

Международные новости в области ИО от Minitube

SpermNotes®

Секрет высокоточных результатов анализа с помощью AndroVision®	2
AndroVision®: одна CASA-система, многочисленные возможности	3
AndroVision® в лабораториях по производству спермы животных	5
Точность автоматического измерения AndroVision® AutoMorph	8
Важность целостности мембраны и акросомы при замораживании спермы	10
Удовлетворенные клиенты - лучшая рекомендация	12

Передовая технология CASA: секрет высокоточных результатов анализа с помощью AndroVision®

В новом поколении CASA-систем используется высокотехнологичное оборудование, позволяющее получить максимальную точность за минимальное время. Minitube представляет систему AndroVision® с высокоскоростной камерой, оснащенной интерфейсом USB 3.0 с высоким разрешением и новейшим поколением датчиков IMX. Данный датчик выполняет задачи в четыре раза быстрее по сравнению со стандартными датчиками камер того же разрешения и работает с частотой до 75 кадров в секунду.

Благодаря этому AndroVision® имеет очень большую площадь анализа и, следовательно, позволяет оценить до 1.000 спермиев на исследуемое поле. Тем самым также повышается точность: большой объем образца увеличивает предсказательную способность. Таким образом, CASA-анализ образца спермы с помощью AndroVision® является чрезвычайно быстрым, надежным и точным, о чем Вы можете более подробно ознакомиться в следующей статье об AndroVision® в лабораториях по производству спермы животных на стр. 5.

Кроме того, камера AndroVision® USB 3.0 отличается малым размером пикселей 3,45 x 3,45 мкм в сочетании с высоким разрешением 2048 x 2048 пикселей. Эта функциональная особенность делает распознавание спермиев максимально точным, что является существенным преимуществом при морфологическом анализе спермиев, так как позволяет отображать морфологические характеристики, такие как проксимальные или дистальные цитоплазмические капли, и, таким образом, анализировать их с очень высокой точностью. Данная тема будет более подробно рассмотрена в статье о точности автоматического морфологического анализа на стр. 8.

Технология, лежащая в основе AndroVision®, обеспечивает высокую производительность и быстрый персонализированный анализ; это также способствует исключительной точности, так как спермии находятся в счетной камере непродолжительное время.

Все эти особенности делают систему AndroVision® незаменимой для анализа спермы в профессиональной лаборатории по производству спермы.



Minitüb GmbH
Hauptstr. 41
84184 Tiefenbach
Германия
Телефон: +49 8709 9229 0
E-mail: minitube@minitube.de
Ген. директор: Dr. Christian Simmet



AndroVision®: одна CASA-система, многочисленные возможности

AndroVision® представляет собой высокоэффективную CASA-систему для проведения стандартизированного интерактивного анализа спермы. AndroVision® обеспечивает не только классический автоматизированный анализ подвижности, концентрации и морфологии, но и предлагает также различные опции оценки функциональности спермы на базе флуоресцентного анализа. Базовая система с ПК и принадлежностями дополняется опциональными программными модулями.

AutoMorph: Модуль для автоматического распознавания проксимальных и дистальных цитоплазматических каплей, а также закрученных хвостов спермиев хряка и быка. Наличие спермиев с цитоплазматическими каплями может свидетельствовать о нарушении процесса их созревания, что может происходить в силу разных причин, таких как стресс или заболевание. Функция AutoMorph интегрирована в анализ подвижности и концентрации. Образец спермы следует разводить прозрачным разбавителем.

Расчет спермадоз: Автоматический расчет количества спермадоз, которые могут быть получены из эякулята, а также необходимого объема разбавителя, который следует добавить в эякулят.

Интерфейс лабораторного ПО: Позволяет связать AndroVision® с дополнительным программным обеспечением и внешними устройствами, такими как весы, фотометр, автоматизированный столик. IDA, IDEE и PRISM могут быть объединены с AndroVision® для полной организации работы лаборатории.

Контроль качества: Позволяет анализировать образцы после оттаивания и во время хранения, а также предоставляет информацию об анализе нативных эякулятов. Данный модуль позволяет анализировать образцы в процессе производства: образцы эякулятов можно анализировать несколько раз и сравнивать их со значениями исходных показателей. Эта функция также позволяет проверить качество уже обработанных эякулятов. Для анализа образца хранимой или оттаенной спермы выбирается донор из общего списка обработанных эякулятов, для которых еще не проводился контрольный анализ. Многократные анализы в производственной цепочке позволяют отслеживать качество эякулята на нескольких этапах производства.

С помощью модуля контроля качества легко анализируются готовые спермадозы, которые были получены извне или относятся к старым запасам и нуждаются в проверке качества. Для добавления донора в базу данных предусмотрен пользовательский интерфейс.

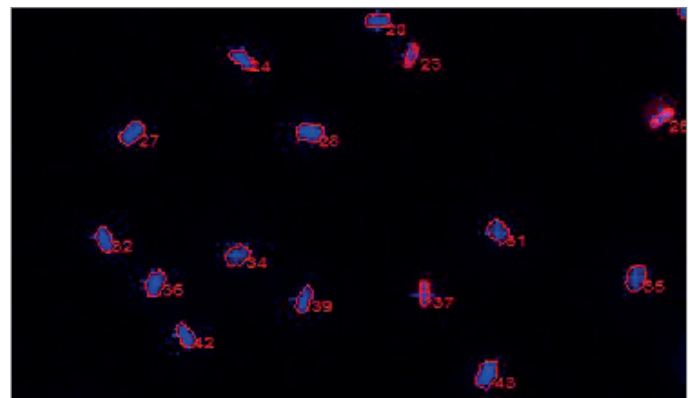
Морфология и морфометрия

Интерактивная система для морфологического и морфометрического анализа спермиев. Идентифицирует спермии в окрашенных и неокрашенных образцах и анализирует длину и ширину головки спермия, форму головки и асимметрию средней части каждого отдельного спермия (по Крюгеру). Результаты позволяют классифицировать спермии на подгруппы по большому числу морфологических аномалий.

Жизнеспособность - с какой целью проводится анализ?

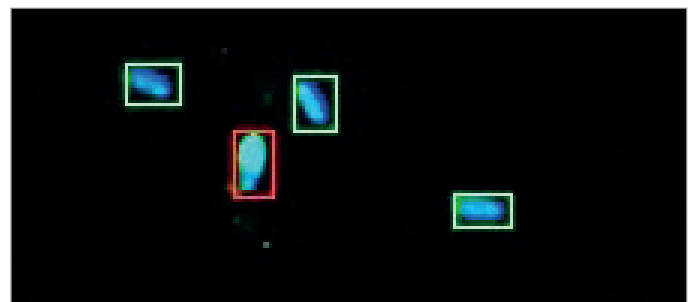
Плазматическая мембрана полностью окружает клетку спермия. Одной из ее основных функций является отделение содержимого клетки от внешней среды и селекция молекул, которые проникают извне. Любой дефект

в плазматической мембране может легко привести к гибели спермия. Анализ жизнеспособности используется в основном для контроля качества образцов свежей спермы или оттаенных образцов замороженной спермы. Тест на жизнеспособность может помочь диагностировать проблемы с фертильностью отдельных доноров или выявить эякуляты плохого качества прежде, чем будут произведены поставки спермы, чтобы в дальнейшем не столкнуться с проблемой низкой оплодотворяющей способности спермиев. Модуль **Жизнеспособность**, основанный на методе двойного флуоресцентного окрашивания, обеспечивает автоматический подсчет процентного содержания спермиев с неповрежденной мембраной.



Определение жизнеспособности спермиев с помощью окрашивания образцов красителем H33345/PI

Для исследования целостности плазматической мембраны применяется флуоресцентный метод анализа на основе двойного флуоресцентного окрашивания с помощью красителей Hoechst 33342/PI или SYBR14/PI. Краситель Hoechst 33342 проникает через мембраны и связывается непосредственно с ДНК. Все спермии окрашиваются в синий цвет. Краситель PI (йодид пропидия) проникает только через поврежденные мембраны. Он перекрывает синий цвет красителя Hoechst. Таким образом, спермии с поврежденными мембранами окрашиваются в красный/фиолетовый цвет. Исходя из этого, программа AndroVision® определяет процентное содержание спермиев с поврежденной и неповрежденной мембраной. При использовании красителя SYBR14/PI сначала все спермии окрашиваются в зеленый цвет. Кроме того, спермии с поврежденными мембранами маркируются красным цветом за счет проникновения в них красителя PI.



Автоматическое выявление спермиев с дефектной акросомой (выделяется красным цветом) при использовании метода двойного флуоресцентного окрашивания: H33342/FITC-PNA

AndroVision®: одна CASA-система, многочисленные возможности

Целостность акросомы - с какой целью проводится анализ?

Реакция акросомы является ключевым этапом успеха оплодотворения. Она позволяет спермию проникнуть в яйцеклетку. Необходимая предпосылка: неповрежденная плазматическая и акросомная мембраны. Наличие различных стресс-факторов во время обработки спермы может привести к повреждению мембраны акросомы или вызвать преждевременную реакцию акросомы. Вследствие этого успешное оплодотворение становится невозможным.

Модуль **Целостность акросомы** осуществляет автоматический подсчет процентного содержания спермиев с поврежденной акросомой на основе метода двойного флуоресцентного окрашивания.

Для исследования целостности акросомы применяется флуоресцентный метод анализа на основе двойного флуоресцентного окрашивания с помощью H33342/FITC-PNA. Все спермии окрашиваются в синий цвет (H33342). Поврежденные акросомы этих клеток помечаются зеленым цветом (FITC-PNA). На основе этого AndroVision® определяет процентное содержание спермиев с поврежденной и неповрежденной акросомой.

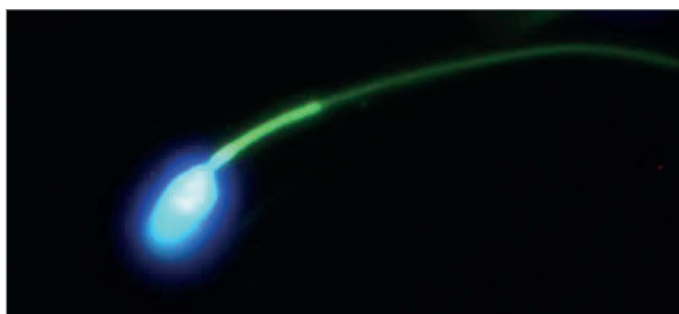
Активность митохондрий - с какой целью проводится анализ?

Анализ активности митохондрий является тестом для оценки энергетического метаболизма спермия.

Активность митохондрий также необходима для:

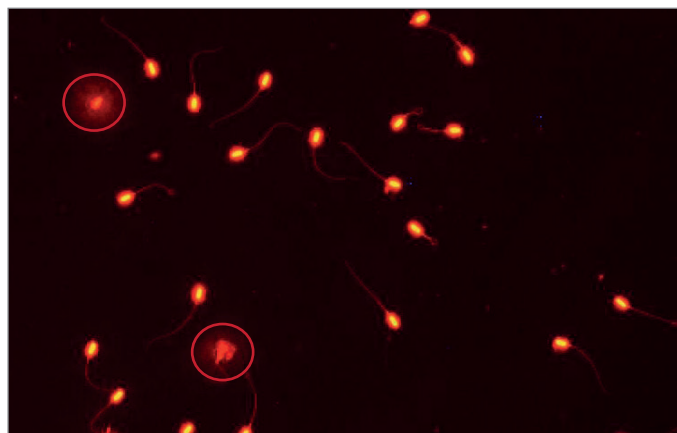
- Поддержания подвижности
- Способности спермия к капацитации (созреванию)
- Поддержания основных функций клетки

Модуль **Активность митохондрий**, основанный на методе двойного флуоресцентного окрашивания, позволяет проводить автоматический подсчет процентного содержания спермиев с активными митохондриями.



Спермии с высокой активностью митохондрий

Для оценки активности митохондрий применяется флуоресцентный метод анализа на основе двойного флуоресцентного окрашивания с помощью H33342/Rhodamin123. Все спермии окрашиваются в синий цвет (H33342). Кроме того, средняя часть спермия с активными митохондриями маркируется зеленым цветом (Rhodamin 123). На основе этого AndroVision® определяет процентное содержание спермиев с высокой активностью митохондрий.



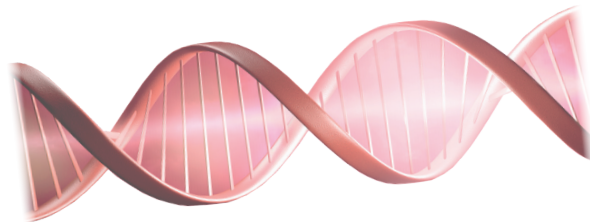
Спермии, формирующие эффект ореола (гало-эффект)

Целостность ДНК - с какой целью проводится анализ?

Успешность осеменения и последующего развития эмбриона в значительной степени зависит от целостности ДНК спермия. Следовательно, целостность структуры ДНК может быть использована в качестве показателя потенциала фертильности либо объяснять недостаточную способность к репродукции конкретного племенного животного. Таким образом, тестирование целостности ДНК предлагает новый подход к выявлению причин более низких показателей фертильности.

Модуль **Целостность ДНК** обеспечивает автоматический подсчет процентного содержания спермиев с фрагментированной ДНК на основе специального дисперсионного метода в сочетании с флуоресцентным окрашиванием.

Данный метод позволяет обнаружить спермии с дефектной ДНК: если ДНК спермия фрагментирована, то вокруг его головки формируется ореол света или гало. В свою очередь, у всех спермиев без гало-эффекта целостность ДНК не нарушена. При окрашивании образца йодидом пропидия (IP) и воздействии флуоресцентного света проявляется ореол. Таким образом, с помощью данной методики можно определить процент спермиев с фрагментированной ДНК в конкретном эякуляте или образце.



Сохранить лифлет

https://www.minitube.ru/storage/web/source/ru/pdf/androvision-bolse-cem-sistema-casa/pdf_12500-0000_Leaflet-AndroVision_ru_191204.pdf



AndroVision® в лабораториях по производству спермы животных

Rudolf Großfeld, Ph.D., Minitube

Правильное и точное измерение качественных и количественных параметров эякулята является необходимым условием для получения сперматозоидов с требуемым количеством жизнеспособных спермиев. В профессиональных лабораториях по производству спермы анализ количественных параметров объема и концентрации осуществляется в автоматическом режиме с использованием весов, фотометров и других вспомогательных устройств. С использованием систем компьютерного анализа спермы (CASA), таких как AndroVision®, субъективная оценка подвижности спермы с помощью микроскопа вручную была заменена объективной компьютерной оценкой с помощью CASA. Обладая возможностью обнаружения морфологически аномальных спермиев с цитоплазматическими каплями или закрученными хвостами в эякулятах хряков, использование CASA-систем на сегодняшний день является особенно эффективным.

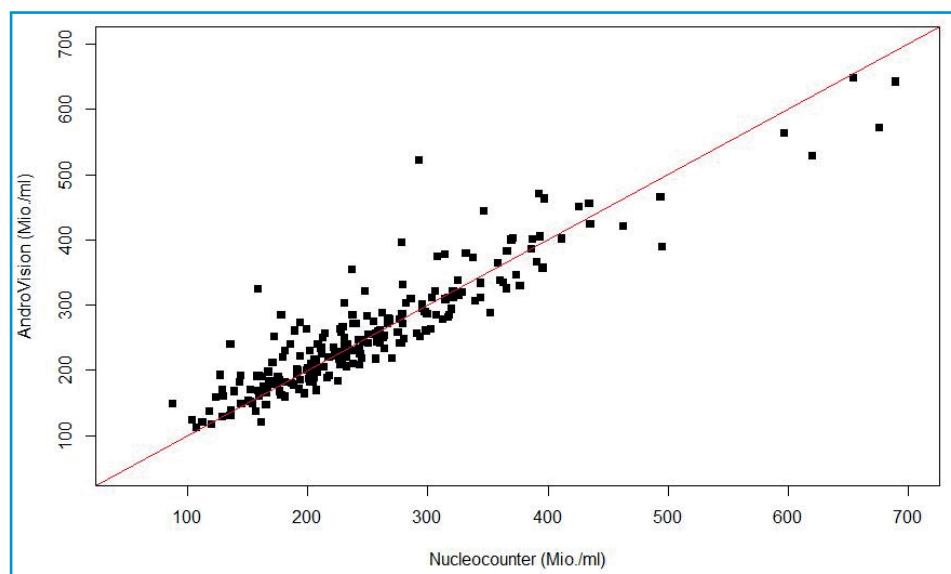
Помимо простого измерения основных параметров эякулята во время производства спермы (подвижность, концентрация, аномалии), CASA-система предлагает еще много других преимуществ в лаборатории по производству спермы. Со снижением влияния человеческого фактора, в результате более высокой степени стандартизации за счет использования автоматических пипеток для разбавления, весов и одноразовых счетных камер, производство спермы достигает максимальной точности и эффективности.

1. Точность определения концентрации

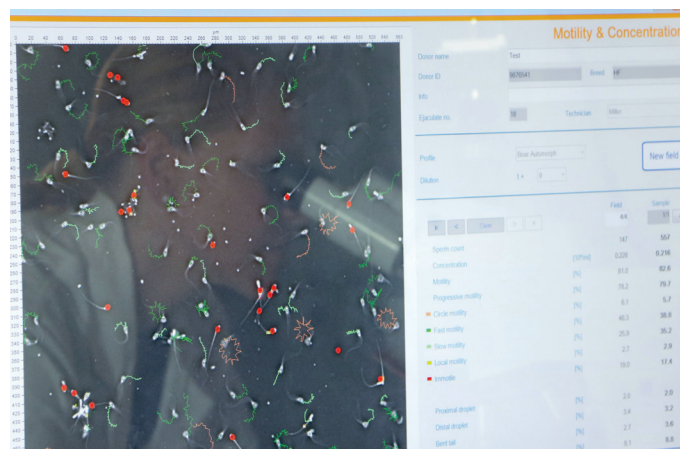
С помощью AndroVision® определение концентрации спермы, подверженной повреждению, становится особенно точным и надежным. Как показывает следующий график, измерение концентрации спермы очень хорошо коррелирует с эталонным методом (NucleoCounter, SP 100).

Математический коэффициент согласованности методов измерения в этом ряду измерений 220 эякулятов хряков составляет 0,9164, что представляет собой почти полную согласованность методов. Это показывает, что AndroVision® обеспечивает достоверное измерение концентрации спермы.

Для того, чтобы предотвратить появление ошибок вследствие неправильного



пипетирования, в AndroVision® предусмотрена функция автоматического контроля. Система автоматически оценивает количество спермиев на поле измерения в счетной камере, рассчитывает коэффициент вариации и выдает предупредительное сообщение, если значение этого параметра окажется выше нормы. Подобная ситуация может возникнуть, например, если счетная камера не заполнена полностью или в пределах полей измерения из-за погрешностей пипетирования находятся пузырьки воздуха. С учетом этой информации специалисты могут принять необходимые меры и, таким образом, предотвратить появление неверных результатов измерений.

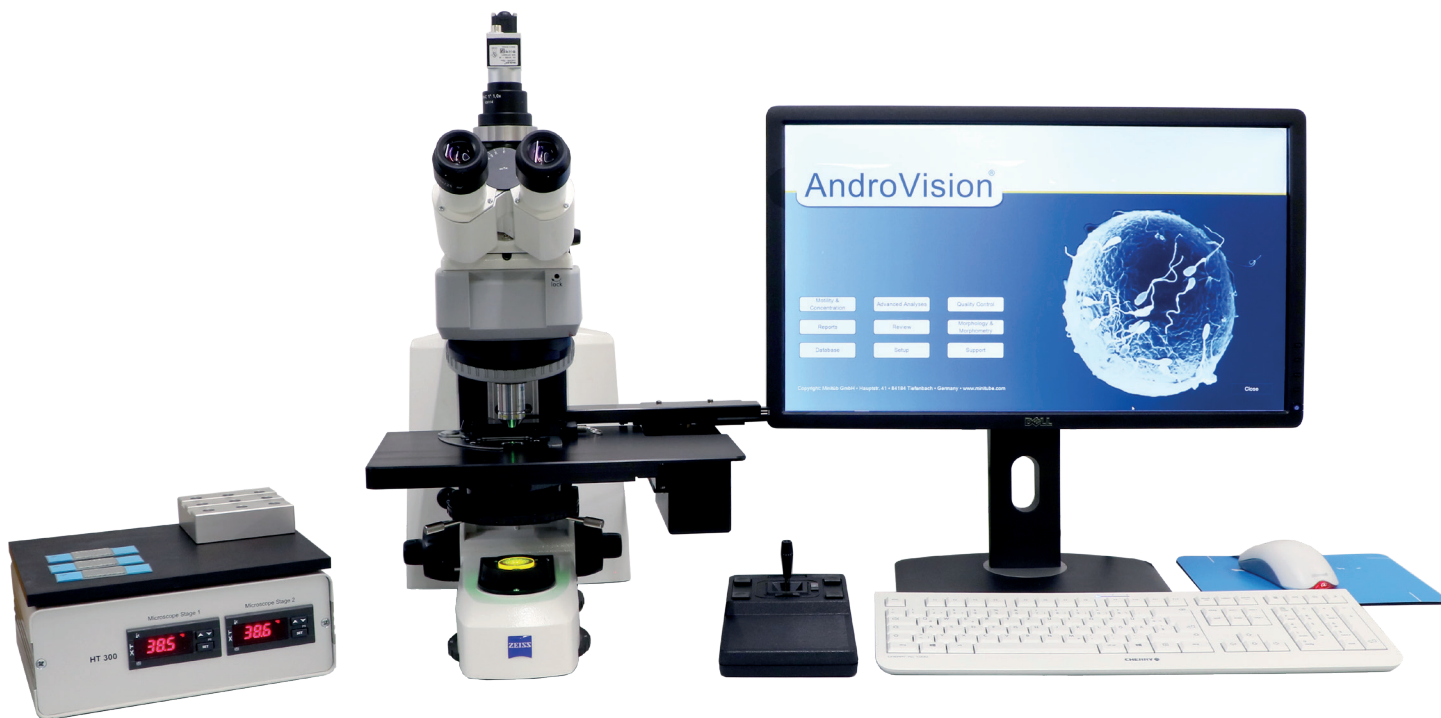


2. Инструменты для увеличения скорости

Дополнительными инструментами для рационализации процесса оценки эякулятов являются устройство для считывания штрих-кода, сенсорный экран и прямая передача данных о результатах измерений в ПО для управления лабораторией. Например, если идентификационный номер животного нанесен на спермоприемник в виде штрих-кода, AndroVision® может использовать устройство для считывания штрих-кодов для распознавания донора спермы в программном обеспечении. Данный инструмент может использоваться для нативных эякулятов и

храняемых образцов. Благодаря этому не только предотвращается возникновение ошибок при записи данных, но и значительно сокращается количество шагов при работе с программным обеспечением. После сканирования штрих-кода AndroVision® открывает новое окно анализа, затем остается только наполнить счетную камеру и, одним нажатием кнопки, начать и завершить измерение. Нагревательный стол ScanStage автоматизирует и стандартизирует дальнейший процесс, а наличие сенсорного экрана позволяет напрямую вводить пользовательские команды. Таким образом, для запуска системы не требуется использование мыши и клавиатуры. Все это позволяет ускорить работу с AndroVision® и процесс обработки спермы.

AndroVision® в лабораториях по производству спермы животных



3. Передача данных и удаленный доступ

Важной частью стандартизированного производства спермы, исключающей ошибки и ускоряющей весь процесс, является прямая и автоматизированная передача всех результатов измерений из AndroVision® в программное обеспечение для управления лабораторией. Такая передача данных является чрезвычайно универсальной. Данные могут передаваться через соединение RS232 или извлекаться через интернет-протокол (IP) непосредственно из базы данных AndroVision®. В свою очередь, последний метод предлагает множество дополнительных возможностей. База данных AndroVision® основана на языке структурированных запросов (SQL) - четко определенном стандарте для запросов к базам данных. Практически любое программное обеспечение, способное обрабатывать SQL-запросы, может получать данные анализа спермы из AndroVision®. Такой запрос может быть выполнен удаленно в интрасети. Таким образом, пользователь имеет возможность онлайн доступа к данным анализа эякулята всего лишь через несколько секунд после его завершения.

4. Комплексный контроль качества

AndroVision® также является очень ценным инструментом для контроля качества (QC) хранимых и оттаенных образцов. Контроль качества имеет очень большое значение для предприятий. В AndroVision® данные анализа нативного эякулята и контроль качества связаны в единой базе данных. Это позволяет проводить анализ стабильности подвижности в течение нескольких дней после охлаждения или замораживания и оттаивания. В результате обеспечивается отбор доноров с более высокой подвижностью спермы после обработки и хранения и, следовательно, с более высокой потенциальной репродуктивной способностью.

Контроль качества произведенных сперматозоидов является важным инструментом самоконтроля для племенных станций. Помимо проверки

подвижности спермы, следует также контролировать конечное содержание спермиев в сперматозоиде. Подтверждение соответствия этих двух параметров минимальным требованиям очень важно в работе предприятий, поскольку AndroVision® позволяет выдавать сертификаты качества эякулятов, которые впоследствии могут быть предоставлены конечным клиентам. В отчетном модуле AndroVision® пользователь может с легкостью восстановить историю качества спермы отдельных доноров. Использование этой информации облегчает принятие решений об отборе доноров.

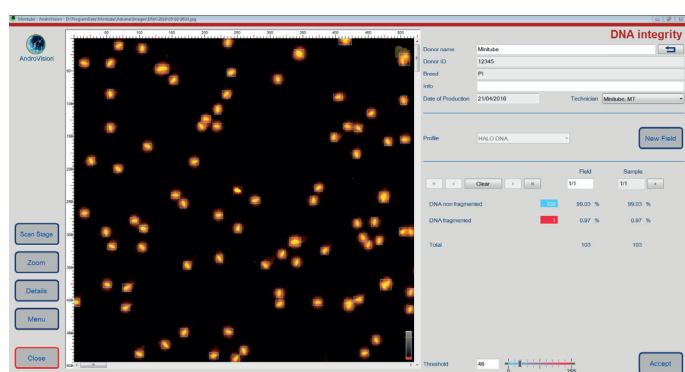
5. Расширенные возможности анализа в AndroVision®

Расширенные возможности анализа в AndroVision® также включают в себя дополнительный набор инструментов. Проводя оценку целостности акросомы образцов, предприятие получает возможность тщательно контролировать соблюдение температурного режима спермы, так как акросомы чувствительны к температурным колебаниям. Кроме того, отслеживание состояния акросомы произведенных образцов спермы является инструментом для выявления возможного содержания микотоксинов в корме на очень ранней стадии¹.



AndroVision® в лабораториях по производству спермы животных

Модуль анализа ДНК AndroVision® предназначен для проверки целостности ДНК спермиев молодых хряков, т.е. в качестве первичного исследования. Данный анализ позволяет предотвратить низкие показатели фертильности после искусственного осеменения, если у молодого хряка нарушена целостность ДНК. Тест на целостность ДНК также помогает выявить стареющих хряков, а также хряков, которые демонстрируют низкий уровень фертильности, несмотря на нормальное качество спермы. Благодаря опции флуоресценции AndroVision®, возможно исследовать соответствующие функциональные параметры спермиев без необходимости вкладывать средства в дорогостоящий проточный цитометр.



6. Обзор функций

AndroVision® включает в себя расширенную функцию обзора всех полученных данных. Все данные результаты анализа, изображения и видеозаписи сохраняются и могут быть пересмотрены в любое время. Высокая степень детальности охватывает отдельные данные о сперме. Кроме того, эти данные доступны через SQL-запрос по сетевому соединению.

Подводя итог, следует отметить, что AndroVision® является инструментом управления для предприятий с возможностями, выходящими далеко за рамки базового анализа спермы. Извлечение данных из AndroVision® для дальнейшего использования является очень удобным и быстрым. Функции контроля качества образцов и флуоресцентного анализа являются ценными инструментами для мониторинга производительности как отдельных хряков, так и всей станции.

¹Tsakmakidis, I.A.; Lymberopoulos, A.G.; Alexopoulos, C.; Boscas, C.M.; Kyriakis, S.C. In vitro effect of zearalenone and α -zearalenol on boar sperm characteristics and acrosome reaction. *Reprod. Dom. Anim.* 2006, 41, 394–401.

Отзывы пользователей:



Для производства и реализации более 4 миллионов спермадоз в год со всех сторон предъявляются неизменно высокие требования к качеству. С введением компьютерного анализа спермы для оценки эякулятов, GFS сделала большой шаг вперед в дальнейшем развитии методов лабораторных исследований спермы, что, в свою очередь, позволило осуществить ряд других важных нововведений.

После всестороннего испытания нескольких различных CASA-систем GFS выбрала систему AndroVision® производства Minitube. В результате многочисленных сравнительных исследований спермы производства GFS в лабораториях TiHo в Ганновере и IFN Schönow в течение 2018 года был завершён переход на CASA систему AndroVision® в лабораториях GFS по производству спермы.

В результате объективного исследования спермы, более масштабного выборочного анализа и точного параллельного измерения концентрации и подвижности спермиев, а также доли спермиев с аномалиями, можно определить точное количество качественных спермиев в эякуляте.

Таким образом, клиенты GFS могут быть уверены в том, что каждая полученная спермадоза будет стабильно высокого качества в соответствии с новым и более точным стандартом качества BRS. Большой приплод от лучших проверенных хряков приводит к более высокому уровню рентабельности для клиента.

Точность автоматического измерения AndroVision® AutoMorph

Rudolf Großfeld, Ph.D., Minitube

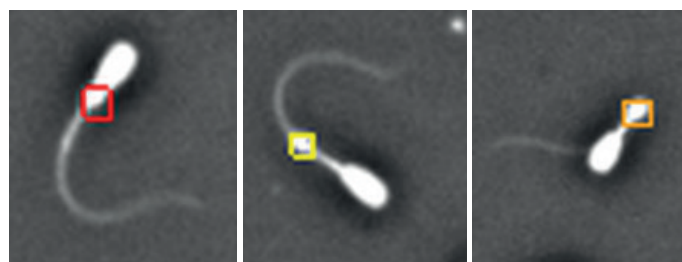
Современные CASA-системы, такие как AndroVision®, способны очень точно измерять подвижность и концентрацию спермы. В профессиональных лабораториях по производству спермы это имеет особо важное значение, поскольку эти показатели являются основой для подсчета количества сперматозоидов, которые могут быть получены из определенного эякулята. Помимо этого, подвижность спермы служит критерием качества, позволяющим оценить ожидаемую фертильность спермы. Поэтому обычно каждая лаборатория устанавливает минимальные требования к общей и/или прогрессирующей подвижности спермиев, чтобы определить, будет эякулят допущен или отбракован для дальнейшего производства.

Но подвижность спермиев - не единственный критерий качества, который учитывается при производстве спермы. Морфология спермиев является не менее важным показателем для высокой фертильности после осеменения произведенной сперматозоидом.¹ Высококачественная сперматозоидная доза предполагает как высокую подвижность спермиев, так и положительные показатели морфологии.

AndroVision® также способна оценивать морфологию спермы параллельно с подвижностью и концентрацией. Эта функция, называемая AutoMorph, определяет количество спермиев с проксимальными и дистальными цитоплазматическими каплями, а также с закрученными хвостами.

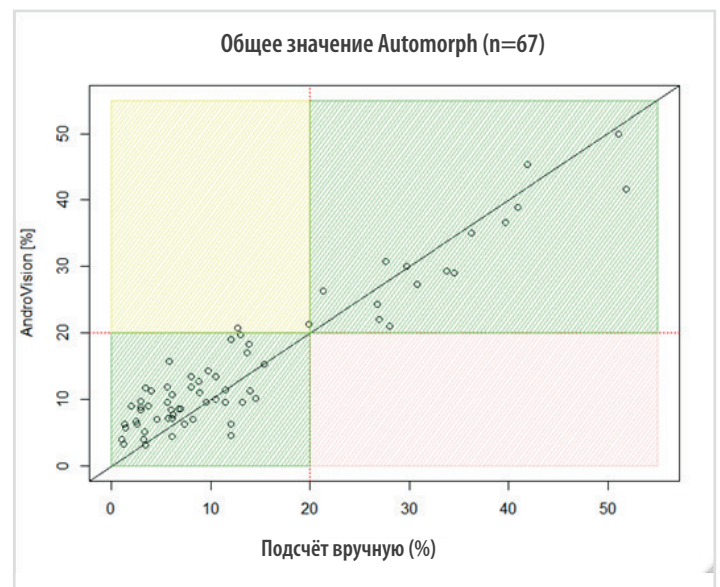
По сравнению с методикой приблизительной оценки цитоплазматических капель и закрученных хвостов с экрана компьютера, автоматический подсчет аномалий спермиев является значительным шагом вперед. С помощью этой функции оценка проксимальных и дистальных цитоплазматических капель и закрученных хвостов переходит от субъективной оценки к объективному измерению. До появления функции автоматического измерения AutoMorph лаборант должен был оценить количество спермиев по данным критериям на экране, причем зачастую под давлением времени в процессе производства. При таких обстоятельствах лаборанту вряд ли удастся в любой момент времени точно определить процент аномальных спермиев. Следовательно, допуск или отбраковка эякулята для дальнейшего производства основывается на менее объективном решении. В результате данный метод приводит к рискам, что эякулят со слишком высоким процентом аномальных спермиев будет допущен к производству, а эякулят, соответствующий норме, будет отбракован.

AndroVision® с функцией AutoMorph принимает на себя значительную часть ответственности лаборанта, при этом повышая уровень стандартизации измерений.



Проксимальные цитоплазматические капли Дистальные цитоплазматические капли Закрученные хвосты

Тем не менее, необходимо иметь уверенность в том, что модуль AutoMorph системы AndroVision® выдает надежные результаты измерений. Проверить это можно в процессе, называемом валидацией метода. Функция AndroVision® AutoMorph была протестирована на множестве видеозаписей, которые были получены в результате анализа образцов спермы с различным процентным содержанием спермиев с цитоплазматическими каплями и/или закрученными хвостами. Все видеозаписи оценивались индивидуально вручную на экране ПК, а количество дефектных спермиев систематически подсчитывалось и фиксировалось опытными лаборантами. Впоследствии те же самые видео были проанализированы с помощью AndroVision® AutoMorph на предмет количества дефектных спермиев. На следующем графике показан результат данного сравнения.



Для данной оценки было проанализировано 67 видеозаписей образцов спермы на предмет наличия цитоплазматических капель (проксимальных, дистальных) и закрученных хвостов двумя способами: вручную и с помощью AndroVision® AutoMorph. Диагональная линия на графике является линией идеального совпадения. Точки на этой линии показали равные результаты процентного содержания аномальных спермиев при подсчете вручную на экране и с помощью AndroVision® AutoMorph. Чем ближе к диагональной линии расположены точки, тем больше согласуется метод ручного подсчета и AndroVision® AutoMorph.

Существуют также математические коэффициенты для описания согласования методик. Одним из них является коэффициент корреляции согласованности (ККС)².

ККС для вышеуказанной серии испытаний составляет 0,92. Чем ближе это значение к 1, тем выше согласованность методов. В статистической литературе³ значение 0,92 описывается как "практически полная согласованность".

Другим способом оценки подобных испытаний на предмет согласованности метода является проверка того, был ли тот или иной эякулят адекватно допущен к производству или отбракован в зависимости от количества

Точность автоматического измерения AndroVision® AutoMorph

спермиев с цитоплазматическими каплями и/или закрученными хвостами. В этом случае эталонным методом является подсчет вручную. На приведенном выше графике такая оценка выполняется путем выделения четырех секторов на графике, в пределе порога при максимум 20% аномальных спермиев с цитоплазматическими каплями (проксимальными и/или дистальными) и закрученными хвостами. Максимально допустимым значением было установлено 20% спермиев с вышеназванными аномалиями. Это максимальное значение морфологических аномалий ниже, чем установленное значение в 25% по критериям BRS⁴ (Немецкой ассоциации животноводства). Поскольку AndroVision® AutoMorph в настоящее время не проводит оценку всех возможных аномалий (например, аномалий головки), был установлен более жесткий порог максимального значения. Точки данных в левом нижнем и правом верхнем секторе (зелёные сектора) были бы безошибочно допущены или отбракованы. Точки данных в верхнем левом секторе (желтый) были бы ложно отбракованы, так как система AndroVision® AutoMorph выявила более высокий процент аномальных спермиев, чем было подсчитано вручную на экране. Точки данных в правом нижнем секторе (красный) были бы ложно допущены и эякулят не соответствовал бы требованиям. Подобное может произойти, если CASA-система не обнаружит все аномалии в образце спермы в сравнении с подсчетом вручную.

При использовании данного метода валидации 97% (n=65) из всех (n=67) образцов спермы были оценены, допущены и отбракованы корректно. 3% (n=2) образцов были ложно отбракованы и ни один эякулят не был ложно допущен.

Суммируя все это, AndroVision® AutoMorph позволяет достоверно определить, может ли тот или иной эякулят использоваться для производства спермы в зависимости от процентного содержания проксимальных и дистальных цитоплазматических капель и закрученных хвостов. Такая оценка осуществляется параллельно в режиме онлайн со стандартной скоростью анализа подвижности и концентрации спермы. Все результаты измерений, полученные с помощью AndroVision®, позволяют осуществлять надежный контроль качества образцов спермы и, таким образом, обеспечивать наивысшее качество спермадозы.

¹ Kummer, AB et al. Multivariate analyses for determining the association of field porcine fertility with sperm motion traits analysed by computer-assisted semen analysis and with sperm morphology. *Reprod. Dom. Anim.* 48, 747-54 (2013).

² Lin, L. I. A concordance correlation coefficient to evaluate reproducibility. *Biometrics* 45, 255-68 (1989).

³ Koch, R. & Spörl, E. Statistische Verfahren zum Vergleich zweier Messmethoden und zur Kalibrierung: Konkordanz-, Korrelations- und Regressionsanalyse am Beispiel der Augeninnendruckmessung. *Klin. Monbl. Augenheilkd.* 224, 52-57 (2007).

⁴ Bundesverband Rind und Schwein – Anforderungen an Besamungseber hinsichtlich ihrer Eignung zum Einsatz in der KB, https://www.rind-schwein.de/services/files/gesetzzevo/gb_201005.pdf, accessed 20.8.2019

Отзывы пользователей:



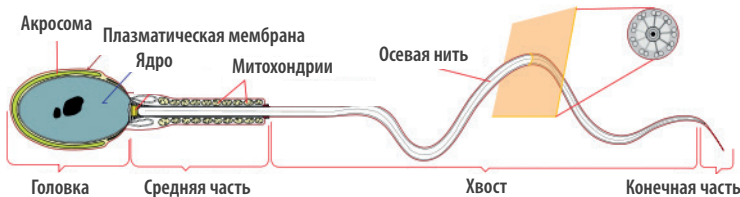
Кооператив “Central Aurora Alimentos” является одним из крупнейших промышленных комплексов Бразилии и мировым эталоном в области технологии мясopереработки, в котором насчитывается 11 аффилированных кооперативов, а также 100 тысяч ассоциированных членов и более 28 тысяч сотрудников. Поголовье кооператива насчитывает более чем 200.000 свиноматок на своей производственной базе. В настоящее время он уже располагает Центром генных технологий (ЦГТ I) - Gene Transfer Center (GTC I), рассчитанным на поголовье 372 животных со средней производительностью 60.000 спермадоз в месяц. Недавно открытый ЦГТ II (GTC II) имеет общую площадь 4.266,09 м², производительность 45.000 спермадоз в месяц и позволяет содержать 300 хряков в помещениях с наилучшими условиями для содержания животных.

Minitube является партнером компании Aurora в обслуживании двух ЦГТ, где для сбора и обработки эякулятов используются различные технологии и оборудование, такое как автоматические чучела для хряков BoarMatic, CASA-система AndroVision® Automorph, программное обеспечение IDEE Management, программное обеспечение IDENT для электронной идентификации животных, система разбавления SmartDispenser с темперирующими баками, фасовочные машины MiniBSP и система очистки воды (обратный осмос). Все расходные материалы, используемые в процессах, также обеспечиваются компанией Minitube, а для оказания постоянной технической поддержки инженеры осуществляют выезды в ЦГТ, обучающие тренинги и дистанционную поддержку.

Важность целостности мембраны и акросомы при замораживании спермы

Dominika Becherer, Minitube

Несмотря на то, что криоконсервация спермы получила широкое распространение, известно, что в результате процессов замораживания и оттаивания при изменении температуры, индукции осмотического стресса и образовании кристаллов льда происходит повреждение спермиев. Важно отметить, что в результате этих изменений нарушается целостность цитоплазматических мембран, акросом и ДНК, снижается активность митохондрий, подвижность и жизнеспособность спермиев¹. Неповрежденные цитоплазматические мембраны и акросомы обеспечивают капацитацию спермиев, акросомную реакцию и, в конечном итоге, оплодотворение яйцеклетки. Ряд исследований продемонстрировал корреляцию этих функциональных параметров клетки с фертильностью². При использовании данных многократного анализа спермы достигается более высокая корреляция с оплодотворяющим потенциалом исследуемого образца спермы³. Кроме того, было приведено значение функциональных признаков спермиев в качестве прогноза репродуктивной способности быков. Если клеточная мембрана становится проницаемой, это приводит к потере цитоплазмы и заканчивается смертью клетки.



Помимо возможности более точного прогнозирования фертильности самцов на основе полученных данных анализа, детальная проверка качества эякулята в ходе производственного процесса в лаборатории может быть чрезвычайно важной для усовершенствования различных этапов обработки спермы. Темпы разбавления, время эквилибрации, скорость замораживания и управления процессом оттаивания спермы являются ключевыми шагами в ее производстве и тесно связаны с потерей качества спермы в ходе технологического процесса. Функциональные параметры спермы, такие как целостность мембраны или акросомы, оцениваемые на различных этапах обработки, являются удобными показателями для определения этапов

обработки с высокой потерей качества спермы, а также для их дальнейшего улучшения. Например, в ходе полевого испытания на промышленном предприятии с племенными быками, Minitube наглядно продемонстрировал, насколько важен контролируемый и стандартизированный процесс замораживания для поддержания оптимального качества спермы⁴.

Для оценки жизнеспособности спермиев, целостности акросом и функций митохондрий был разработан проточно-цитометрический способ, с помощью которого производится одновременная оценка вышеназванных показателей. В рамках данного анализа "жизнеспособные спермии" определяются как клетки, имеющие неповрежденную плазматическую мембрану. Этот признак оценивается путем окрашивания образца спермы йодидом пропидия (PI), являющимся флуоресцирующим веществом, который связывается с ДНК. Клетки, имеющие неповрежденную плазматическую мембрану, препятствуют проникновению PI в клетку и окрашиванию ядра. При этом при наличии поврежденной плазматической мембраны PI проникает в клетку и связывается с ДНК, в результате клетки флуоресцируют красным цветом. Целостность акросомы определяется с помощью флуоресцентно маркированных лектинов растений. В большинстве лабораторий для оценки целостности акросомы выбирают ПНК из агглютинаина арахиса - растительного лектина, получаемого из плодов арахиса. ПНК связывается с β -галактозной фракцией, ассоциированной с наружной мембраной акросомы спермиев, в результате чего акросомная область клеток с повреждениями выявляется с помощью флуоресценции. В каждом случае лектины сами по себе не являются флуоресцентными, но могут быть маркированы множеством различных флуоресцентных веществ³.

В соответствии с методом проточной цитометрии, описанным выше, Andro-Vision® предоставляет возможность легко анализировать данные важные функциональные параметры спермиев в лаборатории по производству спермы. С помощью модулей Жизнеспособность и Целостность акросом могут быть проанализированы соответствующие показатели спермадозы.



Важность целостности мембраны и акросомы при замораживании спермы

Оба метода анализа проводятся по принципу контр-окрашивания:

Жизнеспособность:

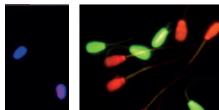
Флуорохром/краситель 1: H33342 или SYBR-14

➔ ДНК-краситель, проникаемый сквозь мембрану

Флуорохром/краситель 2: PI (йодид пропидия)

➔ непроницаемый через мембрану ДНК-краситель с высокой аффинностью

➔ верификация проницаемых, поврежденных клеточных мембран



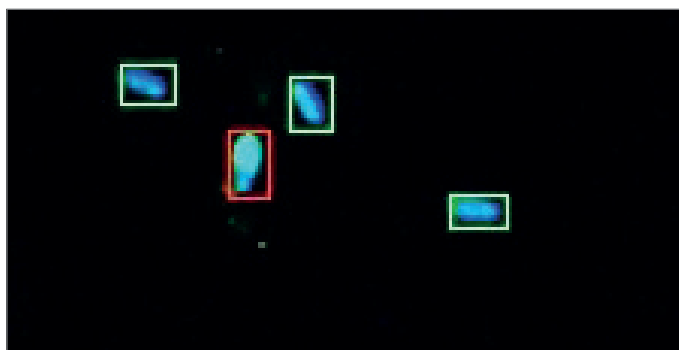
Целостность акросом:

Флуорохром/краситель 1: H33342

➔ ДНК-краситель, проникаемый сквозь мембрану

Флуорохром/краситель 2: FITC (флуоресцинизоцианат) конъюгированный с ПНК (арахисового лектина)

➔ плазматическая мембрана покрывает наружную акросомную мембрану и является непроницаемой для ПНК - ПНК связывается с наружной акросомной мембраной только после реакции акросомы (слияния с плазматической мембраной) - FITC имеет более высокую окрашивающую способность, чем H33342



Автоматическое выявление спермиев с дефектной акросомой (выделяется красным цветом) при использовании метода двойного флуоресцентного окрашивания: H33342/FITC-PNA

С каждым комплектом красителей предоставляется подробный протокол. Изображения анализируются с помощью соответствующих модулей AndroVision®, в результате чего в течение нескольких секунд определяется процент клеточной популяции. Впоследствии полученная информация используется для оценки качества эякулята.

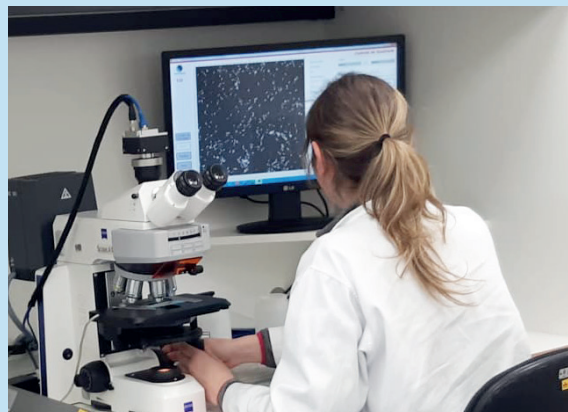
¹ Effects of cryopreservation on sperm viability, synthesis of reactive oxygen species, and DNA damage of bovine sperm
H. Gürlér et al. ; Theriogenology 86(2) - February 2016

² Changes in motility, morphology, plasma membrane and acrosome integrity during stages of cryopreservation of buck sperm
A. Mushtaq et al., Journal of the South African Veterinary Association | Vol 85, No 1, 2014

³ Assessment of sperm quality: a flow cytometric approach
James K. Graham, Department of Physiology, Colorado State University, Fort Collins in Animal Reproduction Science Volume 68, Issues 3–4, 3 December 2001, Pages 239–247

⁴ Technical report Minitube TurboFreezer - A standardized freezing process is crucial for efficient production of cryopreserved bull semen

Мнения пользователей:



“Когда речь идет о системе CASA, AndroVision® является отличным вариантом не только с точки зрения превосходной технологии, но в плане технической помощи, которую Minitube нам предоставляет.”

*Ана Паула Мелладжи - Профессор отделения свиноводства
- Кафедра животноводства - Факультет ветеринарной
медицины - УФРГС - Бразилия*



“С тех пор, как наш центр искусственного осеменения работает с AndroVision®, качество нашей работы значительно улучшилось”.

Д-р ветеринар. наук Грегор Плевник, Птуй, Словения

Удовлетворенные клиенты - лучшая рекомендация

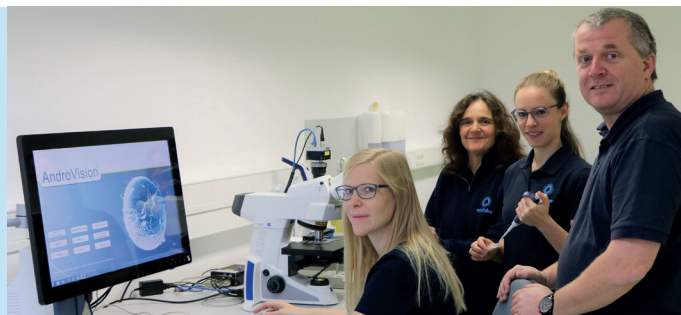


CASA-система AndroVision® компании Minitube поддерживает проекты по размножению диких животных

Центр репродукции животных A.R.C. в Братиславе (Словакия) - это семейная компания, которая занимается разработкой практических репродуктивных технологий для оказания услуг в области животноводства и ветеринарии. Специализируясь на диких животных, таких как муфлоны, серны и медведи, или полудомашних диких животных в условиях экстенсивного земледелия, таких как благородный олень или лань, биолог Ярослав Покоради, кандидат биологических наук, и его команда опираются на двадцатилетний опыт работы в области репродуктивных технологий.

С установкой AndroVision® он получил оптимальную поддержку процесса сбора всей необходимой для его целей информации благодаря точному, стандартизированному и интерактивному анализу спермы.

“Я и моя команда рады видеть компанию Minitube в области биотехнологий в мире животных, которая, благодаря своей продукции и качественному оборудованию, улучшает репродуктивное здоровье животных. Система AndroVision® - это как хороший немецкий автомобиль, быстрый, надежный и профессиональный”, - пояснил г-н Покоради.



Первая система AndroVision® CASA в Уругвае для производства спермы в коммерческих целях

Племстанция “El Coraje” de Bove Itzaina Hnos приобрела одну из CASA-систем AndroVision® компании Minitube в Саранди-дель-Йи, Уругвай, для обеспечения регулярного анализа спермы и контроля качества.

El Coraje - это семейная компания, которая занимается животноводством как основным видом деятельности и с самого начала всегда делала акцент на эффективности, имея породу Брангус (Brangus) в качестве инструмента для повышения производительности и улучшения экономических показателей. Использование AndroVision® позволит станции El Coraje достичь более высокого уровня качества, необходимого для экспорта спермы в другие страны.

Андрес и Пабло Бове Ицаина, братья и владельцы племстанции комментируют: “Это был исторический день для El Coraje и для нашего Центра Репродукции. Мы приобрели систему AndroVision® - систему CASA номер 1 в мире, отличающуюся высокой степенью точности для стандартизированного и интерактивного анализа спермы, и стали первой племстанцией в Уругвае в области коммерческого производства спермы. Мы сделали эту инвестицию с целью исключения субъективности и человеческого фактора, а также для повышения эффективности наших производственных процессов. Для более широкого и успешного продвижения El Coraje!



Обучение работе с продуктами

Minitube проводит обучение по продуктам, отвечающее Вашим индивидуальным требованиям. Наша цель - предоставить всю необходимую информацию о системе, дать полезные советы и рекомендации, а также оказать помощь в анализе ошибок и устранении возможных нештатных ситуаций.