit anderen morphologischen Abweichungen (%)	≤ 15

Quelle: ZDS, 2006

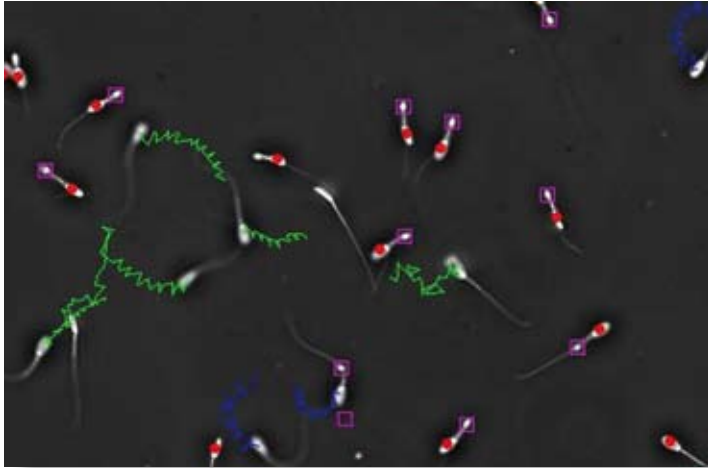
Funktion „kleine Morphologie“. Hiermit werden in erster Linie Schwanzveränderungen erfasst und Protoplasmatropfen identifiziert. Morphologisch abnormale Spermien werden hier manuell vom Benutzer erfasst.

„automatische Morphologie“

Diese schnelle Analyse steht nun auch in automatisierter Form zur Verfügung: als weltweit erster Hersteller stellt Minitüb ein Tool für Sperm Vision™ zur automatischen und gleichzeitigen Messung von Motilität, Konzentration und Morphologie von Spermazellen vor. Schwanzschleifen und (proximale und distale) Zytoplasmatropfen die bei der kleinen Morphologie noch manuell identifiziert und zugeordnet werden müssen, werden nun automatisch erfasst. Die Untersuchung geschieht

Beurteilung von Spermienqualität: die Morphologie

in Echtzeit während der Messung der Motilität, die Ergebnisse fließen anschließend in die Ejakulatsberechnung ein. Dies stellt eine wesentliche Zeitersparnis und Qualitätsverbesserung der



produzierten Spermaportionen dar. Wie gewohnt können die Mikroskopbilder zu Dokumentationszwecken, oder aber auch zum Monitoring des Ebers gespeichert werden. Die Ejakulatsqualität jedes Produktionsebers kann somit laufend und schnell überwacht werden.

„große Morphologie“

Zusätzlich bietet Sperm Vision™ mit dem Modul „große Morphologie“ eine Funktion, welche die komplette Morphologiebeurteilung wesentlich erleichtert und die Resultate abspeichert. Um diese komplette Analyse korrekt durchzuführen werden ca. 5µl verdünntes Ebersperma (im Verhältnis 1:10) auf einen Objektträger getropft und mit einem Deckgläschen bedeckt. Falls das Sperma nicht sofort beurteilt werden kann (>30 min), sollte dieses mit einer Formalinlösung haltbar gemacht werden (z.B. Ref.15405/0100).



Diese Fixierlösung macht die Spermaprobe nicht nur haltbar, sondern immobilisiert die Spermien auch, so dass die einzelnen Zellen besser beurteilt werden können.

Pro Analyse sollten insgesamt 100 Zellen gezählt und der Anteil der abnormalen Spermien ermittelt werden. Sperm Vision™ speichert alle Bilder der Spermien, so dass Erfassung und Beurteilung der Spermien zeitlich voneinander getrennt

durchgeführt werden können. In einer Datenbank kann die Entwicklung der Spermaqualität der Tiere nachverfolgt und überwacht werden. Eine Erinnerungsfunktion stellt sicher, dass die Beurteilung der Morphologie regelmäßig durchgeführt wird. Eine einfache Beurteilung der Spermienmorphologie sollte bei jedem Ejakulat, eine komplette Analyse mindestens einmal im Monat pro Eber durchgeführt werden.

Durch eine genaue Analyse aller Aspekte der Qualität wird nicht nur dem Zuchtfortschritt und der Überwachung genüge getan. Sie hat auch ganz profunde Auswirkungen auf die Wirtschaftlichkeit einer Eberstation: nur durch genaue Kenntnis aller Aspekte der Qualität lässt sich die exakte Anzahl der Spermaportionen errechnen, die aus einem Ejakulat gewonnen werden kann. ■

Übersicht 3: Beispiele für morphologisch abnormale Spermien

blaue Bromphenol Färbung:

- 1 = abgelöster Kopf, gefärbt (tot)
- 2 = normales Spermium, nicht gefärbt (lebend) mit distalem Zytoplasmotropfen



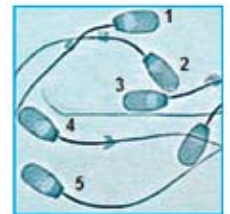
Papanicolaou Färbung:

- 1 - 4 = Spermazellen mit abnormalen (geschwollenen/ sich lösenden) Akrosomen



Papanicolaou Färbung:

- 1 - 4 = Spermazellen mit distalem Zytoplasmotropfen
- 5 = normales Spermium



blaue Bromphenol Färbung:

- 1 = Spermium mit Schleifenform
- 2 = primäre Veränderung des Kopfes
- 3 = normales Spermium
- 4 = Spermium mit proximalem Zytoplasmotropfen



Automatische Abfüllsysteme für Ebersamen



	TwinPacker®	MiniBSP®	SPS 21®
Leistung in Tuben/Stunde	550	bis ca. 900	1400
Kapazität des Tubenmagazins	40 in 10 Magazinen	210 (integriert) optional 2100 (extern)	2100 (extern)
Min. Personalbedarf	1 Bedienperson	0,75 Bedienpersonen	1 Bedienperson (für max. Leistung)
Kompressor	intern	extern	extern
Drucker	enthalten, auch für Barcodes geeignet	enthalten, auch für Barcodes geeignet	enthalten, auch für Barcodes geeignet
Verschweißvorrichtung	Wärme-Impuls-Verfahren	Ultraschall	Ultraschall
Bedienung	Touch Screen	Touch Screen	Touch Screen
Serielle Datenanbindung	Ja	Ja	Ja
Elektrischer Anschluss	230/110 V, 50/60 Hz	230/110 V, 50/60 Hz	230/110 V, 50/60 Hz
Automatischer Wechsel des Ejakulats	Nein	Ja	Ja
Optionen		<ul style="list-style-type: none"> • Füllstation für Verdüner • externes Tubenmagazin • Stanzvorrichtung für Tubenaufhängung • Rollbahn zur automatischen Ejakulatsvereinzelnung in Lagerbehälter 	<ul style="list-style-type: none"> • Füllstation für Verdüner • Rollbahn zur automatischen Ejakulatsvereinzelnung in Lagerbehälter
Sprachen	de, en, es, ru, pl	de, en, es, ru, it, nl	de, en
Ref.	13214/0000	13210/0005	13209/0000

Androstar® Plus - Verdünnermedium für die Langzeitkonservierung von Ebersperma

Die Befruchtungsfähigkeit der Samenzellen muss während der gesamten Lagerzeit des Samens erhalten bleiben. Dies ist die entscheidende Aufgabe einer modernen Samenkonservierung. Neben der Beweglichkeit der Samenzellen gilt dies auch für die Funktionalität der Spermienmembran. Sie ist eine wesentliche Voraussetzung für die Etablierung des Spermienreservoir im unteren Eileiter und damit für den Fortgang der Befruchtung.

Neu entwickelte Verdünnermedien haben das Ziel, über längere Lagerzeiten und bei schwankenden Lagertemperaturen essentielle Eigenschaften der Samenzellen, insbesondere Motilität, Integrität des Akrosoms und die Funktionalität der gesamten Plasmamembran zu schützen. Der Ebersamenverdünner Androstar® Plus wurde von Minitüb unter dieser Maßgabe entwickelt: er erlaubt eine Konservierung von bis zu 7 Tagen und deckt einen Temperaturbereich von 10 bis 20°C ab. Zudem ist Androstar® Plus vollsynthetisch, also frei von tierischen oder pflanzlichen Proteinen.



Androstar® Plus - Verdünnermedium für die Langzeitkonservierung von Ebersperma

Androstar® Plus schützt Membrane, Akrosome und Zellplasma, indem er den Stress, dem Spermien ausgesetzt sein können, abmildert. Stress entsteht unter anderem ...

- bei der Verarbeitung im Labor durch die Manipulation und den Verdünnungsvorgang selbst. Schnelles Verdünnen oder Umfüllen, sowie der Einsatz von Pumpen übt mechanischen Stress auf die Spermien aus. Hinzu kommt, dass Eberspermien besonders kälteschockempfindlich sind. Es ist folglich von eminenter Bedeutung, dass Sperma und Verdünner dieselbe Temperatur haben. Ein Unterschied von mehr als +/- 1 °C kann hier schon negative Effekte haben.
- bei Lagerung und Transport: Die Samenportionen werden relativ häufig über einen längeren Zeitraum zu hohen oder zu niedrigen Temperaturen ausgesetzt, oder zu schnell von der Verdünnungstemperatur (38°C) auf 17°C herunter gekühlt. Oft ist es auch der Fall, dass beim Transport oder im Zuchtbetrieb die Optimaltemperatur von 17°C nicht durchweg eingehalten werden kann.

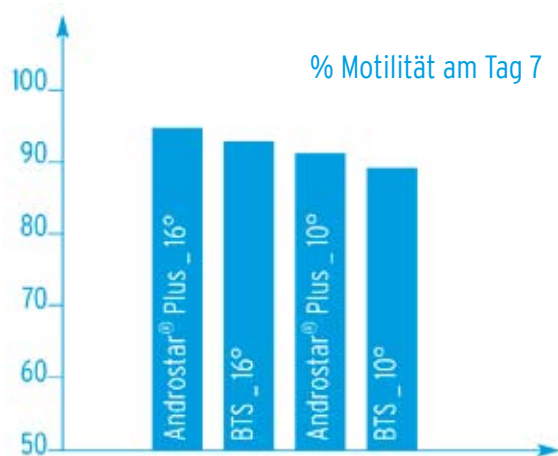
Natürlich kann auch das beste Konservierungsmedium Mängel bei der Verarbeitung des Spermas und noch viel weniger Defizite des Ausgangsmaterials kompensieren. Wozu ein Konservierungsmedium wie Androstar® Plus

aber einen entscheidenden Beitrag leisten kann ist, dass ein gutes Ejakulat seine Befruchtungsfähigkeit beibehält, bis es zum Einsatz kommt. Dafür sorgt die spezielle Formulierung: das Zusammenspiel von pH-Wert, Ionenstärke, Art der Ionen, osmotischer Druck, antioxidative Wirkstoffe und ein spezieller Membranschuttfaktor gleichen den durch längere Lagerzeiten und Temperaturschwankungen verursachten Stress für die Samenzellen aus.

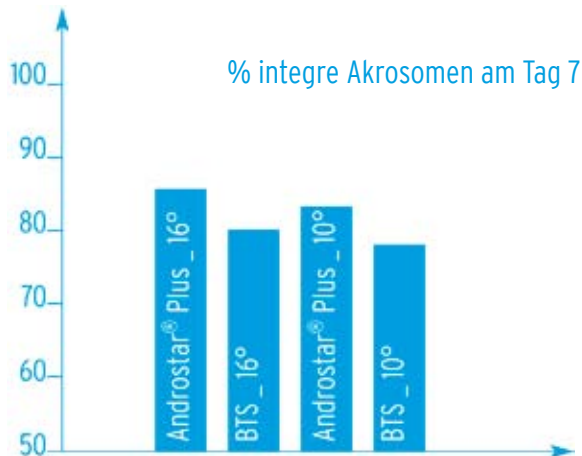
In einer wissenschaftlichen Studie wurde mit Androstar® Plus und BTS die Wirkung von Lagerzeit und unterschiedlichen Temperaturen auf Motilität (Anteil progressiv beweglicher Zellen, Sperm Vision™) und den Prozentsatz defekter Akrosome (geschwollener apikaler Rand und Akrosome in Ablösung) untersucht. Der als Kontrolle verwendete BTS Verdünner ist ein breit eingesetztes Medium zur Konservierung von Ebersperma für einen Zeitraum von wenigen Tagen. Die Ergebnisse sind in Abbildung 1 dargestellt.

Im Rahmen eines weiteren groß angelegten Besamungsver-suches (>350 Sauen pro Gruppe), der kürzlich abgeschlossen wurde, hat man Androstar® Plus mit einem herkömmlichen Langzeitverdünner (als Kontrollmedium) verglichen. Die eindeutigen Ergebnisse der Studie werden im November im Rahmen der ESDAR (European Society for Domestic Animal Reproduction) Konferenz präsentiert. ■

Abbildung 1: Motilität und und Akrosomintegrität von Ebersperma nach Verdünnung in BTS und Androstar® Plus bei Lagerung bis zu 7 Tagen und unterschiedlichen Temperatur-Regimen (16 und 10°C).



Motilität: Die Beweglichkeit der bei 16°C konservierten Proben fällt im BTS Sperma von Tag 0 auf Tag 5 /7 signifikant ab ($P < 0,05$), während Androstar® Plus-Spermien einen geringen nicht signifikanten Abfall von Tag 0 auf Tag 7 zeigen. Androstar® Plus-Sperma zeigt während der gesamten Kühlbelastung (10°C) von Tag 3 bis Tag 7 signifikant höhere Werte als BTS Samen.



Akrosom-Integrität: Auch hier liegen die 16°C-Werte im Androstar® Plus-Medium am Tag 7 signifikant über den BTS-Werten. Die 10°C-Werte der Androstar® Plus-Proben zeigen ab Tag 5 lediglich eine geringe Reduktion der Akrosom-Integrität, während die BTS-Werte sehr viel stärker absinken. Hervorzuheben ist, dass sich die 10°C-Werte der Androstar® Plus-Proben bis zum Ende der Lagerzeit nicht signifikant von den 16°C-Proben unterscheiden.

Landwirt Hansen sieht klar

Hans Hansen ist ein Landwirt der modernern Schule. Erst vor kurzem hat er einen neuen Stall für 400 Sauen gebaut. Und nun betreibt er eine Ferkelaufzucht bis 30 kg. Gerade hat ihm sein Kurier, Johannes Schulte-Brömmelkamp, von der Eberstation Ebershausen die bestellten Ebersamenportionen gebracht.

Schulte-Brömmelkamp steigt in den Wagen mit laufendem Motor ein, legt den Gang ein, der Wagen macht einen Hops - und stirbt ab. „So ein Mist! Schon wieder. Jetzt hat er seinen Geist aber endgültig aufgegeben. Ich muss den Abschleppwagen rufen, der holt mich ab.“ „Ja und was ist mit den Samenportionen, die noch hinten im Kofferraum liegen?“ sagt Landwirt Hansen. „Die werden doch schlecht! Heute, wo es doch nur 13°C hat. Soll ich sie bei mir in den Klimaschrank legen?“ „Mach dir keine Gedanken“, antwortet Schulte-Brömmelkamp. „Wir verdünnen unseren Ebersamen immer mit Androstar® Plus. Der hält im Notfall auch bis 10 °C den Ebersamen voll befruchtungsfähig. Auch, wenn der Abschleppwagen erst in 7 Tagen kommen würde.“ Respekt, denkt sich Landwirt Hansen, und wirft einen interessierten Blick durch die Scheibe in den Kofferraum, wo sich einige Besamungsutensilien befinden, die der Kurierfahrer seinen Kunden mitbringt. Ein Produkt erweckt sein besonderes Interesse. Ein Katheter.

Den kannte Züchter Hansen noch nicht. Bisher hat er immer bei einem vorbeifahrenden Händler die Katheter gekauft. Hauptsache billig. Kommen zwar aus China, aber bis jetzt ist ja bei der Sau immer noch was hinten raus gekommen. „Das ist der ClearGlide™ von Minitüb“, ruft ihm Schulte-Brömmelkamp zu. Als erstes fällt ihm die neue Farbe auf: ein leuchtendes Eisblau. Ganz anders als die Katheter, die er sonst immer verwendet. Und noch



etwas ist neu für ihn: jeder Katheter ist in einer einzelnen Hülle verpackt. Das kannte er so auch nicht. Er hat zwar von Kollegen schon davon gehört, aber benutzt hatte er selbst noch keine. Und was steht auf der Hülle drauf:

SafeBlue®. Jetzt ist Landwirt

Hansen neugierig geworden. Er reißt eine der Schutzhüllen auf. Dafür gibt es an der Vorderseite extra eine Perforierung. Ganz leicht lässt sich der Katheter durch das Plastik schieben. Das ging ja einfach denkt sich Landwirt Hansen. Und wofür das ganze? „Zum Zweck der Hygiene“ erklärt ihm der Kurier. Der hat inzwischen mit dem Abschleppdienst telefoniert. „Man zieht die Schutzhülle erst zurück, wenn man in der Scheide der

Sau ist. Somit bleibt der Katheterkopf sauber, und die Zervix der Sau wird nicht verunreinigt, was zu Infektionen führen kann. Und sterilisiert sind die Katheter auch.“ „Aha“ murmelt Landwirt Hansen. Das kannte er noch nicht. Bis jetzt hat er zwar immer die Scheide mit einem Papiertaschentuch gereinigt. Aber damit war es dann auch gut. Könnte das die Erklärung für die doch des öfter auftretenden Umrauscher sein ...?

„Und wie soll ich dann das Gleitmittel drauf bringen, wenn der Katheter doch in der Hülle steckt?“ fragt Hansen? „Gleitmittel?



Braucht man bei diesem Katheter nicht mehr. Sobald der Kopf mit der Flüssigkeit der Vagina in Kontakt kommt, bildet er einen Gleitfilm auf der Oberfläche, durch den der Katheter ganz sanft und ohne großen Kraftaufwand bis

zur Zervix gleitet.“ Leicht gleitend. Das klingt ja nicht schlecht, denkt sich Landwirt Hansen.

Jetzt tastet er den Kopf des Katheters ab. Der lässt sich ja auch leicht verformen. Vor allem an der Spitze dehnt sich das Material fast wie bei Gummi. Jetzt erkennt er auch, wieso: der Schaft reicht nur bis zur Hälfte des Kopfes. Jetzt zieht er daran. Ablösen lässt sich der Kopf nicht. Bei seinen Kathetern kommt es manchmal vor, dass der Kopf des Katheters in der Zervix hängen bleibt. „Das kann bei dem nicht passieren“, klärt ihn der Schulte-Brömmelkamp auf. „Das ganze Teil ist aus einem Guss gefertigt und nicht per Hand drauf geklebt, wie es bei den Billiganbietern der Fall ist.“ „Und warum ist der Kopf dann so elastisch?“ „Damit er sich optimal an die Gegebenheiten der Zervix anpassen kann, und dementsprechend abdichtet, damit kein Sperma zurückfließt.“ Der Fahrer drückt ihm eine Broschüre über den ClearGlide™ in die Hand. Da ist ein Bild drauf, das hat er so auch noch nicht gesehen. Es trägt die Überschrift ‚Endoskopische Aufnahme: ClearGlide in der Zervix der Sau‘. „Da kann man gut erkennen, wie der Katheter die Zervix nach hinten hin abdichtet und dadurch keinen Rückfluss erlaubt.“

Weniger Spermarückfluss: das hat Landwirt Hansen nun restlos überzeugt. Da hat sich jemand was dabei gedacht. Er nimmt Schulte-Brömmelkamp eine Packung ab. Billig ist sie nicht, aber beste Qualität ist eben nicht zum Niedrigstpreis zu haben. Dafür verfügt der Katheter über Vorteile, die sonst keiner hat. Die Besamung ist mühelos und die Qualität verspricht bessere Ergebnisse - da macht sich der Einsatz auf alle Fälle bezahlt!

Neue Poster von Minitüb



„Porcine Male Reproduction“

Das Poster behandelt die wichtigsten Aspekte bei der Gewinnung und Verarbeitung von Ebersamen.

Inhalt:

- Absamvorgang
- Spermaanlyse und Berechnung der Portionen
- Aufbau einer Spermazelle
- Mindestanforderungen an die Spermaqualität

Erhältlich als laminiertes Poster in der Größe DIN A2, in englischer Sprache.

EUR 3,-

REF. : 22421/2911

„Porcine Female Reproduction“

Das Poster behandelt die wichtigsten Aspekte der künstlichen Besamung von Sauen:

Inhalt:

- Brunsterkennung
- Wie bestimme ich den optimalen Besamungszeitpunkt
- Wie läuft künstliche Besamung richtig ab
- Mögliche Ursachen für eine Nicht-Trächtigkeit

Erhältlich als laminiertes Poster in der Größe DIN A2, in englischer Sprache.

EUR 3,-

REF. : 22421/2912



Minitüb auf der EuroTier: Halle 13 - Stand E57



Schwein

- ① ClearGlide™
- ① BoarMatic
- ② Konservierungsmedien
- ③ IDENT/IDEE
- ④ Sperm Vision™ mit automatischer Morphologie
- ⑤ Compact Dispenser
- ⑥ SPS 21

Rind

- ⑦ CombiSystem
- ⑧ Sperm Vision™ mit ECM und Viability
- ⑨ MPP Uno
- ⑩ eProCheck®

Besuchen Sie auch unseren zweiten Stand mit Produkten für das Reproduktionsmanagement beim Rind:

Halle 27 Stand E20