

Notícias internacionais da Minitube sobre IA

SpermNotes®

O segredo por trás das análises altamente precisas com o AndroVision®	2
AndroVision®: um sistema, inúmeras possibilidades	3
AndroVision® em laboratórios de sêmen animal	5
Precisão do módulo AndroVision® AutoMorph	8
A importância da integridade da membrana e do acrossoma em processos de congelamento do sêmen	10
Cientes satisfeitos são a melhor referência	12

Tecnologia superior: o segredo por trás das análises altamente precisas com o AndroVision®

A nova geração de Sistemas CASA utiliza equipamentos de alta tecnologia para obter o máximo de precisão em um período mínimo de tempo. A Minitube oferece o sistema AndroVision® com uma câmera de alta velocidade equipada com uma interface USB 3.0 de alta resolução e a mais recente geração de sensores IMX. Estes sensores são quatro vezes mais rápidos em comparação com os sensores de câmera padrão da mesma resolução e funcionam com uma taxa de até 75 frames por segundo.

Ela fornece ao AndroVision® uma área de análise muito grande por campo e, portanto, permite avaliar até 1000 espermatozoides por campo. Isso também aumenta a precisão: um tamanho de amostra maior aumenta o poder preditivo. A análise de uma amostra de sêmen com o AndroVision® é, portanto, extremamente rápida, confiável e precisa, como você pode ler no artigo seguinte sobre AndroVision® em laboratórios de sêmen animal, na página 5.

A câmera AndroVision® USB 3.0 também se destaca pelo pequeno tamanho de pixels, de 3,45 x 3,45 µm, combinado com uma alta resolução de 2048 x 2048 pixels. Esse recurso torna o reconhecimento de espermatozoides altamente preciso: uma grande vantagem, pois permite que características morfológicas, como gota citoplasmática proximal ou distal, sejam exibidas e, portanto, analisadas com uma precisão muito alta. Um tópico que será mais explorado no artigo na página 8 sobre a precisão da análise pelo módulo AutoMorph.

A tecnologia por trás do AndroVision® permite alto rendimento e análises rápidas; Isso também contribui para sua precisão, pois o tempo de permanência da amostra na câmara de contagem é menor.

Esses recursos qualificam o AndroVision® para análise de sêmen em laboratórios como nenhum outro sistema.



Impressão:

Minitube International AG
Hauptstr. 41
84184 Tiefenbach
Alemanha
Telefone: +49 8709 9229 0
Email: minitube@minitube.de
Web: www.minitube.com



AndroVision®: um sistema, inúmeras possibilidades

AndroVision® é um sistema CASA altamente preciso para análise intrativa e padronizada do sêmen. AndroVision® não só proporciona análises clássicas de motilidade, concentração e morfologia, mas também várias avaliações de funcionalidade espermática por meio de fluorescência. O sistema básico com computador e acessórios é complementado por módulos opcionais.

AutoMorph é um módulo para reconhecimento automático de gotas proximais/distais e também cauda dobrada para sêmen bovino e suíno. As gotas citoplasmáticas surgem por uma maturação defeituosa dos espermatozoides e que pode ser atribuído a várias causas como estresse ou enfermidades. AutoMorph é integrado na análise de motilidade e concentração. A amostra de sêmen deve ser diluída em um diluente claro (ex. Andromed).

O módulo de **cálculo de doses** contabiliza automaticamente o número de doses que podem ser produzidas com o ejaculado e o volume de diluente que deve ser adicionado.

O Módulo **Lab Software Link** permite o link do AndroVision® com softwares como o IDA, IDEE e PRISM para uma configuração completa do laboratório.

O módulo de **Controle de Qualidade** analisa amostras após o descongelamento e refrigeração, além de permitir o link para uma análise com o ejaculado in natura. Oferece a possibilidade de analisar amostras durante a produção: amostras de um ejaculado podem ser analisadas mais de uma vez e podem ser comparadas com os valores do ejaculado in natura. Esta função também permite verificar a qualidade dos ejaculados já processados. Para analisar uma amostra, o doador é selecionado de uma lista que mostra os ejaculados processados para os quais nenhuma análise de controle foi realizada até o momento. Várias análises durante o processamento permitem rastrear a qualidade dos ejaculados durante várias etapas da produção. As doses de sêmen produzidas em laboratórios externos ou que pertencem a estoques mais antigos e precisam ser verificadas quanto à qualidade são facilmente analisadas com o módulo de controle de qualidade. É fornecida uma interface extra para adicionar o doador à base de dados.

Morfologia & Morfometria

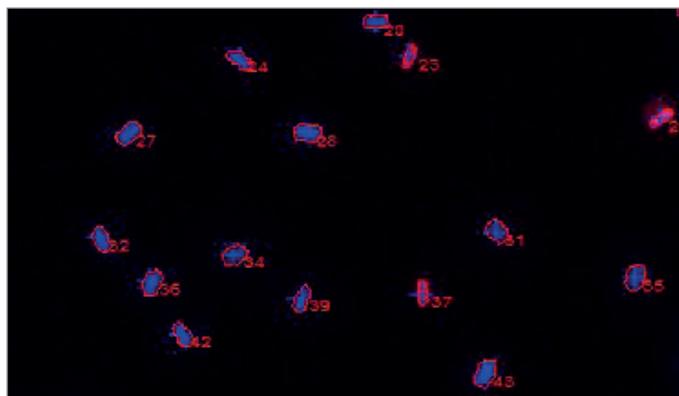
O sistema interativo para análise de morfologia e morfometria espermáticas identifica espermatozoides de amostras coradas e não-coradas e mensura comprimento, largura e formato de cabeça, além de assimetrias de peça intermediária de cada célula espermática individualmente (de acordo com Krüger). Os resultados podem ser classificados de acordo com uma seleção ampla de anormalidades morfológicas.

Viabilidade: Por que analisar?

A membrana plasmática envolve completamente o espermatozoide. Uma de suas funções principais é a delimitação com o meio extracelular e a seleção de moléculas que passam do meio extra para o intracelular. Um

defeito na membrana plasmática pode facilmente levar à morte celular. A análise de viabilidade é utilizada principalmente para o controle de qualidade de amostras resfriadas ou descongeladas de sêmen. O teste de viabilidade pode ajudar a detectar problemas individuais de fertilidade de doadores ou detectar ejaculados de baixa qualidade antes da distribuição das doses, ou seja, antes de possíveis falhas reprodutivas a campo. O **Módulo de Viabilidade** realiza contagem automática da porcentagem de espermatozoides com a membrana intacta, baseado em coloração fluorescente dupla.

Para o exame da integridade da membrana plasmática é utilizada uma coloração fluorescente dupla com Hoechst 33342/IP ou SYBR14/IP. O corante Hoechst 33342 penetra na membrana plasmática e se liga especificamente ao DNA. Todos os espermatozoides são marcados de azul. O corante IP (Iodeto de Propídio) penetra somente nas membranas lesadas. Ele se sobrepõe ao corante azul Hoechst. Os espermatozoides com membranas lesadas são marcados em vermelho/violeta. Com base nisso, o AndroVision® determina a porcentagem de espermatozoides com membranas lesadas e intactas. Quando se utiliza o corante SYBR14/IP, primeiramente todos os espermatozoides são marcados de verde. Posteriormente, os espermatozoides com membranas lesadas são marcados de vermelho ao haver penetração do corante IP.



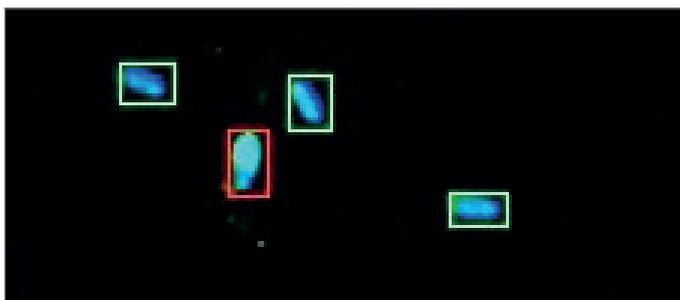
Deteção automática de espermatozoides com membrana plasmática lesada (marcadas de vermelho/violeta) por meio de coloração fluorescente dupla: H33342/IP

Integridade de Acrossoma: Por que analisar?

A reação acrossômica é um passo fundamental para uma fecundação bem sucedida. Ela capacita o espermatozoide a penetrar o oócito. Pré-requisito: membrana plasmática e acrossomal intactas. Vários fatores estressantes durante o processamento do sêmen podem causar danos à membrana acrossomal ou pode provocar reação acrossômica prematura. Desta forma, já não será mais possível uma fecundação bem sucedida. O **Módulo de Integridade de Acrossoma** realiza contagem automática da porcentagem de espermatozoides com acrossoma lesado, baseado em coloração fluorescente dupla.

AndroVision®: um sistema, inúmeras possibilidades

Para o exame de integridade de acrossoma, é utilizada uma coloração fluorescente dupla com H33342/FITC-PNA. Todos os espermatozoides são marcados de azul (H33342). Acrossomas lesados são marcados de verde (FITC-PNA). Com base nisso, o AndroVision® determina a porcentagem de espermatozoides com acrossomas lesados e íntegros.



Deteção automática de espermatozoides com acrossoma lesado (marcado em vermelho) mediante coloração fluorescente dupla: H33342/FITC-PNA

Atividade Mitocondrial: Por quê analisar?

A análise da atividade mitocondrial é um teste para a avaliação do metabolismo energético dos espermatozoides.

Entre outras coisas, a atividade mitocondrial é necessária para:

- Manutenção da motilidade
- Habilidade de capacitação espermática
- Manutenção das funções básicas da célula



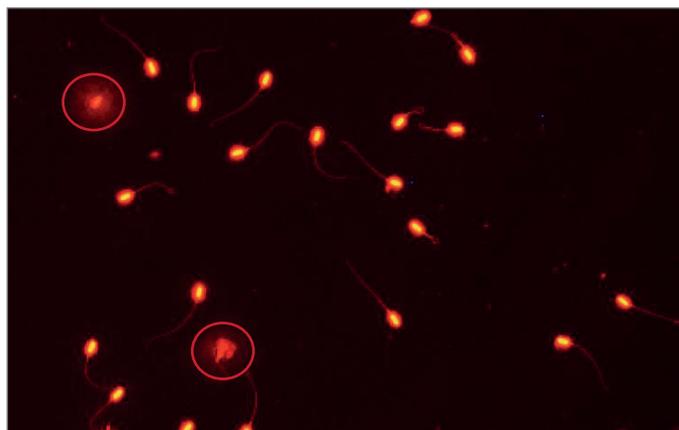
Espermatozoide com alta atividade mitocondrial

O **Módulo de Atividade Mitocondrial** realiza contagem automática da porcentagem de espermatozoides com mitocôndrias ativas, baseado em coloração fluorescente dupla.

Para a avaliação da atividade mitocondrial é utilizada uma coloração fluorescente dupla com H33342/Rodamina 123. Todos os espermatozoides são marcados de azul (H33342). Adicionalmente a peça intermediária do espermatozoide com mitocôndrias ativas é marcada de verde (Rodamina 123). Com base nisso, o AndroVision® determina a porcentagem de espermatozoides com alta atividade mitocondrial.

Integridade de DNA: Por quê analisar?

O sucesso da inseminação e desenvolvimento embrionário é altamente dependente da integridade do DNA do espermatozoide. Consequentemente, a estrutura do DNA pode ser utilizada para indicar potencial de fertilidade ou para explicar taxas de sub-fertilidade de um reprodutor específico. O teste da integridade de DNA oferece um novo enfoque para explicar taxas de fertilidade mais baixas.



Espermatozoides com DNA fragmentado apresentando halos ao redor da cabeça

O **Módulo de Integridade de DNA** realiza contagem automática da porcentagem de espermatozoides com DNA fragmentado, baseado em uma técnica especial de dispersão, combinada à coloração fluorescente dupla.

Esta técnica detecta células espermáticas defeituosas: se o DNA de um espermatozoide está fragmentado, uma aura de luz, ou halo, irá se formar ao redor da cabeça do espermatozoide. Por outro lado, todas as células espermáticas que não apresentam um halo, possuem o DNA intacto. O efeito de halo é visível quando a amostra foi corada com iodeto de propídio (IP) e exposta à luz fluorescente. A porcentagem de células com DNA fragmentado num dado ejaculado ou amostra pode ser determinada desta forma.

Faça o download do informativo

https://www.minitube.com.br/storage/web/source/pt/pdf/androvision-mais-que-um-casa/pdf_12500-0000_Leaflet-AndroVision_pt_191204.pdf



AndroVision® em laboratórios de sêmen animal

Rudolf Großfeld, Ph.D., Minitube

A medição correta e precisa dos parâmetros qualitativos e quantitativos dos ejaculados é o pré-requisito para a produção de doses de sêmen com um número correto de espermatozoides viáveis. A análise dos parâmetros quantitativos do sêmen, volume e concentração, foi automatizada em laboratórios profissionais de sêmen, utilizando balanças, fotômetros e outras ferramentas. Com os sistemas computadorizados de análise espermática (CASA), como o AndroVision®, a avaliação da motilidade do sêmen em centrais mudou da estimativa subjetiva no microscópio para uma medição objetiva com o CASA. Com a opção de detectar espermatozoides morfologicamente anormais com gotas citoplasmáticas ou caudas dobradas, o uso de sistemas CASA é hoje mais eficiente.

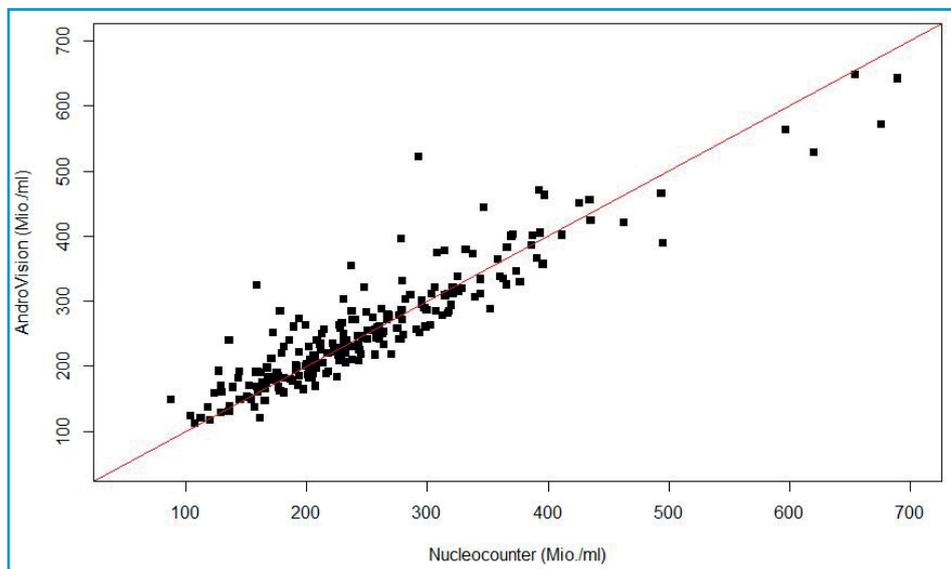
Além de medir os parâmetros principais dos ejaculados durante a produção de sêmen (motilidade, concentração, morfologia), um sistema CASA oferece muito mais vantagens em um laboratório. Com a redução da influência humana, a produção de doses de sêmen se torna precisa e eficiente. Isso se deve ao alto grau de padronização do uso de pipetadores de diluição automática, mesas de microscópio automáticas e câmaras de contagem descartáveis.

1. Confiabilidade das medições de concentração

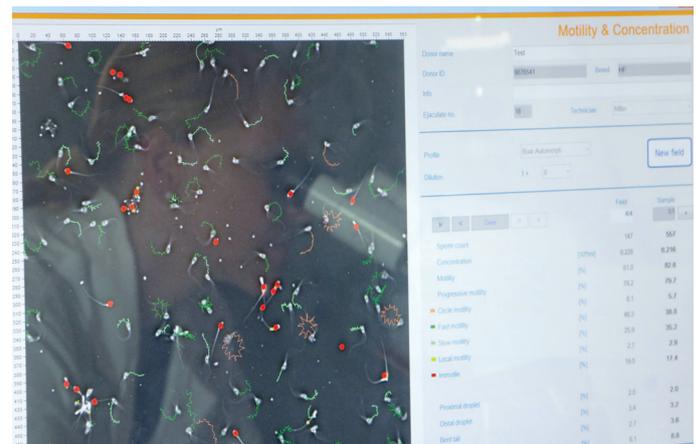
A medição da concentração de sêmen pode ser significativamente mais confiável com o AndroVision®. Podemos mostrar que a medição da concentração de sêmen se correlaciona muito bem com um método de referência (NucleoCounter, SP 100), como mostra o gráfico a seguir.

O coeficiente matemático para concordância dos métodos de medição nesta série de 220 ejaculados suínos é 0,9164, o que representa uma correlação quase completa. Isso mostra que o AndroVision® permite uma medição confiável da concentração espermática.

Para oferecer aos técnicos de laboratório informações sobre suas capacidades de pipetagem individuais e evitar erros, o AndroVision® possui uma função de



controle. O sistema avalia automaticamente a contagem de espermatozoides por campo de medição na câmara de contagem, calcula o coeficiente de variação e emite uma mensagem de aviso se esse valor for muito alto. Isso pode acontecer, por exemplo, se a câmara não estiver completamente preenchida ou se houver bolhas de ar nos campos de medição devido a erros de pipetagem. Com essas informações, o técnico pode agir e, portanto, evitar resultados de medição incorretos.



2. Ferramentas para aumentar a velocidade

Outras ferramentas para otimizar a avaliação de ejaculados são um leitor de código de barras, uma tela touch screen e a transferência direta dos resultados para um software de gerenciamento de laboratório. Se o ID do animal estiver impresso como um código de barras no recipiente do ejaculado, o AndroVision® poderá usar um leitor de código de barras para identificar o doador de sêmen no software. Esta ferramenta pode ser aplicada a ejaculados in natura e amostras de controle. Isso não apenas evita erros na gravação de dados, mas reduz significativamente o número de cliques no software. Após a leitura do código de barras, o AndroVision® abre uma nova tela de análise, somente a câmara de contagem precisa ser preenchida e, pressionando um botão, a análise é iniciada e concluída. Uma mesa automática padronizará ainda mais esse processo e uma tela touch screen permitirá a entrada direta de comandos do usuário na tela. Portanto, um mouse e teclado não são necessários para utilizar o sistema. Tudo isso agiliza o trabalho com o AndroVision® e acelera o processamento do sêmen.

AndroVision® em laboratórios de sêmen animal



3. Transferência de dados e acesso remoto

Uma parte importante de uma produção padronizada de sêmen que evita erros e acelera o processo, é a transferência direta e automatizada de todos os resultados de análise do AndroVision® para o software de gerenciamento de laboratório. Essa transferência de dados é muito flexível. Os dados podem ser enviados por meio de uma conexão RS232 ou via rede (protocolo IP) diretamente do banco de dados AndroVision®. O último método oferece uma variedade de recursos adicionais. O banco de dados AndroVision® é baseado na linguagem de consulta estruturada (SQL), um padrão bem definido para consulta de bancos de dados. Praticamente qualquer software capaz de lidar com consultas SQL pode obter dados de análise de sêmen do AndroVision®. Essa consulta pode ser realizada remotamente. Portanto, é possível que uma pessoa tenha acesso online aos dados apenas alguns segundos após a conclusão da análise de um ejaculado.

4. Controle de qualidade abrangente

O AndroVision® também é uma ferramenta muito valiosa para o controle de qualidade (CQ) de amostras controle. O CQ é muito importante para uma central. No AndroVision®, os dados de análise do ejaculado in natura e do CQ são conectados no banco de dados. Isso permite a análise comparativa da motilidade por vários dias, após o resfriamento, o congelamento e o descongelamento. Isso permite a seleção de machos com maior motilidade do sêmen após o processamento e armazenamento e, portanto, uma maior fertilidade prospectiva.

O controle de qualidade das doses de sêmen processado é uma importante ferramenta de auto-monitoramento para os laboratórios. Além de verificar

a motilidade do sêmen, a concentração final de espermatozoides na dose também deve ser monitorada. A prova de que esses dois parâmetros atendem aos requisitos mínimos é muito útil no atendimento ao cliente, pois o AndroVision® permite a emissão de certificados de ejaculados que podem ser fornecidos aos usuários finais das doses de sêmen. É muito fácil recuperar o histórico da qualidade do sêmen de doadores individuais no módulo de relatório do AndroVision®. Essas informações facilitam as decisões de seleção dos doadores.

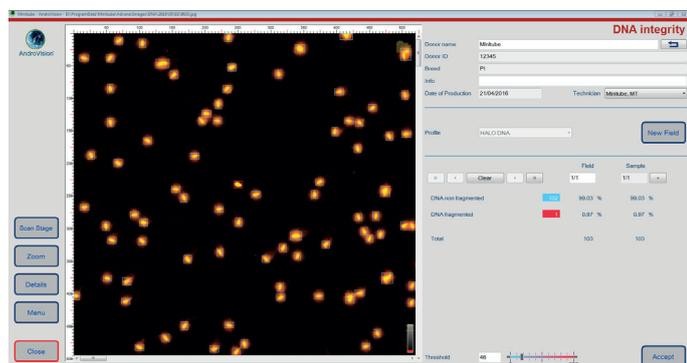
5. Opções avançadas de análise no AndroVision®

As opções avançadas de análise no AndroVision® adicionam mais um conjunto de ferramentas. A avaliação da integridade do acrossoma das amostras de CQ permite o monitoramento de perto do gerenciamento de temperatura do sêmen, pois os acrossomas são sensíveis às flutuações de temperatura. Além disso, o monitoramento do status do acrossoma de um subconjunto de amostras de sêmen produzido é uma ferramenta para detectar possíveis conteúdos de micotoxinas na ração em um estágio muito inicial¹.



AndroVision® em laboratórios de sêmen animal

O módulo de DNA do AndroVision® é útil para verificar a integridade do DNA no sêmen de animais jovens, ou seja, como um teste de entrada na central. Este teste em animais jovens pode impedir resultados de baixa fertilidade após a IA, caso o animal jovem tenha uma integridade de DNA prejudicada. O teste de integridade do DNA também é útil para machos mais velhos e machos que apresentam baixa fertilidade, embora com qualidade normal do sêmen. Com as opções de fluorescência do AndroVision®, os parâmetros funcionais espermáticos relevantes podem ser examinados no próprio centro, sem a necessidade de altos investimentos em um citômetro de fluxo.



6. Funções de revisão

O AndroVision® inclui uma vasta função de revisão de todos os dados obtidos. Toda a informação, fotos e vídeos da análise são armazenados e podem ser revisados a qualquer momento. O nível de detalhe se estende aos dados individuais de espermatozoides. Esses dados também estão disponíveis via consulta SQL em uma conexão de rede.

Em resumo, o AndroVision® é uma ferramenta de gerenciamento para uma central com recursos que vão muito além da análise básica do sêmen. A extração de dados do AndroVision® para uso posterior é muito flexível e muito fácil. A análise de amostra de CQ e as opções fluorescentes são ferramentas valiosas para monitorar o desempenho individual de animais e de toda a central.

¹Tsakmakidis, I.A.; Lymberopoulos, A.G.; Alexopoulos, C.; Boscos, 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.

Referência de Clientes:



Para a produção de mais de 4 milhões de doses de sêmen vendidas anualmente, a demanda por padrões superiores de qualidade é igualmente alta por todos os lados. Com a introdução da análise espermática computadorizada para avaliação dos ejaculados, a GFS deu um grande passo no desenvolvimento de métodos de teste de laboratório de sêmen, que, por sua vez, permitiram várias outras inovações importantes.

Após testes de vários sistemas CASA, a GFS optou pelo sistema AndroVision® da Minitube. Após numerosos testes comparativos de sêmen da GFS nos laboratórios de referência TiHo Hannover e IFN Schönow, a conversão para o sistema CASA AndroVision® nos laboratórios de sêmen da GFS foi concluída no decorrer de 2018.

Como resultado da triagem espermática ampla e imparcial, além da análise simultânea precisa da concentração, motilidade espermática e porcentagem de defeitos básicos de morfologia, é possível determinar um número células viáveis no ejaculado.

Dessa forma, os clientes da GFS têm a garantia de receber um número igual de espermatozoides férteis em todas as unidades de inseminação, de acordo com o novo e mais preciso padrão de qualidade da BRS (Associação Federal de Carne Bovina e Suína da Alemanha). Mais descendentes de machos testados se traduzem em maior lucratividade para o cliente final.

Precisão do módulo AndroVision® AutoMorph

Rudolf Großfeld, Ph.D., Minitube

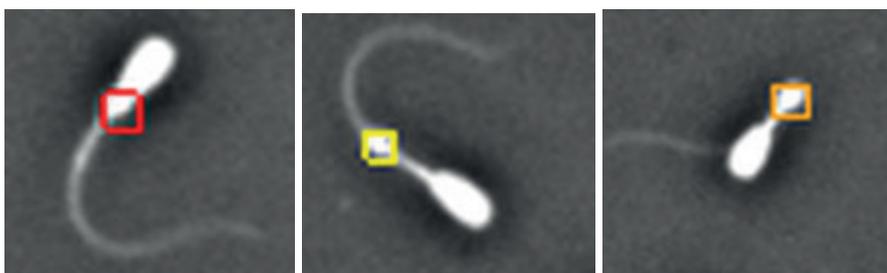
Os sistemas CASA de última geração, como o AndroVision®, podem medir a motilidade e a concentração espermáticas com muita precisão. Isso é importante para a produção de sêmen em laboratórios profissionais, onde esses valores são a base para o cálculo do número de doses de sêmen que podem ser produzidas a partir de um ejaculado. Além do uso para o cálculo de doses, a motilidade espermática serve como critério de qualidade, permitindo prever a fertilidade estimada do sêmen. Portanto, todo laboratório geralmente usa requisitos mínimos para a motilidade espermática total e/ou progressiva para decidir se um ejaculado é aprovado ou reprovado para posterior produção.

Mas a motilidade espermática não é o único critério de qualidade usado na produção de doses. A morfologia espermática também é essencial para a alta fertilidade da dose produzida. Uma dose de sêmen de alta qualidade precisa de alta motilidade e morfologia intacta dos espermatozoides.

O AndroVision® é capaz de avaliar a morfologia dos espermatozoides paralelamente às análises de motilidade e concentração. Essa função, chamada AutoMorph, contará os espermatozoides com gotas proximais e distais, além dos espermatozoides com caudas dobradas.

Comparado à análise visual de defeitos espermáticos na tela do computador, a contagem automática dessas anormalidades é um grande avanço. Com essa função, a avaliação das gotas citoplasmáticas proximais e distais e das caudas dobradas passa de uma estimativa subjetiva para uma análise objetiva. Até a disponibilidade da mensuração automática do AutoMorph, o técnico do laboratório precisava avaliar o número de espermatozoides com gotas citoplasmáticas e caudas dobradas na tela, geralmente sob pressão de tempo durante a produção. Sob tais circunstâncias, é improvável que um técnico de laboratório possa determinar com precisão a porcentagem de espermatozoides anormais a qualquer momento. Conseqüentemente, a aprovação ou descarte de um ejaculado para produção depende de uma decisão subjetiva. Portanto, há um alto risco de que os ejaculados com porcentagens muito altas de espermatozoides anormais sejam aprovados para produção ou que os ejaculados que estão OK, sejam descartados.

O AndroVision® com a função AutoMorph assume esta responsabilidade do técnico de laboratório, aumentando simultaneamente o nível de padronização da análise.



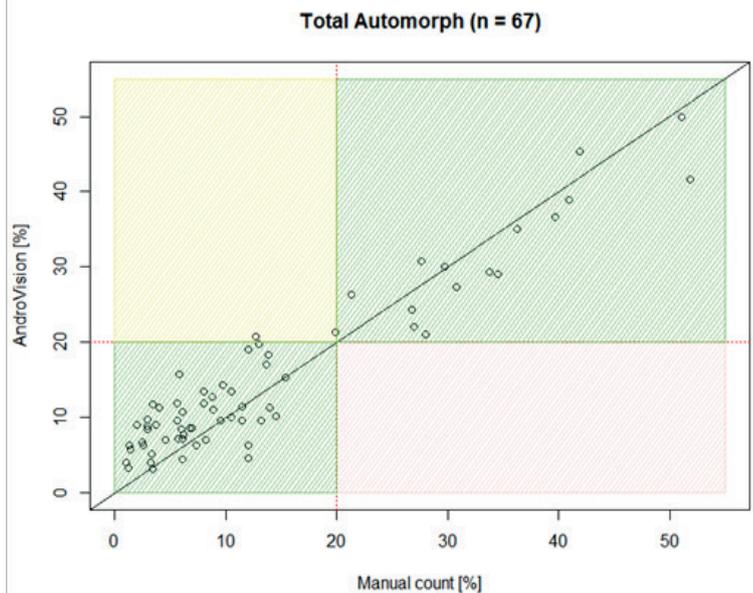
Gota Citoplasmática Proximal

Gota Citoplasmática Distal

Cauda Dobrada

No entanto, é preciso garantir que o AndroVision® AutoMorph produza resultados confiáveis. Isso pode ser testado em um processo chamado validação de método. O AndroVision® AutoMorph foi validado em um conjunto de vídeos gravados a partir de amostras de sêmen com porcentagens variadas de espermatozoides com gotas citoplasmáticas e/ou caudas dobradas. Esses vídeos foram avaliados individual e manualmente em uma tela de computador e o número de espermatozoides com malformações foi sistematicamente contado e registrado por técnicos de laboratório experientes. Posteriormente, os mesmos vídeos foram analisados com o AndroVision® AutoMorph quanto ao número de espermatozoides defeituosos. O gráfico a seguir mostra o resultado dessa comparação.

Para esta avaliação, 67 vídeos de amostras de espermatozoides foram avaliados para a presença de gotas citoplasmáticas (proximal e distal) e caudas dobradas de duas maneiras: manualmente e com o AndroVision® AutoMorph. A linha diagonal no gráfico é a linha de concordância perfeita.



Os pontos nesta linha representam resultados iguais de porcentagem de espermatozoides anormais, contados manualmente na tela ou pelo AndroVision® AutoMorph. Quanto mais próximos os pontos estiverem distribuídos ao longo da linha diagonal, melhor a correlação entre a contagem manual e o AndroVision® AutoMorph.

Também existem coeficientes matemáticos para descrever a concordância do método. Um é o Coeficiente de Correlação de Concordância (CCC)².

O CCC para a série de testes acima é 0,92. Quanto mais próximo esse valor estiver de 1, melhor será a correlação entre os métodos. Na literatura estatística³, um CCC de 0,92 é descrito como “concordância quase completa”.

Precisão do módulo AndroVision® AutoMorph

Outra maneira de avaliar esses testes comparativos é verificar se um determinado ejaculado teria sido corretamente aprovado ou descartado, dependendo do número de espermatozoides com presença de gotas citoplasmáticas e/ou caudas dobradas. A contagem manual é o método de referência neste caso. O gráfico acima apresenta essa avaliação atribuindo quatro setores ao gráfico, em torno de um limite máximo de 20% de espermatozoides anormais com gotas citoplasmáticas (proximal e/ou distal) e caudas dobradas. O limite para aprovação foi ajustado para 20% de gotas/caudas dobradas, o que representa uma menor porcentagem de anormalidades morfológicas permitidas pelos critérios da BRS⁴ (Associação Federal de Carne Bovina e Suína da Alemanha). Como o AndroVision® AutoMorph ainda não avalia todas as possíveis anormalidades (por exemplo, anormalidades na cabeça), o limite foi definido com mais rigor. Os pontos de dados no setor inferior esquerdo e superior direito teriam sido corretamente aprovados ou descartados. Os pontos de dados nos quadrantes inferior esquerdo e superior direito teriam sido corretamente aprovados ou descartados. Os pontos de dados no quadrante superior esquerdo seriam falsamente descartados, pois o sistema AndroVision® AutoMorph revelou uma porcentagem maior de espermatozoides anormais do que os contados manualmente na tela. Os pontos de dados no quadrante inferior direito teriam sido falsamente aprovados e um ejaculado inadequado seria processado. Isso pode acontecer, se o sistema CASA não captar todas as malformações em uma amostra de sêmen, em comparação com a contagem manual.

Na validação do presente método, 97% (n = 65) de todas (n = 67) as amostras de sêmen foram aprovadas ou descartadas corretamente. 3% (n = 2) das amostras foram erroneamente descartadas e nenhum ejaculado foi falsamente aprovado.

Em resumo, o AndroVision® AutoMorph pode decidir com segurança se uma amostra de sêmen pode ser usada para produção de sêmen, dependendo da porcentagem de gotas citoplasmáticas proximais e distais e caudas dobradas. Essa avaliação é realizada em paralelo com as análises padrão de motilidade e concentração do sêmen. Todos os resultados da análise fornecidos pelo AndroVision® permitem um controle de qualidade confiável e, com isso, uma dose de sêmen de alta qualidade.

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

Referência de Clientes:



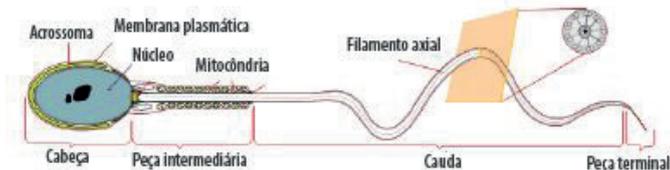
A Cooperativa Central Aurora Alimentos é um dos maiores complexos industriais do Brasil e referência global em tecnologia de processamento de carne, com 11 cooperativas afiliadas, somado a 100 mil associados e mais de 28 mil funcionários. A Cooperativa possui um rebanho com mais de 200.000 matrizes em sua base de produção suína. Atualmente, já possui uma Unidade de Disseminação Genética (UDG I) com capacidade para 372 animais e produção média de 60.000 doses/mês. A recém-inaugurada UDG II possui uma área total construída de 4.266,09 m², capacidade para 45.000 doses/mês e alojamento para 300 animais em uma instalação para oferecer as melhores condições de bem-estar animal.

A Minitube é parceira da Aurora na operação das duas UDG's, onde vários equipamentos e tecnologias são utilizados para coletar e processar os ejaculados, como manequins de coleta BoarMatic, Sistema CASA AndroVision® Automorph, software de gerenciamento IDEE, software IDENT para identificação eletrônica dos animais, Sistema de diluição SmartDispenser com tanques aquecidos para diluente, máquinas de envase MiniBSP e sistema de purificação de água (osmose reversa). Todos os consumíveis usados nos processos também são fornecidos pela Minitube e a equipe técnica fornece suporte contínuo às UDG's por meio de visitas, treinamentos e conexões remotas.

A importância da integridade da membrana e do acrossoma em processos de congelamento do sêmen

Dominika Becherer, Minitube

Embora a criopreservação de espermatozoides seja amplamente utilizada, é sabido que os processos de congelamento e descongelamento danificam os espermatozoides devido a mudanças de temperatura, indução de estresse osmótico e formação de cristais de gelo. Vale ressaltar que essas alterações afetam a integridade da membrana plasmática, acrossomas, mitocôndrias e DNA, além de reduzir a motilidade e a sobrevivência espermáticas¹. Membranas plasmáticas e acrossomas intactos são essenciais para a capacitação espermática, reação acrossômica e, finalmente, a fertilização do oócito. Vários estudos mostraram a correlação desses parâmetros funcionais das células com a fertilidade². Quando dados de múltiplos testes em espermatozoides são utilizados, são obtidas correlações mais altas com o potencial de fertilização de uma amostra de sêmen³. Além disso, foi mostrado o valor das características funcionais dos espermatozoides como preditores da fertilidade em bovinos. Se a membrana celular se torna permeável, ocorre uma perda de citoplasma, culminando na morte celular.

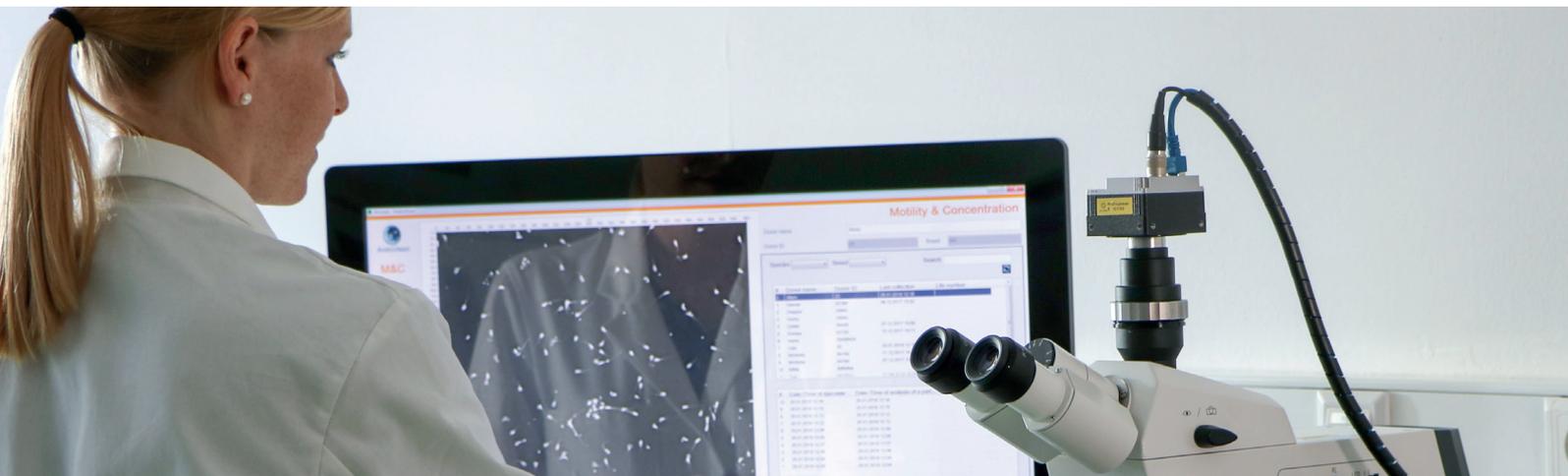


Além da possibilidade de prever a fertilidade do macho com mais precisão usando esses dados de análise, verificações detalhadas da qualidade do ejaculado durante o processo no laboratório de produção de sêmen podem ser úteis para melhorar as diferentes etapas do processamento do sêmen. As taxas de diluição, os tempos de equilíbrio, as taxas de congelamento e o descongelamento são etapas críticas na produção e são responsáveis pela perda da qualidade do sêmen durante o processo. Parâmetros funcionais dos espermatozoides, como integridade da membrana ou do acrossoma, avaliados nas diferentes etapas do processamento, são marcadores importantes para descobrir quais etapas do processamento apresentam alta perda de qualidade do sêmen e melhorá-las. Por exemplo, a Minitube mostrou em

um teste de campo em uma central de sêmen bovino, a importância de um processo de congelamento controlado e padronizado para manter a qualidade ideal do sêmen⁴.

Foram desenvolvidos procedimentos em citometria de fluxo, que avaliam simultaneamente a viabilidade das células espermáticas, a integridade acrossomal e a função mitocondrial. Para esta análise, os “espermatozoides viáveis” são definidos como células que possuem uma membrana plasmática intacta. Esse atributo é avaliado pela coloração de uma amostra de espermatozoide com iodeto de propídio (IP), uma sonda fluorescente que se liga ao DNA. As células que possuem uma membrana plasmática intacta impedirão que o IP penetre na célula e core o núcleo. No entanto, as células que possuem uma membrana plasmática danificada permitirão que o IP penetre na célula e se ligue ao DNA, provocando a fluorescência das células em vermelho. A integridade acrossômica é medida usando lectinas de plantas marcadas com fluorescência. A aglutinina de amendoim PNA, uma lectina vegetal derivada dos frutos de *Arachis hypogaea*, tornou-se a lectina de escolha na maioria dos laboratórios para avaliar a integridade acrossomal. O PNA se liga à fração β -galactose associada à membrana acrossomal externa dos espermatozoides, fazendo com que a região acrossomal das células exiba danos acrossomais à fluorescência³.

De acordo com os testes acima na citometria de fluxo, o AndroVision® oferece a possibilidade de analisar facilmente esses importantes parâmetros funcionais das células espermáticas no laboratório de produção de sêmen. Com os módulos de Viabilidade e Integridade do Acrossoma, a integridade da membrana e do acrossoma da dose de sêmen pode ser analisada. Ambas as análises são realizadas mediante colorações fluorescentes duplas:



A importância da integridade da membrana e do acrossoma em processos de congelamento do sêmen

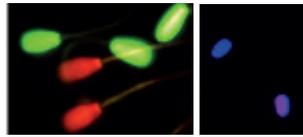
Viabilidade:

Fluorocromo 1: H33342 ou SYBR-14

➔ corante de DNA permeável à membrana

Fluorocromo 2: Iodeto de Propídio

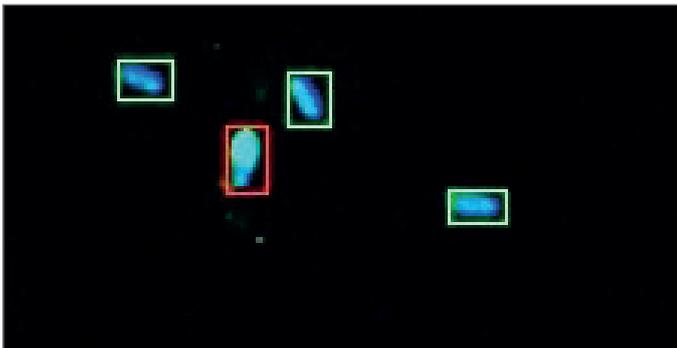
➔ corante de DNA não permeável à membrana com alta afinidade de ligação ➔ verificação da membrana celular danificada e permeabilizada



Integridade do Acrossoma:

Fluorocromo 1: H33342 ➔ corante de DNA permeável à membrana

Fluorocromo 2: FITC conjugado com PNA (lectina de *Arachis hypogaea* - amendoim) ➔ a membrana plasmática cobre a membrana externa do acrossoma e não é permeável ao PNA - o PNA se liga à membrana externa do acrossoma somente após a reação acrossômica (fusão com a membrana plasmática) - o FITC possui maior capacidade de coloração do que H33342



Deteção automática de espermatozoides com acrossoma lesado (marcado em vermelho) mediante coloração fluorescente dupla: H33342/FITC-PNA

Um protocolo detalhado é fornecido com todos os kits de coloração. As imagens são analisadas com os módulos de referência do AndroVision®, fornecendo uma porcentagem de cada população de espermatozoides em poucos segundos. Posteriormente, essas informações são usadas para a avaliação da qualidade do ejaculado.

¹ Effects of cryopreservation on sperm viability, synthesis of reactive oxygen species, and DNA damage of bovine sperm

H. Gürler et al. ; Theriogenology 86(2) - February 2016

² Changes in motility, morphology, plasma membrane and acrosome integrity during stages of cryopreservation of buck sperm

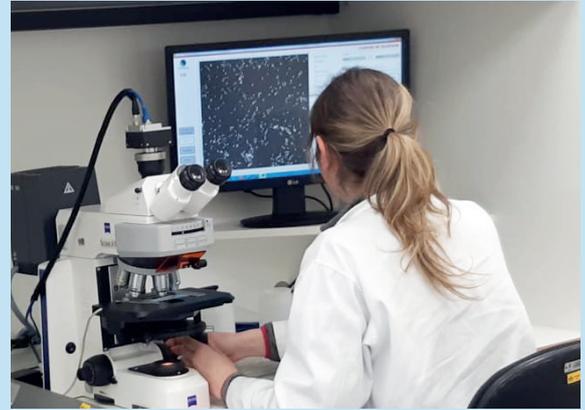
A. Mushtaq et al., Journal of the South African Veterinary Association | Vol 85, No 1, 2014

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

Depoimento de Clientes:



“Quando se trata de um sistema CASA, o AndroVision® é uma ótima opção, não apenas pela excelente tecnologia, mas também pela assistência técnica que a Minitube oferece a nós”.

Ana Paula Mellagi - Professora do Setor de Suínos - Departamento de Medicina Animal - Faculdade de Medicina Veterinária - UFRGS - Brasil



“Desde que nosso centro de Inseminação Artificial começou a trabalhar com o AndroVision®, a qualidade do nosso trabalho tem melhorado.”

Dr. vet. med. Gregor Plevnik, AI Ptuj, Eslovênia

Clientes satisfeitos são a melhor referência



Primeiro Sistema CASA AndroVision® no Uruguai para produção comercial de sêmen

A central de bovinos “El Coraje” de Bove Itzaina Hnos, comprou um Sistema CASA AndroVision® da Minitube em Sarandí del Yí - Uruguai, para apoiar sua análise rotineira do sêmen e controle de qualidade.

El Coraje é uma empresa familiar dedicada à pecuária como sua principal atividade e desde o início sempre enfatizou a eficiência, tendo a raça Brangus como uma ferramenta para aumentar a produtividade e melhorar os resultados econômicos. Com a instalação do AndroVision®, El Coraje poderá alcançar níveis mais altos de qualidade, o que lhes permitirá exportar doses de sêmen para outros países.

Andrés e Pablo Bove Itzaina, irmãos e proprietários da central comentam: “Dia histórico para El Coraje e para o nosso Centro de Reprodução. Adquirimos o AndroVision®, um sistema CASA de alta precisão para a análise padronizada e interativa do sêmen, número 1 em todo o mundo e o primeiro a entrar no Uruguai para produção comercial de sêmen. Fizemos esse investimento para deixar de lado a subjetividade e os possíveis erros humanos e dar passos mais firmes em nossos processos de produção. Por mais e melhor difusão da El Courage Genetics!”

O Sistema CASA AndroVision® da Minitube apoia projetos de reprodução de animais selvagens

O Centro de Reprodução Animal A.R.C. em Bratislava, Eslováquia, é uma empresa familiar que fornece tecnologia reprodutiva prática para serviços veterinários. Especializado em animais selvagens, como muflões, camurças e ursos, ou espécies de animais selvagens semi-domesticados em extensas condições agrícolas, como veado-vermelho ou gamo, o biólogo Jaroslav Pokorádi, Ph.D., e sua equipe contam com vinte anos de experiência no campo da reprodução animal.

Com a instalação do AndroVision®, ele obteve o suporte ideal para o seu processo de fluxo de trabalho, extraindo todas as informações necessárias para seus objetivos por meio de análise precisa, padronizada e interativa do sêmen.

“Eu e minha equipe temos o prazer de ver a Minitube no campo da biotecnologia no mundo dos animais, que, com seus produtos e instrumentos confiáveis, melhoram a saúde reprodutiva dos animais. O sistema AndroVision® é como um bom carro alemão, rápido, confiável e profissional.”, explicou Pokorádi.



Treinamento de produtos

A Minitube fornece treinamentos que atendem às suas necessidades individuais. Nosso objetivo é fornecer individualmente todas as informações relevantes sobre o sistema, dicas e recomendações, além de ajudar na análise de erros e solução de problemas. Nossos especialistas estarão sempre à disposição para lhe ajudar!