



Produkt- manual

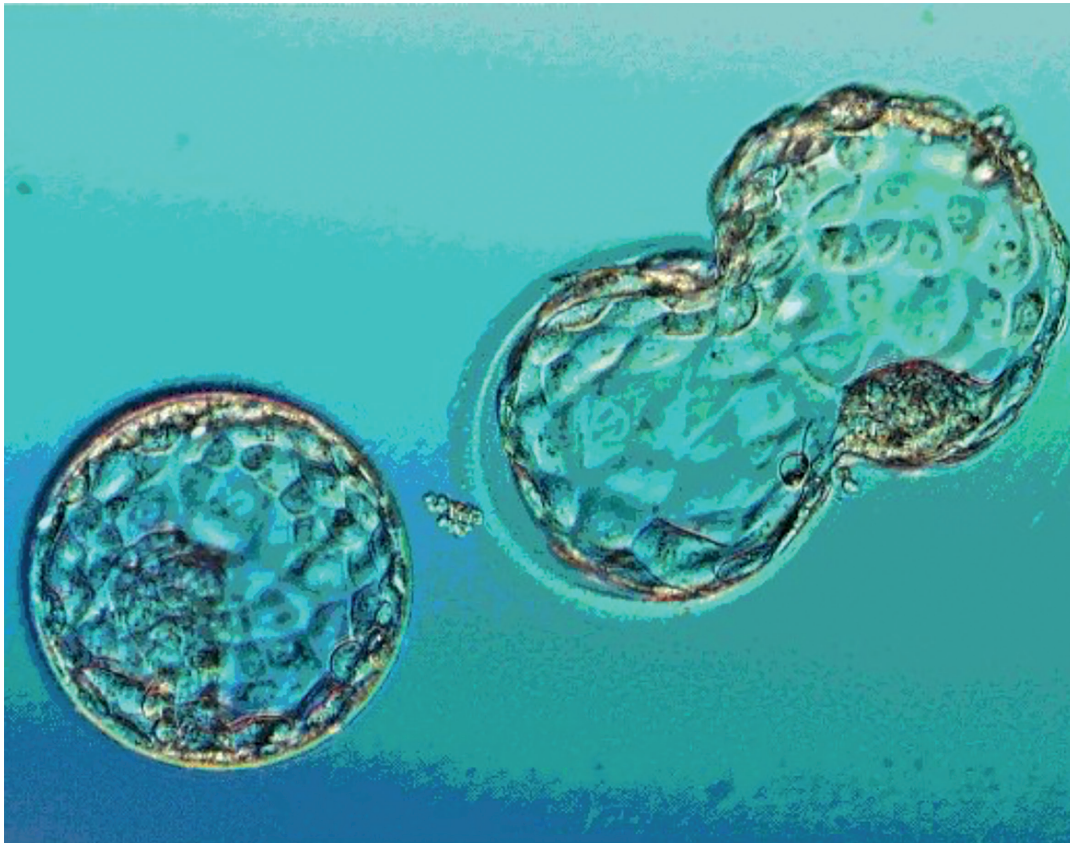


Nidation

1. Byggande av ett bo, som fåglar.
2. Implantation av det befruktade ägget (zygot) och byggandet av ett bo i endometriet, moderkakan.

Conception

1. Föreningen av manliga och kvinnliga gameter, spermier och ägg.
2. Ett intryck eller idé.



Innehåll	
Introduktion • Kvalitet.....	4
Hållbarhet • Förpackning	5
Produkter • Beställningsinformation	6
Produkter	7-9
EquiPure – densitetscentrifugering.....	10-13
Spädningslösningar	14-15
Frysmedium	16
Red Cushion - Centrifugeringskudde.....	17
ICSI.....	18-19
Transportmedium för embryon	20
Vitalitet- och morfologibedömning.....	21
Referenser.....	22
Kontakt.....	23

Introduktion

Nidacon International AB tillverkar och säljer medicintekniska produkter främst för assisterad befruktning (ART), med IVF, ICSI och inseminationslösningar (IUI). Företaget grundades 1996 av Assoc. Prof. Paul V. Holmes MSc, PhD, DrMedSc, en embryolog och endokrinolog från Institutionen för obstetrik och gynekologi vid Sahlgrenska Universitetssjukhuset i Göteborg.

Nidacon tar hänsyn till många olika faktorer när produkter designas. Vi hoppas att uppmärksamheten på detaljer har bidragit till att skapa produkter som leder till bättre resultat. Vi strävar efter att arbeta i nära relation med våra kunder; de är hörnstenarna i vår utvecklingsavdelning.

Vi är stolta över utvecklingen av våra produkter och ser till att vi svarar på våra kunders och forskarkollegors behov. Alla våra produkter är utvecklade i nära samarbete med proffs inom de olika områdena.

På Nidacon tar vi CSR (Corporate Social Responsibility) på allvar

Vi lovar att göra vårt bästa för att bidra till att skapa och upprätthålla en hållbar värld, inte bara genom att följa de strängaste miljöpolicyerna när det gäller våra produkter och produktion, utan genom att ta ansvar för vår påverkan på samhället som helhet. Vi kommer alltid att sträva efter att på bästa sätt bidra till att förbättra världen runt omkring, både hemma och utomlands. När allt kommer omkring, vad är det för mening med att bidra till att skapa nytt liv om vår värld inte är en hållbar plats att leva på?

Återvinning

På Nidacon tänker vi mycket på vårt arv, därför vi tar ansvar för vår påverkan på vår värld och arbetar aktivt för att se till att vårt arv är positivt. Det första steget i denna process är en mer medveten användning.



Insatser för biologisk mångfald

Den biologiska mångfalden minskar. Ett exempel är minskningen av antalet honungsbin och andra pollinatörer, som nu håller på att bli utrotningshotade arter. Detta är särskilt allvarligt eftersom bin spelar en kritisk roll i vårt ekosystem – majoriteten av alla växter och ungefär en tredjedel av världens grödor är beroende av korspollinering för att reproducera sig och frodas.

Av denna anledning fokuserar en del av Nidacons hållbarhetsinsatser på att bidra till att förhindra en ytterligare minskning av honungsbipopulationen, vilket i sin tur leder till ökad biologisk mångfald och pollinering i vårt lokala ekosystem.

Kvalitet

Nidacon är certifierade enligt SS-EN ISO 13485 (implementerad 2003-08-15). Ledningssystemet säkerställer fortsatt utveckling av organisationen.

Nidacon har för avsikt att alltid hålla den höga kvaliteten på sina produkter och för att uppnå detta testas alla batcher hos Nidacon innan de godkänns för marknaden. Ett parti släpps endast till försäljning om det uppfyller särskilda kriterier.

Varje parti åtföljs av ett kvalitetssäkringscertifikat som registrerar resultaten av testerna. Med hjälp av detta rigorösa kvalitetskontrollsystem säkerställer vi att varje batch uppfyller rätt standarder. Följaktligen är kunderna trygga i vetskapen om att våra produkter är pålitliga och kommer att ge goda resultat när de används på rätt sätt.

Hållbarhet

EquiPure är stabil i två år vid rumstemperatur. Öppnad förpackning förvaras vid 2 till 8°C när de inte används.

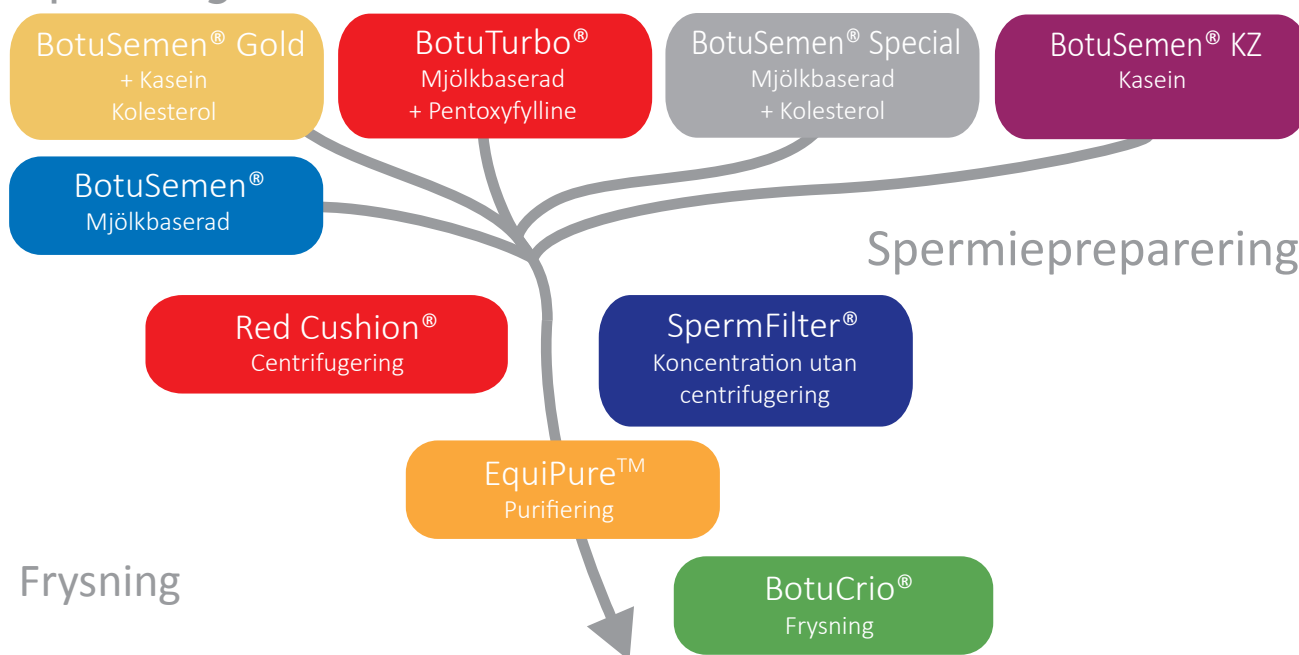
Spädningsvätskorna är stabila i två år i pulverform. Efter beredning i vatten kan de förvaras i kylskåp i 3 dagar. Det är också möjligt att frysa in när de är lösta i vatten. De har

då en hållbarhet på ett år. BotuCrio ska användas inom 3 dagar efter upptining. Den är möjligt att frysa om, men det finns då en risk för en ansamling av fett från äggulan som ses som svart skräp i mikroskop. Detta är dock ofarligt för spermerna.



Nidacon Equine Produktsortiment

Spädningsvätskor



Spermiepreparering

Frysning

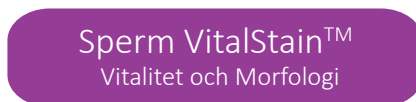
ICSI



Embryotransport



Diagnostik



Information om beställning

Produkt	Art. nr.	Volym
EquiPure	EPB-100	100 mL
BotuSemen	BTS-100	100 mL
BotuSemen med vatten	BTSSW-100	100 mL
BotuSemen Special	BTSS-100	100 mL
BotuSemen Special med vatten	BTSSW-100	100 mL
BotuSemen Gold	BTSG-100	100 mL
BotuSemen Gold med vatten	BTSGW-100	100 mL
BotuTurbo	BTT-100	100 mL
BotuTurbo med vatten	BTTW-100	100 m
BotuSemen KZ	BKZ-100	100 mL
BotuSemen KZ med vatten	BKZW-100	100 mL

Produkt	Art. nr.	Volym
BotuCrio	BTC-025	25 mL
SpermFilter	BTF-001	1 pcs
RedCushion	RC-100	100 mL
SpermVitalStain	SVS-010	2x10 mL
NidOil	NO-100	100 mL
NidOil	NO-400K	4x100 mL
BotuEmbryo	BE-008	8 mL
BotuEmbryo	BE-008	8 mL
BotuEmbryo UP	BEU-008	X mL
SpermCatch	SC-100	6 × 100 µL
ProlInsert	PI15-5	5 pcs



EquiPure™

Densitetsgradientlösning, optimerad för beredning av densitetsgradienter för separation och rening av hästpermier.

Silaniserad silicakolloid i en isotonisk lösning.

Hållbarhet: Två år i rumstemperatur. Förvaras i kylskåp efter öppnande.



BotuSemen®

Mjölkbaserad spädningssväska för transport av kyld sperma, för konservering vid 5 eller 15°C och för centrifugering före fryssning. Innehåller Penicillin K 1 g/L och Gentamicin 1 g/L.

Passar de flesta hingstar.

Antibiotika: Penicillin K 1 g/L and Gentamicin 1 g/L.

Hållbarhet: Två år i pulverform i rumstemperatur, efter beredning i vatten: 2-8°C i tre dagar, ett år fryst efter beredning i vatten.



BotuSemen® Special

Mjölkbaserad spädningssväska med tillsats av kolesterol.

BotuSemen Special rekommenderas starkt för centrifugering innan fryssning och är lämplig för permier med känslighet för kyld transport.

Antibiotika: Penicillin K 1 g/L and Gentamicin 1 g/L.

Hållbarhet: Två år i pulverform i 2-8°C, efter beredning i vatten: 2-8°C i tre dagar, ett år fryst efter beredning i vatten.



BotuTurbo®

Mjölkbaserad spädningssväska med tillsats av Pentoxifyllin.

Idealisk för färsk insemination eller kyld spermatransport vid 5°C.

Lämplig för hingstar med dålig spermierörighet.

Antibiotika: Penicillin K 1 g/L och Gentamicin 1 g/L.

Hållbarhet: Två år i pulverform i rumstemperatur, efter beredning i vatten: 2-8°C i tre dagar, ett år fryst efter beredning i vatten.



BotuSemen® Gold

Spädningssväska med kasein och kolesterol. Lämplig för alla hingstar, speciellt för de med misstänkt för tidig spermiekapacitering, och med känslighet för kylda transporter.

Antibiotika: Penicillin K 1 g/L och Gentamicin 1 g/L.

Hållbarhet: Två år i pulverform i 2-8 °C, efter beredning i vatten: 2-8°C i tre dagar, ett år fryst efter beredning i vatten.



BotuSemen® KZ

Spädningsvätska med kasein. Möjliggör säker transport av spermier fram till ögonblicket för insemination eller under centrifugeringsprocessen för spermafrysning

Antibiotika: Penicillin K 1 g/L och Gentamicine 1 g/L.

Hållbarhet: Två år i pulverform i 2-8 °C, efter beredning i vatten: 2-8°C i tre dagar, ett år fryst efter beredning i vatten.



PureWater™

Sterilt, renat vatten med en osmolalitet på 0, för att ge korrekt osmolalitet efter lösning av pulvret.

Hållbarhet: Två år i rumstemperatur. Förvaras i kylskåp efter öppnande.



BotuCrio®

Frysmedium med äggula. BotuCrio innehåller en låg koncentration av glycerol, vilket i kombination med en av flera amider, resulterar i bättre spermieintegritet, spermieviabilitet, bättre total och progressiv rörlighet efter upptining, samt spermiehastighet, jämfört med andra kommersiellt tillgängliga frysmedier.

Antibiotika: Gentamicin 0.5 g/L and Penicillin K 0.5 g/L

Hållbarhet: Ett år efter tillverkning i fryst form. Tre dagar i 2-8°C efter upptining.



RedCushion®

Kuddvätska med hög densitet som används för spermacentrifugering. Den minskar skador från centrifugering genom spermiedämpning över RedCushion på botten av röret. Eftersom den har en rödaktig färgning, möjliggör den enkel visualisering av spermielagret och dess avlägsnande.

Hållbarhet: 2 år vid 2-8°C.



SpermFilter®

Hydrofilt syntetiskt membran som effektivt koncentrerar hingst-spermier.

Hållbarhet: Återanvändbar, förvaras i rumstemperatur.



SpermCatch™

För att sakta ner spermier före ICSI. SpermCatch innehåller hyaluronsyra vilket är ett naturligt bättre alternativ än PVP som är en plast.

Hållbarhet: Ett år i rumstemperatur. Förvaras i kylskåp efter öppnande.



NidoOil™

Steril, lätt paraffinolja för att täcka gameter, zygoter och pre-embryokultur i inkubatorn, eller under manipulationer utanför inkubatorn. Inga tillsatser.

Hållbarhet: Två år i rumstemperatur. Förvaras i kylskåp efter öppnande.



BotuEmbryo®

BotuEmbryo är ett medium för underhåll och transport av embryon. Dess förpackning kräver inte användning av sprutor och nålar. Den har en innovativ formulering baserad på vetenskapliga studier utförda av nationella och internationella forskare.

Hållbarhet: 1 år vid 2-8°C.



BotuEmbryo® UP

BotuEmbryo UP är ett medium för underhåll och transport av embryon.

Innehåller hyaluronsyra som förbättrar livsdugligheten hos embryon som produceras in vitro (ICSI) och in vivo. Även lämplig för frysta embryon.

Hållbarhet: 1 år vid 2-8°C



Sperm VitalStain™

Enstegsfärgningsteknik för bedömning av hästspermiers vitalitet och morfologi, ett grundläggande verktyg för spermaanalys.

Hållbarhet: 2 år vid 10-40°C.

Bakgrund

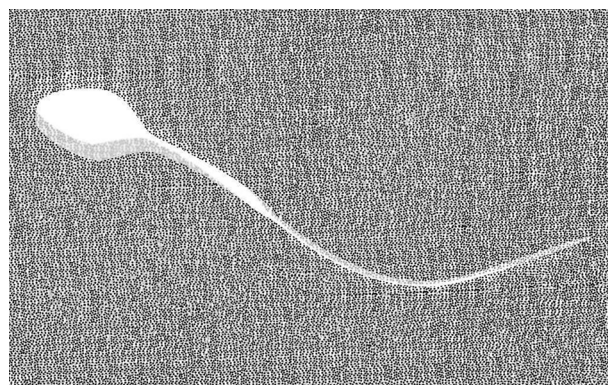
EquiPure är en produkt som hjälper till att öka befruktning- och graviditetsfrekvensen genom att ta bort skadliga ämnen från spermaprover. Sperma innehåller vanligtvis olika celltyper, inklusive normala rörliga spermier, juvenila spermier, åldrande spermier (som inte kan befrukta) och spermier med DNA-skador. Dessutom

innehåller sperma epitelceller, immunceller och cellrester (detritus), samt bakterier och virus. Biologiska ämnen såsom spermiedekapaciterande faktorer och reaktiva syreföreningar (ROS) finns också och kan påverka befruktningen negativt. EquiPure fungerar genom att ta bort alla dessa skadliga ämnen från spermaprovet.



Vad är EquiPure?

EquiPure är ett lösning som innehåller kolloidal kiseldioxid som har genomgått en silaniseringsprocess. Kolloider är partiklar som är tillräckligt små för att inte påverkas av gravitationen ($\leq 1 \mu\text{m}$), men tillräckligt stora ($> 1 \text{ nm}$) för att inte anses vara en sann lösning. Detta ger EquiPure dess unika funktionella egenskaper. Medan kiseldioxid förekommer naturligt i kristallin form och finns rikligt i jordskorpan, är kiseldioxiden i EquiPure syntetiskt tillverkad för att uppfylla specifika krav och specifikationer. Denna syntetiska kolloidala kiseldioxid innehåller amorf kiseldioxid (SiO_2) och har släta, sfäriska partiklar som är dispergerade i en vätska som kallas kiseldioxidsol, vilket i huvudsak är vatten. Dispersionen är stabil, vilket innebär att partiklarna inte sedimenterar eller klumpar ihop sig i en betydande hastighet. Lösningen justeras sedan med olika salter för att uppnå rätt fysiologisk sammansättning och osmolalitet för hästspermatozoer. pH och osmotiska värden är inställda att ligga någonstans mellan de som finns i sperma.



EquiPure™

Viktigt:

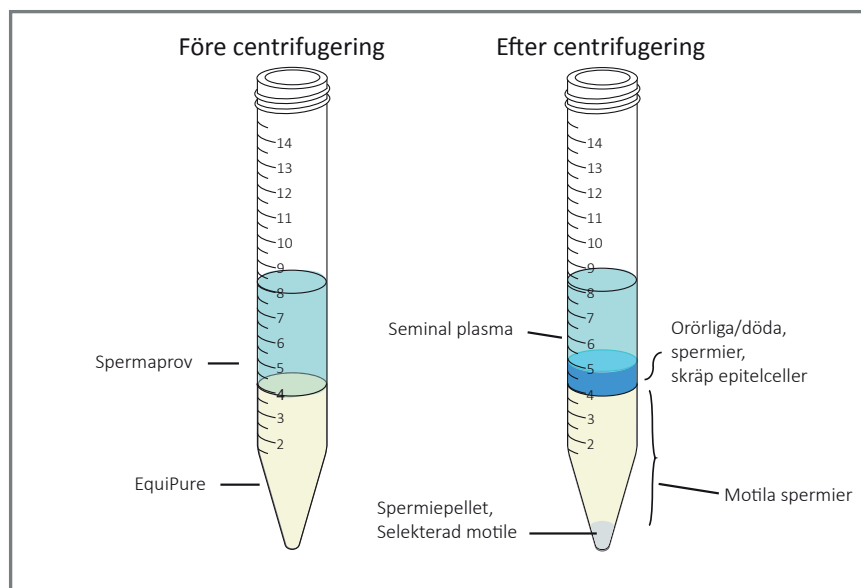
- De procedurer som beskrivs nedan ska endast utföras i centrifuger med utsvängbar rotor. Centrifuger med rotor med fast vinkel ska inte användas.
- EquiPure innehåller inte antibiotika, använd aseptiska procedurer.
- Protokollet anger g-kraft och inte RPM. Det är viktigt att ha rätt g-kraft och vi råder dig att använda ekvationen för att se till att det är korrekt g-kraft för centrifugeringen.

Olika storlekar av centrifuger kräver olika varvtal för att uppnå samma g-kraft.

För att uppnå rätt g-kraft:

$Rpm = \sqrt{\left[\frac{g}{(1.118 \times r)}\right]} \times 10^3$ = rotationsradie, avståndet (mm) från rotorns centrum till botten av centrifugröret när det är upplyft till horisontellt läge.

En kalkylator kan användas genom denna QR-kod.



Allmän skötsel och användning

- Alla lösningar bör bringas till rumstemperatur före användning för att undvika temperatursvängningar som är skadliga för spermernas överlevnad.
- Öppna och förslut flaskor i en LAF-bänk (om möjligt) med sterila tekniker för att undvika kontaminering.
- Förvara alla öppnade flaskor vid 2–8°C efter återförslutning.
- Under dessa förhållanden gäller samma hållbarhetstid även efter öppning.

Tips

- Vid insamling av pelleten efter gradientcentrifugering måste försiktighet iakttas för att undvika kontaminering av pelleten med komponenter från ejakulatet.
- Därför rekommenderar vi att använda en ny pipett efter att större delen av gradienten har avlägsnats för att undvika kontaminering, till exempel av bakterier.

EquiPure – densitetscentrifugering

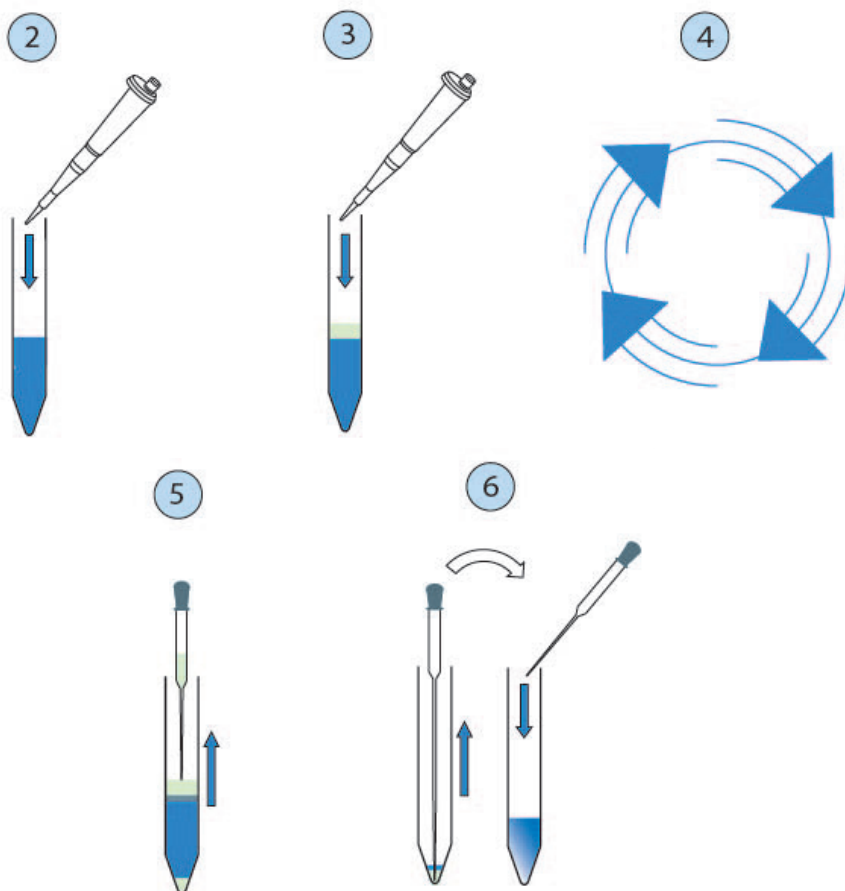
Reagens och utrustning

- Spädningsvätska – vi rekommenderar BotuSemen
- Koniska centrifugrör, 50 eller 15 mL
- Dispenserpipett och engångsspetsar
- Pasteurpipetter
- Centrifug med utsvängbar rotor

Procedur

1. Späd ut ejakulatet 1:1 med BotuSemen, BotuSemen Special eller BotuSemen Gold.
2. Tillsätt 10–20 mL EquiPure vid rumstemperatur i ett 50 mL centrifugrör, eller vid mindre volymer, använd ett 15 mL rör och tillsätt 2 mL EquiPure.
3. Tillsätt en lika stor volym utspäddt sädesprov i röret med en Pasteurpipett eller en engångsspruta. Tillsätt det utspädda sädesprovet långsamt och se till att EquiPure och sädesprovet inte blandas. Viktigt: Det totala antalet spermier får inte överstiga 3×10^9 .
4. Centrifugera vid $400 \times g$ i 20 minuter (1600 rpm i en centrifug med en radie på 140 mm), använd inte bromsen. Om endast ett rör centrifugeras, balansera rotorn med ett annat 50 mL eller 15 mL rör fyllt med en lika stor volym vatten.
5. Efter centrifugeringen, avlägsna ejakulatet och största delen av EquiPure med en Pasteurpipett.
6. Använd en ny Pasteurpipett för att samla upp pelleten och resuspendera i BotuSemen till en koncentration av 50×10^6 spermier/mL.

Utbyte efter selektering med EquiPure beror till stor del på den initiala spermiekvaliteten, men varierar i genomsnitt runt 40%.



Koncentrering av spermier före användning av EquiPure

Spermfilter

Spermier kan koncentreras med SpermFilter före centrifugering med EquiPure. I detta fall, späd ut ejakulatet 1:1 med BotuSemen och filtrera i SpermFilter (videodemonstration finns på www.nidaconvet.com). Tillsätt sedan i BotuSemen (10 mL). Använd EquiPure som beskrivits.

Centrifugering

Späd ut ejakulatet 1:1 med BotuSemen och centrifugera vid 600 x g i 10 minuter (1950 rpm i en centrifug med en radie på 140 mm), använd inte bromsen.

Resuspendera pelleten i BotuSemen (5–10 mL) och fortsätt använda EquiPure som beskrivits ovan.

EquiPure före frysning av spermier

Spermieselektering av EquiPure rekommenderas för hingstar med dålig frystolerans.

Efter centrifugering med EquiPure som beskrivits ovan, resuspendera pelleten i BotuCrio till en koncentration av 200×10^6 rörliga spermier/mL.

EquiPure efter upptining

EquiPure kan även användas med frysta/tinade prover med låg livskraft, rörlighet eller membranintegritet. I dessa fall baseras proceduren på att välja en spermiepopulation med högsta livskraft.

Efter upptining av 500 µL-rören, tillsätt samma volym EquiPure som volymen på de tinade rören i ett 15 mL centrifugrör.

Tillsätt långsamt det tinade sädesprovet ovanpå EquiPure, se till att det inte sker någon blandning mellan EquiPure och det tinade sädesprovet.

Centrifugera vid 400 x g i 20 minuter (1600 rpm i en centrifug med en radie på 140 mm), använd inte bromsen. Efter centrifugering, aspirera pelleten.

Det aspirerade materialet bör resuspenderas i 4 mL BotuCrio.

Insemination utförs helst i slutet av livmoderns horn vid ägglossningens plats.



Bakgrund

Spädningsvätskorna från BotuPharma levereras i pulverform. Fördelen är att de då är stabila i två år eftersom antibiotika ej blandas med vatten förrän vid användande. Penicillin bryts snabbt ner efter det blandats med vatten och är inte effektivt i mer än två veckor i många fall.

Dessutom kan spädningsvätskorna (pulvret) förvaras i rumstemperatur tills de löses upp i vatten. Kolesterolinnehållande produkt bör dock förvaras i kylskåp (BotuSemen Special och BotuSemen Gold).

Man kan beställa vatten tillsammans med pulvret om man ej har eget. Det är viktigt att använda sterilt och helt

avjoniserat vatten för att inte störa osmolaliteten i spädningsvätskan.

Alla spädningsvätskor innehåller Penicillin K 1 g/L och Gentamicin 1 g/L. Alla varianter kan förvaras vid 2–8°C i upp till tre dagar efter att de har lösts upp i vatten.

Redan rekonstituerat pulver kan frysas och förvaras fryst i upp till ett år.

Presentation:

1 påse med 8,5 gram pulver.

Spädningsvätskorna tillhandahålls med eller utan PureWater.

BotuSemen®

BotuSemen utvecklades efter många års forskning, och dess nuvarande formulering möjliggör säker transport av spermier fram till tidpunkten för insemination. Det används också för att späda ut ejakulatet under frysning- och centrifugeringsprocessen. Det kan även användas för att späda sperma innan användning av EquiPure.

Sammansättning:

Skummjörkspulver (UHT-steriliserat), sockerarter, aminosyror, antioxidanter och tillsatser.

Hållbarhet:

2 år i torr form i rumstemperatur, 1 år i -18°C efter beredning, 3 dagar i kylskåp efter beredning i vatten.

Förberedelse:

Håll innehållet i flaskan med sterilt vatten. Sätt på locket och skaka väl.

Användning:

För transport av kyld sperma: späda till en koncentration av 30–50 miljoner spermier/mL.

För insemination med icke-kyld sperma: späda 1:1 (v/v) och vänta 15 minuter innan insemination.

BotuSemen® Special

BotuSemen Special är speciellt utvecklat för hingstar med sperma som är känslig för kylningsprocessen. Dess sammansättning bygger på tillsats av essentiella lipider för att upprätthålla stabiliteten i spermiernas plasmamembran. Det kan även användas för att späda sperma innan användning av EquiPure.

Sammansättning:

Skummjörkspulver (UHT-steriliserat), sockerarter, aminosyror, antioxidanter, kolesterol och tillsatser.

Hållbarhet:

2 år i torr form i kylskåp, 1 år i -18°C efter beredning, 3 dagar i kylskåp efter beredning i vatten.

Förberedelse:

Tillsätt påsens innehåll i 100 mL vatten och skaka väl. Värm flaskan i 37°C. Vänta 15 minuter innan användning så att kolesterolet fördelas jämnt för bästa resultat.

Användning:

För transport av kyld sperma: Späda till en koncentration av 30–50 miljoner spermier/mL.

För insemination med icke-kyld sperma: Späda 1:1 (v/v) och vänta 15 minuter innan insemination.

BotuTurbo®

BotuTurbo är utvecklad för att förbättra rörligheten hos långsamt rörliga spermier. Det rekommenderas starkt för insemination och transport av färsk sperma från hingstar som behöver ökad rörlighet.

Sammansättning:

Skummjörkspulver (UHT-steriliserat), sockerarter, aminosyror, antioxidanter, pentoxifyllin och tillsatser.

Hållbarhet:

2 år i rumstemperatur i torr form, 1 år i -18°C efter beredning, 3 dagar i kylskåp efter beredning i vatten.

Förberedelse:

Tillsätt påsens innehåll i 100 mL vatten och skaka väl.

Användning:

För transport av kyld sperma: Späda till en koncentration av 30–50 miljoner spermier/mL. Späda 1:1 (v/v), och vänta 15 minuter innan insemination med icke-kyld sperma. Starkt rekommenderad för förstärkningsavel (fullblod).

BotuSemen® GOLD

BotuSemen Gold är baserad på kasein, vilket i höga koncentrationer bidrar till en fördröjning av spermernas kapaciteringsprocess, vilket förbättrar dräktighetsgraden. Den kan även användas för att späda sperma innan användning av EquiPure.

Mjölkkasein-fosfoproteiner skyddar spermiecellernas mot seminalplasma proteiner (HSP-1, 2) som kan förekomma i seminalplasman.

Sammansättning: Kasein, sockerarter, aminosyror, anti-oxidanter, kolesterol och tillsatser.

Hållbarhet:

2 år i torr form i kylskåp, 1 år i -18°C efter beredning, 3 dagar i kylskåp efter beredning i vatten.

Förberedelse:

Tillsätt påsens innehåll i 100 mL vatten och skaka väl. Värm flaskan i 37°C. Vänta 15 minuter innan användning så att kolesterolet fördelas jämnt för bästa resultat.

Vänta 30 minuter innan användning så att kaseinet och kolesterolet fördelas jämnt för bästa resultat. Värm till 37°C innan sperman späds ut. Se till att spädningsvätskan har samma temperatur som sperman för att undvika köldchock.

Användning:

I fall där centrifugering innan kylning är nödvändig, resuspendera till minst 100 x 10⁶ spermier/mL. Använd spädningsstabellen nedan:

Spermiekoncentration miljoner spermier/ml	Spädning (v:v)
< 90	Centrifugera eller koncentrera med SpermFilter och resuspendera till 100 miljoner spermier/ml
90 – 110	2:1
120-130	2,5:1
140-160	3:1
170-180	3,5:1
190-210	4:1
220-230	4,5:1
240-270	5:1
280-320	6:1
330-370	7:1
380-420	8:1
430-470	9:1
480-700	10:1

BotuSemen® KZ

BotuSemen KZ är baserad på kasein, vilket i höga koncentrationer bidrar till en fördröjning av spermernas kapaciteringsprocess, vilket förbättrar dräktighetsgraden. Den kan även användas för att späda sperma innan användning av EquiPure.

Mjölkkasein-fosfoproteiner skyddar spermiecellernas mot seminalplasma proteiner (HSP-1, 2) som kan förekomma i seminalplasman.

Sammansättning:

Kasein, sockerarter, aminosyror, antioxidanter, Penicillin K, Gentamicin och tillsatser.

Hållbarhet:

2 år i torr form i kylskåp, 1 år efter beredning och frysning, 3 dagar i kylskåp efter beredning i vatten.

Förberedelse:

Tillsätt påsens innehåll i 100 mL vatten och skaka väl. Värm flaskan i 37°C. Vänta 15 minuter innan användning så att kolesterolet fördelas jämnt för bästa resultat.

Användning:

BotuSemen KZ är avsett för transport och insemination av färsk och kyld sperma. Vid spermafrysning används BotuSemen KZ vid centrifugeringsprocessen i ett förhållande av 1:1 (spädningsvätska: sperma). För transport av kyld sperma används en spädningsgrad på 25 till 50 miljoner spermier per mL, med beaktande av en minsta spädning på 2:1 (spädningsvätska: sperma) (v/v).

Förvaring:

Förvara på en torr plats, skyddad från ljus och värme. Överskrid inte temperaturen 30 °C. Efter blandning av produkten, förvara den mellan 2° och 8 °C i högst 3 dagar.

BotuCrio®

BotuCrio är resultatet av flera års forskning och fertilitets-tester vid delstatuniversitetet i São Paulo, Brasilien, och har testats omfattande inom fältet.

Spädningsvätskan innehåller de optimala komponenterna för att skydda cellerna från skador orsakade av frysning och för att skydda deras fertilitet efter upptining.

BotuCrio innehåller en låg koncentration av glycerol, som i kombination med en av flera amider resulterar i bättre spermieintegritet, spermieviabilitet, bättre total och progressiv motilitet efter upptining, samt högre spermie-hastighet, jämfört med andra kommersiellt tillgängliga spädningsvätskor.

Studier har visat att hingstesperma fryst i BotuCrio är mer fertil jämfört med andra spädningsvätskor.

Dessa in vitro-resultat har bekräftats i fältexperiment som visar högre dräktighetsgrader efter insemination.

De högre dräktighetsgraderna som uppnås med sperma fryst i BotuCrio resulterar i högre dräktighetsgrad per cykel och färre inseminationer per dräktighet. Detta minskar kostnaden för att avla ett sto.

BotuCrio används idag för både bra och dåliga fryshingstar vid frysningsscenter i Australien, Mellanöstern, Nord- och Sydamerika samt Europa.

Innehåll:

Sockerarter, antioxidanter, aminosyror, äggula, kryoprotektanter, tillsatser, Gentamicin 0,5 g/L och Penicillin K 0,5 g/L.

Hållbarhet:

Fryst i 1 år. Utgångsdatum finns på etiketten.
3 dagar i kylskåp efter upptining.

Användning:

BotuCrio levereras och lagras fryst. Tina BotuCrio i 37°C vatten tills det är helt upptinat. Låt stå på bänken i 5 minuter. Se till att det är i rumstemperatur innan användning. Fettet från äggulan måste ha tid att lösa upp sig helt, annars kan det synas som svart skräp. Detta är dock helt ofarligt för spermerna.

Efter spermainsamling:

1. Bestäm spermieparametrar: volym, motilitet och koncentration.
2. Späd ejakulatet med spädningsvätska 1:1 (v:v). Använd BotuSemen Gold för bästa resultat.
3. Centrifugera vid 600 x g i 10 minuter eller med Red-Cushion vid 1000 x g i 20 minuter.
4. Ta bort supernatanten.
5. Resuspendera pelleten med BotuCrio till 200 x 10⁶ eller 100 x 10⁶ spermier/strå.
6. Packa och förslut stråna.
7. Låt stråna stå i kylskåp vid 5°C i 20-30 minuter.
8. Häll upp 6 cm kväve i lämplig behållare.
9. Placera stråna 3-6 cm ovanför kväveytan i 20 minuter. Sänk stråna direkt ner i flytande kväve.

Frysning i frysningmaskin:

1. Ställ in maskinen på 5°C.
2. Lägg i stråna i maskinen och kyl vid 5°C i 20-30 minuter.
3. Starta nedkylningshastigheten till -30 till -60°C/minut tills det når minst -120 °C.
4. Sänk stråna direkt ner i flytande kväve.

Upptining av strån:

Tina stråna i vattenbad vid 37°C i 30 sekunder eller vid 46°C i 20 sekunder.

Använd EquiPure före eller efter upptining för att öka överlevnaden och fertiliseringsgraden.

Red Cushion®

En vätska med hög densitet som används vid centrifugering av sperma. Den minskar skador från centrifugering genom att spermierna dämpas över RedCushion på botten av röret. Det ger mindre kompakta pellets med högt spermieutbyte.

Eftersom vätskan har en rödaktig färg ger den en enkel visualisering av spermielagret och underlättar borttagningen.

Två olika metoder kan användas:

Användning (1):

1. Aspirera 3 mL RedCushion med spruta och nål, och lägg i botten av centrifugrör.
2. Späd ejakulatet med BotuSemen i förhållandet 1:1 (v/v).
3. Luta röret 45° och håll långsamt den utspädda sperman på väggen med plast-Pasteurpipetter så att det inte sker någon blandning mellan sperman och RedCushion.
4. Centrifugera vid 1000 x g i 20 minuter.
5. Aspirera spermielagret som ligger på toppen av RedCushion med hjälp av en pipett.
6. Resuspendera spermierna med BotuSemen eller BotuCrio, beroende på vilket förfarande som ska följas.

Användning (2):

1. Späd ejakulatet med BotuSemen i förhållandet 1:1 (v/v).
2. Sätt den utspädda sperman i ett centrifugrör.
3. Använd en ny spruta och nålar för att sätta 3 mL RedCushion under den utspädda sperman.
4. Centrifugera vid 1000 x g i 20 minuter.
5. Ta bort supernatanten.
6. Aspirera det bildade lagret ovanför RedCushion.
7. Resuspendera spermierna med BotuSemen eller BotuCrio, beroende på följande förfarande.

Förvaring:

2 år vid förvaring i 2-8°C. Levereras i rumstemperatur.



SpermFilter®

Ett mer skonsamt sätt att koncentrera sperma är Sperm Filter, som är ett syntetiskt membran med en porstorlek som gör att seminalplasma och bakterier kan passera, spermierna blir kvar i filtret. Filtret eliminerar behovet av en centrifug, vilket är mindre skadligt för spermierna jämfört med den centrifugering som vanligtvis används för att koncentrera spermier.

Användning:

1. Plocka försiktigt filtret från förpackningen. Placera Petriskålen på en yta uppvärmd till 30-35°C.
2. Späd sperman med BotuSemen och håll den i Sperm-Filter.
3. För att koncentrera spermierna, rör försiktigt den utspädda sperman runt filtret och vidrör upprepade gånger botten av filtret mot botten av Petriskålen tills endast en liten mängd vätska syns på filtermembranet.

4. Tvätta filtret med lämplig mängd av antingen BotuSemen eller BotuCrio. Upprepa snurrande rörelser för att sedan resuspendera spermierna och föra över dem i en bägare. Om spermieåtervinningen är låg på grund av spermiernas mindre storlek kan det vara nödvändigt att filtrera ejakulatet igen.

SpermFilter kan återanvändas för samma hingst minst 10 gånger. Tvätta det med sterilt destillerat vatten och torka vid 37°C.

Obs! Vidrör inte filtret med vassa eller metalliska föremål då det kan skadas.



SpermCatch™

SpermCatch är en viskös lösning som är utformad för att modulera spermernas motilitet på ett fysiologiskt sätt inför ICSI. Lösningen levereras färdig att använda i en steril isotonisk saltlösning.

SpermCatch är ett alternativ till PVP (polyvinylpyrrolidon), som idag är den vanligaste substansen som används för att sänka spermernas hastighet inför ICSI. Dock har det rapporterats att PVP kan orsaka problem, som att skada spermernas plasmamembran. Det kan också påverka kondensationen av spermiekärnan.

Sammansättning:

Salter, Bikarbonat, Sockerarter, EDTA, HEPES, Humant Serumalbumin, Hyaluronsyra.

Stabilitet:

1 år vid rumstemperatur.

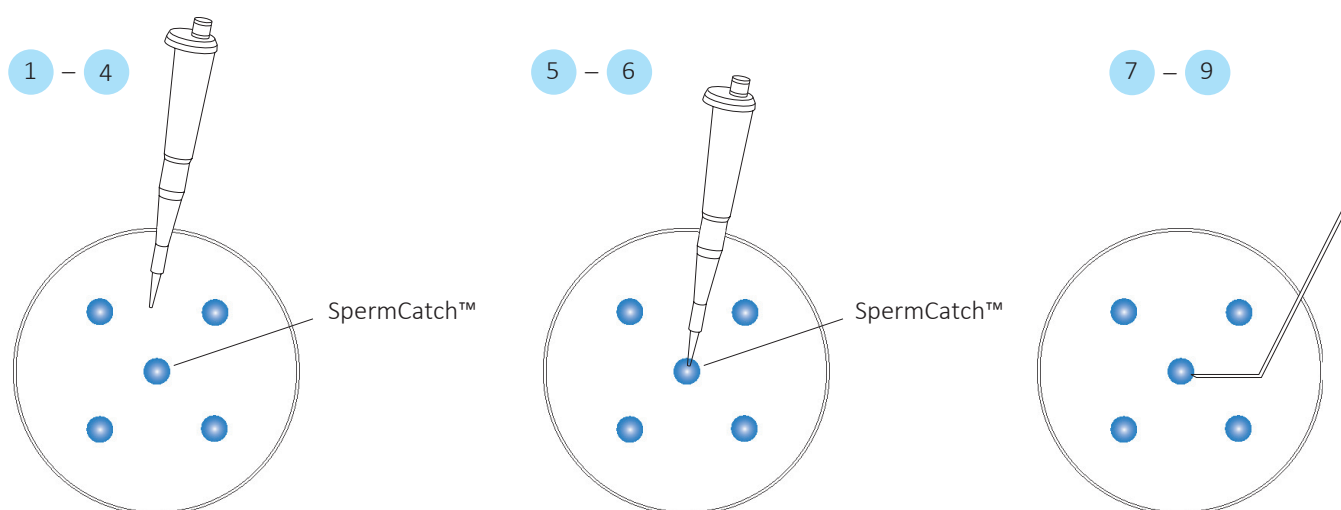
Reagenser och utrustning

SpermCatch
NidOil
Medium för inektion

Sterila pipetter
ICSI-utrustning
Petriskål

Användning

1. Placera en 10 µL droppe SpermCatch i mitten av en Petriskål.
2. Placera 4 droppar om 10 µL injektionsmedia runt SpermCatch-droppen i Petriskålen.
3. Täck omedelbart dropparna med NidOil.
4. Inkubera i 30 minuter i en CO₂-miljö vid 37°C.
5. Tillsätt 1 µnL av den förberedda spermiesuspensionen i mitten av SpermCatch-droppen.
6. Inkubera i 10 minuter i en CO₂-miljö vid 37°C.
7. Fyll din injektionspipett med SpermCatch för att förhindra att spermier fastnar på insidan av pipetten. Detta hjälper dig också att göra en kontrollerad injektion.
8. Immobilisera de individuella spermerna genom att använda injektionspipetten för att "nicka" på spermernas svans.
9. Aspirera den immobiliserade spermien. Flytta till en av oocyten droppar. Fokusera på oocyten och positionera den med hållpipetten. Sänk ner din injektionspipett och injicera spermien. Se till att oolemmat är brutet innan du injicerar spermien.



NidOil™

NidOil är en paraffinolja som noggrant har valts ut och behandlats i våra produktionsanläggningar för att säkerställa att dess renhet och hanteringsegenskaper är lämpliga för användning som ett barriär vid odling av gameter och embryon.

NidOil behöver inte tvättas före användning och är varken för klibbig eller för viskös, vilket underlättar pipettering. På senare tid har många frågor väckts om huruvida oljan som används för att täcka en embryokultur faktiskt kan skada embryot. Idag testas alla oljebatcher från olika tillverkare för sterilitet, endotoxiner och genom ett mus-embryotest som visar blastocystutveckling. Detta verkar dock inte vara tillräckligt, eftersom skador på kulturer har observerats även med godkända oljebatcher.

En möjlig förklaring kan vara peroxidering av oljan, vilket har undersökts i flera publikationer och visat sig vara skadligt för befruktning och embryoutveckling när det överstiger en viss nivå.

Vår strikta kvalitetskontroll hjälper oss att upprätthålla låga nivåer av endotoxiner och peroxider samt säkerställer att våra produkter är fria från mikrobiologisk kontaminering.

Det har också funnits rapporter om att paraffinoljor kan bli embryo-toxiska efter exponering för ljus på laboratoriebänken. Som en försiktighetsåtgärd mot eventuella ljus-inducerade förändringar förpackas NidOil i bärnstensfärgade, skruvförslutna flaskor.

Användning

NidOil bör ekvibreras på samma sätt som odlingsmediet före användning för att undvika skillnader i temperatur

och gasinnehåll mellan komponenterna i odlings-systemet.



BotuEmbryo®



BotuEmbryo är ett medium för underhåll och transport av embryon. Förpackningen kräver inte användning av sprutor och nålar. Det har en innovativ sammansättning baserad på vetenskapliga studier utförda av nationella och internationella forskare.

Användning:

Överför embryot till en petriskål innehållande BotuEmbryo.

Förvaring och stabilitet:

Förvaringstemperatur: 1 år vid 2-8°C.

pH-värde: 7,0-7,4

BotuEmbryo är mycket stabil och möjliggör embryo-transport vid rumstemperatur eller kylda förhållanden i lämplig behållare i upp till 24 timmar.

Innehåll

Aminosyror, vitaminer, socker, fenolrött, HEPES, streptomycin, amphotericin, bovint serumalbumin och konserveringsmedel.

BotuEmbryo® UP

Används för transport och transfer av hästembryon.

Dess exklusiva recept har högt antioxidantskydd och buffrande ämnen som förbättrar livsdugligheten hos embryon som produceras in vitro (ICSI) och in vivo och för frysta embryon.



Hyaluronsyran (HA) som finns i BotuEmbryo UP är mycket gynnsam för en mer naturlig miljö, ökar vidhäftningen av embryon till endometrieitan, förbättrar embryonkvaliteten, skyddar mot oxidativ stress, underlättar hanteringen och ökar implantationsfrekvens. Dessutom, med

HA, skyddas känsliga embryon i frysningssprocesser och ger en adekvat näringsmiljö för att hålla dem livskraftiga.

1. Större vidhäftning av embryon till endometrieitan;
2. Tillräcklig näringsmiljö för att hålla embryon livskraftiga efter insamling eller devitrifiering fram till överföring;
3. Skydd av sensibiliserade embryon vid frysning.

Användning:

Överför embryot till en petriskål innehållande BotuEmbryo UP.

Förvaring och stabilitet:

Förvaringstemperatur: 1 år vid 2-8°C.

pH-värde: 7,0-7,4

Osmolality: 290-300

BotuEmbryo är mycket stabil och möjliggör embryo-transport vid rumstemperatur eller kylda förhållanden i lämplig behållare i upp till 24 timmar.

Innehåll

Aminosyror, vitaminer, socker, fenolrött, HEPES, streptomycin, amphotericin, hyaluronsyra och konserveringsmedel.

Sperm VitalStain™

Sperm VitalStain är en optimerad färgningsteknik för bedömning av spermiers vitalitet och morfologi hos häst, vilket är två av de grundläggande verktygen vid sperma-analyser.

Sperm VitalStain-tekniken för vitalitetsbedömning bygger på principen att döda celler (d.v.s. de med skadad plasmamembran) tar upp eosin och färgas röda. Nigrosin används som motfärgning för att underlätta visualiseringen av de ofärgade (vita) levande cellerna.

Sperm VitalStain kan också användas för att framhäva detaljer vid bedömning av normala och onormala spermier (morfologisk undersökning).

Sperm VitalStain kan förvaras i rumstemperatur i upp till 2 år från produktionsdatum, vilket minimerar svinn. Det bör inte förvaras i kylskåp.

Hållbarhet: 1 år i 10-40°C.

Reagenser och utrustning

Microskop (40 – 100 x magnification)
Pipett

Objektsglas
Provrör

Användning

1. Skaka flaskan med Sperm VitalStain före användning.
2. Ta en lika stor mängd Sperm VitalStain och spermaprov (t.ex. 50 µL SVS + 50 µL prov). Använd till exempel ett Eppendorf-rör.
3. Blanda väl.
4. Låt stå i 30 sekunder i rumstemperatur.
5. Använd ett objektglas med din vanliga metod eller använd den metod som rekommenderas av Nidacon.
6. Överför en droppe på 20 µL till ett märkt objektglas med hjälp av en pipett, så att vätskan bildar en sträng/linje i mitten av glaset.
7. Täck objektglaset med ett andra objektglas och dra sedan isär dem horisontellt när droppen har spridit sig jämnt mellan glasen. Nu har du två färdiga.

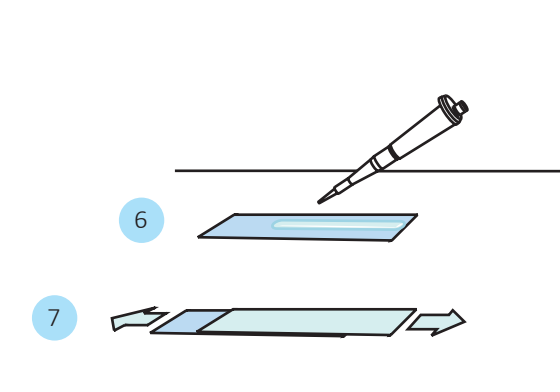
Undersökning:

Lufttorka de två objektglasen och undersök dem. Om du vill spara dem för senare användning, montera glasen med DPX eller motsvarande monteringsmedel och ett täckglas. Undersök med ett ljusfältmikroskop, antingen med ett 40x-objektiv eller ett 100x-objektiv med oljeförsjunkning.

Räkna 200 spermier, de vita (ofärgade) klassificeras som levande och de röda eller rosa klassas som döda. Spermier endast färgade vid halsregionen klassificeras som levande.

Tips

- 100x-objektivet med immersionsolja ger dig en mycket tydlig bild av färgade vs ofärgade spermier.



References

- Equine Semen Cryopreservation, Sanches R et al, Equine Assisted Reproduction, ISBN 978-958-59883-1-6, Section 3, 2019
- Semen Processing for the Subfertile Stallion, Varner D.D et al, Journal of Veterinary Science, Vol 28, no 11 (2008)
- Increasing Stallion Fertility, Quarterback news, December 15, 2013. pp. 78-80
- Use of a Single-layer Density Centrifugation Method Enhances Sperm Quality in Cryopreserved-Thawed Equine Spermatozoa, Stoll, A et al. Journal of Equine Vet Science, 2012
- Insemination Doses: How Low Can We Go? Brinsko S P et al, Theriogenology 66 (2006) 543-550
- Total RNA isolation from stallion sperm and testis biopsies, Pranab j Das et al, Texas A&M, Theriogenology 74 (2010) 1099-1106
- Does the Microbial Flora in the Ejaculate Affect the Freezeability of Stallion Sperm?, C Ortega-Ferrusola et al Reprod. Dom Anim 44, (2009) pp 518-522
- Use of a Silane-Coated Particle Solution to Enhance the Quality of Ejaculated Semen in Stallions, Varner D.D et al, Theriogenology, Volume 58, Issue 2, Pages 317-320
- Pregnancy rates in mares inseminated with 0.5 or 1 million sperm using hysteroscopic or transrectally guided deep-horn insemination techniques, S.S Hayden, DD Varner et al., Theriogenology 2012.
- How to improve the freezeability and fertility of stallion semen using a silanated silica-particle solution (EquiPure™), Samper, JC 2010
- Evaluation of Cryopreserved-thawed Stallion Sperm Before and after Density Gradient Centrifugation with Silane-coated Silica Particles (EquiPure®), Stoll A, et al. Theriogenology 70 (2008) pp. 576-591.
- Advanced Methods for Handling and Preparation of Stallion Semen, Loomis et al, Anim Reprod Sci. 2006 Feb;91(3-4):237-47
- Effective Removal of Equine Arteritis Virus From Stallion Semen, Geraghty, R.M. Equine Veterinary Journal, Volume 38, Number 3, May 2006, pp. 224-229(6)
- Effect of Centrifugal Fractionation Protocols on Quality and Recovery Rate of Equine Sperm, A.J Edmont, S.P Brinsko, DD Varner et al. Theriogenology [0093-691X] Edmond year:2012 vol.:77 no:5 p:959
- Effect of density-gradient centrifugation on quality and recovery rate of equine spermatozoa, Edmond A.J, Varner D.D et al. Abstracts, Animal rep Science 2008
- Simple and economic colloidal centrifugation protocols may be incorporated to the clinical equine sperm processing procedure. Gutierrez-Cepeda et al. Animal Medicine and Surgery Dept, Vet Faculty, Madrid, Spain.
- Effect of single layer colloidal centrifugation prior to equine semen cryopreservation on sperm
- chromatin integrity. Gutiérrez-Cepeda, L.*a; Fernández, A.a; et al, Departamento de Medicina y Cirugía Animal, Facultad de Veterinaria
- The effect of two pre-cryopreservation single layer colloidal centrifugation protocols in combination with different freezing extenders of the fragmentation dynamics of thawed equine sperm DNA, Gutierrez-Cepeda et al. Acta Veterinaria Scandinavica 2012, 54:72
- Effect of non-sperm cells removal with single-layer colloidal centrifugation on myeloperoxidase concentration in post-thaw equine semen, Ponthier, J, et al. Theriogenology 80 (2013) 1082-1087
- Effect of density gradient centrifugation with three different media on stallion semen quality, Sabatini, C et al. Journal of Equine Vet Science 34 (2014) 77
- Recovery rate and sperm quality after centrifugation of stallion sperm in different gradient concentrations Love, CC et al, Journal of Equine Vet Science 34 (2014) 63
- Total RNA isolation from stallion semen sperm and testis biopsies, Das J Pranab, Varner DD et al. Theriogenology 74 (2010) 1099-1106
- Freezing of stallion epididymal sperm, Papa et al, Animal Reproduction Science 107 (2008) 293–301
- Replacing egg yolk with soybean lecithin in the cryopreservation of stallion semen, Papa et al, Animal Reproduction Science 129 (2011) 73– 77
- Influence of Semen Storage and Cryoprotectant on Post-thaw Viability and Fertility of Stallion Spermatozoa, Melo et al, 2007 Elsevier Inc.
- Comparison between three extenders for cooling of stallion semen before freezing, Alvarenga et al, (Abstract) doi:10.1016/j.anireprosci.2008.05.117
- Post-thaw characteristics and fertility of stallion semen frozen in extenders with different Cryoprotectants, J.C. Samper, (Abstract) Animal Reproduction Science (2008)
- Comparison between two extenders to cool equine Semen 24 hours before Freezing, (Abstract) Veterinaria e Zootecnia.
- Effects of three cryopreservation systems on longevity of stallion sperm after thawing, D. F. Pasquini et al, Reproduction, Fertility and Development 20(1) 123 – 124
- Control Methods and Evaluation of Bacterial Growth on Fresh and Cooled Stallion Semen Neto et al, JEVS, v 35, p 277-282, 2015
- Advances in Stallion Semen Cryo Preservation, Alvarenga et al, America-Equine Practice, v. 32, p. 521-530, 2016.
- Effect of Removing Seminal Plasma Using a Sperm Filter on the Viability of Refrigerated Stallion Semen, Alvarenga et al. Journal of Equine Veterinary Science (2012) 1-4
- A new method to concentrate equine sperm, Alvarenga et al Animal Reproduction Science 121S (2010) S186–S187
- Comparison of Cushioned Centrifugation and Sperm Filter Filtration on Longevity and Morphology of Cooled-stored Equine Semen, Roach et al, Veterinary record, v. 178, p 241-241, 2016



Produktchef
Anna Niläng
anna@nidacon.com
Phone +46-31-703 06 38



Marketing KAM
Martin Magnusson
martin@nidacon.com
Phone +46 73 511 84 67



Lagerchef
Dennis Johansson
dennis@nidacon.com
Phone +46-31-703 06 37



Flöjelbergsgatan 16 B • S-431 37 Mölndal • Sweden
Phone +46-31-703 06 30 • Fax +46-31-40 54 15
contact@nidacon.com • www.nidaconvet.com