

EquiPlus

Flüssiges Konservierungsmedium für Hengstfrischsamen

Liquid Culture Medium for Chilled Stallion Semen

Medio de Conservación Líquido para Semen Equino

Жидкая культуральная среда для охлажденной спермы
жеребцов

DE

EN

ES

RU

13570/0301



31357/0311

EquiPlus ist ein Verdünner für Hengstsamen und geeignet zur Konservierung bei +4°C bis +6°C für ca. 3 Tage. Des Weiteren eignet sich EquiPlus als Zentrifugierverdünner. EquiPlus Flüssig wird in einer 100 ml-Glasflasche geliefert und hat eine weiße Farbe. Es müssen keine weiteren Komponenten hinzugefügt werden.

1. Zusammensetzung

EquiPlus wird aus folgenden Komponenten hergestellt:

- Caseinate
- Zucker
- Puffer
- Antibiotikum

2. Packungsgröße

EquiPlus Flüssig, 100 ml, mit Gentamicinsulfat
13570/0301

3. Anwendung

3.1. Zubereitung

Die gewünschte Menge an EquiPlus Flüssig auf +30°C bis +35°C erwärmen.

3.2. Wasserqualität

EquiPlus Flüssig wurde mit Reinstwasser hergestellt. Eine Zugabe von Wasser ist nicht erforderlich.

3.3. Anwendungsempfehlung

3.3.1. Frischsamenverdünnung

Das frisch gewonnene Hengstekakulat wird bei einer Temperatur von +30°C bis +33°C gehalten und untersucht. Nach Entfernung des gelatinösen Anteils werden Volumen, Konzentration und Motilität festgestellt. Je nach gewünschter Anzahl vorwärtsbeweglicher Spermien in der Besamungsdosis wird die erforderliche Menge Verdünner errechnet. Die Temperatur von Verdünner und Samen müssen im Moment der ersten Verdünnung gleich sein (+/-1°C). Der Verdünner wird langsam dem gefilterten, gelfreien Ejakulat hinzugefügt und die beiden Flüssigkeiten werden vorsichtig aber gründlich durchmischt.

Berechnung des Endvolumens der Verdünnung:

Verdünnung ohne Zentrifugation:

Die optimale Verdünnungsrate liegt bei mindestens 1:3 (Samen : Verdünner), bzw. 25 Millionen motiler Spermien pro Milliliter in der Endverdünnung. Die empfohlene Anzahl an motilen Samenzellen pro Besamungsdosis beträgt 600 Mio. Das Besamungsvolumen sollte 10-30 ml betragen.

Beispiel:

Ejakulatsdaten nach der Gewinnung:

Ejakulatsvolumen = 45 ml

Samendichte = 145 Mio./ml

Gesamtzahl Spermienzellen = 6,525 Milliarden Spermien

Motilität = 60%

→ motile Spermienzellen im Ejakulat = 3,915 Milliarden Spermien

Es können 6 Besamungsportionen aus diesem Ejakulat gewonnen werden, die jeweils 600 Mio Samenzellen pro Dosis enthalten (3,915 Mrd./600 Mio. = 6,5 Portionen).

Um eine optimale Verdünnung mit 25 Mio. motilen Spermien herzustellen, muss das Endvolumen somit 156 ml betragen (3,915 Mrd./25 Mio. = 156,6 ml) und eine Besamungsdosis besteht aus 26 ml (156 ml/6 Dosen = 26 ml).

Verdünnung mit Zentrifugation:

Die optimale Verdünnungsrate und die Anzahl der motilen Samenzellen pro Dosis bleiben unverändert. Das Besamungsvolumen kann hier niedriger eingestellt werden (10–15 ml).

Beispiel.

Ejakulatsdaten nach der Gewinnung:

Ejakulatsvolumen = 45 ml

Samendichte = 145 Mio./ml

Gesamtzahl Spermienzellen = 6,525 Milliarden Spermien

Motilität = 60%

→ motile Spermienzellen im Ejakulat = 3,915 Milliarden Spermien

Nach der Zentrifugation werden dem Pellet 3-5 ml Verdünner zugegeben und das Pellet durch vorsichtiges Schwenken in Lösung gebracht (resuspendiert).

Danach wird die Anzahl der Spermienzellen durch Zählkammerverfahren ermittelt, das Volumen bestimmt und die Motilität beurteilt.

Daten nach der Zentrifugation:

Volumen = 10 ml

Samendichte = 626 Mio./ml

Gesamtzahl Spermienzellen = 6,260 Milliarden Spermien

Motilität = 60%

→ motile Spermienzellen im Ejakulat = 3,756 Mrd. Spermien

Es können 6 Besamungsportionen aus diesem Ejakulat gewonnen werden, die jeweils 600 Mio Samenzellen pro Dosis enthalten (3,756 Mrd./600 Mio. = 6,2 Portionen).

Das Endvolumen beträgt bei 10 ml Volumen pro Dosis somit 60 ml (6 x 10 ml) und es müssen 50 ml Verdünner zugegeben werden.

Nach der Verdünnung kann der Samen langsam abkühlen. Die empfohlene Abkühlrate liegt bei 0,05° bis 0,1°C pro Minute, d.h. von Umgebungstemperatur auf +5°C beträgt die Zeitspanne 2,5 bis 5 Stunden.

EquiPlus eignet sich zur Konservierung des Samens für ca. 3 Tage bei ca. +5°C. Eine tägliche Qualitätsuntersuchung bis zur Anwendung ist sehr zu empfehlen.

3.3.2. Zentrifugation

Das gefilterte, gelfreie Ejakulat wird mit dem vorbereiteten Verdünner 1:1 verdünnt. Die Zentrifugation erfolgt bei 500-800 g für 5-10 Minuten. Nach der Zentrifugation wird der Überstand entfernt und das Pellet in Frischsamenverdünner oder Tiefgefriermedium

aufgeschwemmt. Um eine höhere Ausbeute an Spermienzellen zu erhalten, kann mit CushionFluid (Art.Nr. 13580/0001) gearbeitet werden.

4. Lagerung, Haltbarkeit und Hinweise

4.1. Lagerung, Haltbarkeit

Die **EquiPlus** Flaschen kühl (unter +10°C), trocken und dunkel lagern. Die Mindesthaltbarkeit ist auf der Flasche aufgedruckt.

4.2. Wichtige Hinweise



**Nicht in Reichweite von Kindern lagern.
Der Verdünner ist nicht für die Behandlung oder den Konsum von Mensch und Tier geeignet.**

Vor jeder Verwendung des Verdünners bitte sorgfältig überprüfen, ob der Verdünner die beschriebenen Eigenschaften, insbesondere hinsichtlich Konsistenz und Aussehen aufweist. Für den Fall, dass die übliche Konsistenz und/oder das übliche Aussehen nicht gegeben ist, darf der Verdünner nicht oder nur nach Rücksprache mit Minitüb verwendet werden.

4.3. Fehleranalyse

Eine Reihe von Faktoren ist ausschlaggebend für gute Samenkonservierung und Befruchtungserfolg, unter anderem:

- Verwendung ausschließlich spermienfreundlicher Materialien und Oberflächen für Samen und Verdünner (Absamhandschuhe, Samen- und Verdünnerflaschen, Gläser frei von mineralischen Rückständen)
- Gutes Temperaturmanagement, und insbesondere Vermeidung von Temperaturen unter +30°C für unverdünnten, und unter +4°C für verdünnten Samen, sowie Temperaturschwankungen
- Vermeidung bakterieller Kontamination (entsprechende Maßnahmen in Haltung und Sprungvorbereitung der Hengste, Samengewinnung in sauberer Umgebung, geeignete Hygienemaßnahmen im Labor)
- Vermeidung spermientoxischer Faktoren (Wasser, UV Licht, Staub, Waschmittel)
- Qualität des verwendeten Wassers (siehe Punkt 3.2)

4.4. Beratung und Schulung

Für Fachfragen stehen die Minitüb Experten für Samenproduktion und künstliche Besamung zu Verfügung. Minitüb Schulungen werden individuell angeboten. Das aktuelle Schulungsangebot entnehmen Sie bitte unserer Web Page.

5. Herstellungsstandard und Qualitätskontrolle

5.1. Rohstoffqualität

Alle in Minitüb Medien verwendeten Rohstoffe werden nach GMP und DIN ISO 9001:2015 Normen hergestellt, und sind nach Ph Eur, BP oder USP Standards zertifiziert. Sie sind gemäß international gültigen Qualitätsvorschriften über die Prüfung von Arzneistoffen getestet und entsprechen diesen Vorschriften.

5.2. Fertigungsstandard

Mischen und Abfüllen erfolgt unter GMP Bedingungen im Reinraum und wird mit Wägeprotokollen dokumentiert. Unter fachtierärztlicher Leitung wird das fertige Produkt einer Reihe chemisch-physikalischer Tests unterzogen, um zu garantieren, dass Minitüb Medien dauerhafte Samenkonservierung mit hoher spermatologischer Wirksamkeit unter verschiedensten klimatischen Praxisbedingungen bieten.

5.3. Zertifikate

Auf Anfrage sind ein allgemeines Qualitätszertifikat sowie ein Chargenzertifikat erhältlich.

EquiPlus is a culture medium in which stallion semen can be preserved at +4°C to +6°C for approx. 3 days. EquiPlus is also recommended for the centrifugation of stallion semen. EquiPlus liquid is delivered in a 100 ml glass bottle and is whitish; no further components must be added.

1. Composition

EquiPlus consists of the following components:

- Caseinates
- Sugars
- Buffer
- Antibiotic

2. Package size

EquiPlus liquid, 100 ml, with Gentamicin sulphate
13570/0301

3. Application

3.1. Preparation

The required amount of **EquiPlus** must be warmed to +30°C to +35°C.

3.2. Water quality

EquiPlus liquid is manufactured with ultra-pure water. Addition of water is not necessary.

3.3. Recommended application

3.3.1. Preparation of chilled semen

The freshly collected stallion semen is maintained at a temperature of +30°C to +33°C and analysed. After removing the gel, its volume, concentration and motility are determined. Depending on the desired number of progressive motile sperm cells in the insemination dose, the required amount of extender is calculated. The extender and the semen must have the same temperature at the moment of the first dilution (+/-1°C). The extender is slowly added in several steps to the filtered, gel-free ejaculate and the 2 fractions are gently but thoroughly mixed.

Calculating the final volume of extended semen:

Dilution without centrifugation

The optimum dilution rate should be at least 1:3 (semen:extender), or 25 million motile semen cells/ml after final dilution. The recommended motile sperm per insemination dose amounts 600 million. The inseminated volume should be 10-30 ml.

Example:

Data of the freshly collected ejaculate:

Volume of ejaculate = 45 ml

Concentration of Semen = 145 million/ml

Total of sperm cells in ejaculate = 6,525 billion ($6,525 \times 10^9$)

Motility = 60%

→ motile sperm in the ejaculate = 3,915 billion

From this ejaculate 6 insemination doses can be obtained, each containing 600 million sperm (3,915 billion/600 million = 6.5 doses).

To reach an optimum dilution with 25 million motile sperm/ml, the final volume must be 156 ml (3,915 billion/25 million = 156.6 ml). Each semen dose will amount 26 ml (156 ml/6 doses = 26 ml).

Dilution with centrifugation:

The optimum dilution rate and the number of motile sperm per dose remain equal. The volume of the doses may be reduced (10-15 ml).

Example:

Data of the freshly collected ejaculate:

Volume of ejaculate = 45 ml

Concentration of semen = 145 million/ml

Total of sperm in ejaculate = 6,525 billion sperm

Motility = 60%

→ motile sperm in the ejaculate = 3,915 billion of sperm

After centrifugation and taking off the supernatant (leaving approx. 1 ml seminal plasma with the centrifuged pellet), 3-5 ml of extender are added to re-suspend the pellet by careful movement.

Then volume is determined, motility evaluated and based on counting with the counting chamber, the new number of sperm cell of the ejaculate is calculated.

After the dilution, the semen is no longer maintained in warm conditions. The recommended cooling rate is 0.05° to 0.1°C per minute, respectively within 2.5 to 5 hours from ambient temperature to +5°C.

EquiPlus is recommended for semen preservation for up to 3 days at approx. +5°C. A daily quality analysis until the application is highly recommended.

3.3.2. Centrifugation

The prepared extender and the gel-free ejaculate are mixed 1+1. Centrifugation is performed at 500-800 g for 5-10 minutes. After centrifugation the supernatant is removed and the pellet resuspended with extender for chilled or freezing semen. To achieve a higher yield of sperm cells it is possible to work with CushionFluid (Ref. 13580/0001).

4. Storage, shelf life and important hints

4.1. Storage, shelf life

The bottle with **EquiPlus** liquid must be stored in cool (below +10°C), dry and dark conditions. The minimum shelf life is printed on each bottle.

4.2. Important hints



**Keep the product out of the reach of children.
The product is not suitable for treatment or consumption by human
beings or animals.**

Before each use of the extender, make sure to analyse precisely, whether the extender shows the described properties, especially regarding its consistency and aspect. If the extender shows a different consistency or aspect as normal, it must not be used or Minitüb must be contacted first.

4.3. Trouble shooting

A couple of factors are crucial for good semen conservation and insemination success, among others:

- Use of exclusively sperm friendly materials and surfaces for semen and extender (collection gloves, semen and extender bottles, glassware free of mineral residues)
- Good temperature management, particularly avoiding temperatures below +30°C for undiluted semen and below +4°C for diluted semen, as well as temperature fluctuations
- Avoiding bacterial contamination (appropriate stallion management and preparations of collection; semen collection in clean ambient, appropriate hygiene protocol in the lab)
- Avoiding sperm toxic factors (water, UV light, dust, detergent)
- Quality of the purified water (see point 3.2)

4.4. Consulting and training

You can rely on the Minitube scientific experts for advice and technical support concerning all aspects of your semen production and/or artificial insemination process. Workshops and seminars are offered regularly and also on an individual basis. Please refer to our web site for information regarding our current program.

5. Production standard and quality control

5.1. Raw material quality

All raw materials used in Minitube media are produced according to GMP and DIN ISO 9001:2015 norms, and are certified for meeting Ph Eur, BP or USP standards. They are tested and comply with the current international guidelines regulating the quality of pharmaceutical substances.

5.2. Production standard

The mixing and bottling is performed under GMP conditions in a controlled atmosphere room and documented with weighing records. Under the supervision of a team of veterinary

specialists, the final product is subjected to a series of chemical and physical tests designed to ensure that Minitube media can consistently provide semen conservation with high spermatological efficacy over a wide range of climatic and process conditions.

5.3. Certificates

The general quality certificate and the batch certificate are available upon request.

EquiPlus es un diluyente para semen equino, adecuado para la conservación por aprox. 3 días a temperatura de +4°C hasta +6°C. EquiPlus se presta como diluyente de centrifugación. EquiPlus líquido se presenta en una botella de vidrio de 100 ml y tiene un color blanquecino. No se deben agregar mas componentes.

1. Composición

EquiPlus es elaborado con los siguientes componentes:

- Caseinatos
- Azúcares
- Tampón
- Antibiótico

2. Forma de presentación

EquiPlus líquido, 100 ml, con Sulfato de Gentamicina
13570/0301

3. Aplicación

3.1. Preparación

La cantidad deseada de **EquiPlus** líquido debe precalentarse a +30°C hasta +35°C.

3.2. Calidad del agua

EquiPlus líquido es producido usando agua de extrema pureza. No es necesario agregar agua.

3.3. Recomendaciones técnicas

3.3.1. Diluyente para semen fresco

El eyaculado recién recolectado es mantenido a una temperatura de +30°C hasta +33°C hasta completar las determinaciones de volumen, concentración y motilidad. El volumen del diluyente es calculado en relación al total de espermios con movimiento progresivo del eyaculado y a la cantidad deseada de espermios en la dosis de inseminación. Las temperaturas del semen y del diluyente deben ser iguales (+/-1°C) al momento de la primera dilución. El diluyente debe agregarse lentamente, por cuartos, al semen libre de secreción gelatinosa, mezclando cuidadosamente después de agregar cada fracción.

Cálculo del volumen final del semen diluido:

Dilución sin centrifugación:

La tasa óptima de dilución se ubica a un mínimo de 1:3 (semen : diluyente), o bien, 25 millones (Mill) de espermios motiles/ml en la dilución final. El número recomendado de espermios motiles por dosis de inseminación es de 600 Mill El volumen inseminado debiera ser de 10-30 ml.

Ejemplo:

Datos del eyaculado recolectado

Volumen del eyaculado = 45 ml
 Concentración del semen = 145 millones/ml
 Total células espermáticas = 6.525 millones de espermios
 Motilidad = 60%
 → espermios motiles = 3.915 millones en el eyaculado

Se pueden obtener 6 dosis de semen de este eyaculado, las que contienen cada una 600 millones de células espermáticas por dosis ($3.015 \text{ Mill} / 600 \text{ Mill} = 6,5$ dosis). Para lograr una dilución óptima con 25 Mill de células espermáticas motiles/ml, el volumen final del eyaculado diluido debe alcanzar a 156 ml ($3.925 \text{ Mill} / 25 \text{ Mill} = 156,6 \text{ ml}$) y una dosis de semen tendrá un volumen de 26 ml ($156 \text{ ml} / 6 \text{ dosis} = 26 \text{ ml}$).

Dilución con centrifugación:

La tasa de dilución óptima y el número de espermios motiles por dosis permanecen sin cambios. El volumen inseminado puede aquí reducirse (10-15 ml).

Ejemplo:

Datos del eyaculado recolectado

Volumen del eyaculado = 45 ml
 Concentración del semen = 145 millones/ml
 Total células espermáticas = 6.525 millones de espermios
 Motilidad = 60%
 → espermios motiles = 3.915 millones

Después de la centrifugación y retiro del sobrenadante (dejando alrededor del pellet aprox. 1 ml de sobrenadante con plasma seminal), se diluye el pellet con 3-5 ml de diluyente, resuspendiendo el pellet bamboleando cuidadosamente el centrifugado.

Luego es determinada la cantidad de células espermáticas recuperadas mediante su recuento en cámara. Tras la evaluación de la motilidad se calcula el volumen de la dilución final.

Datos después de la centrifugación:

Volumen = 10 ml
 Concentración = 626 Mill/ml
 Total de células espermáticas = 6.260 Mill de espermios
 Motilidad = 60%
 → células espermáticas motiles en el eyaculado = 3.756 Mill

De este eyaculado pueden obtenerse 6 dosis con 600 Mill de células espermáticas/dosis ($3.756 \text{ Mill} / 600 \text{ Mill.} = 6,2$ dosis).

Para un volumen de 10 ml/dosis, el volumen final del semen diluido debe alcanzar a 60 ml ($6 \times 10 \text{ ml}$), debiendo agregarse al centrifugado resuspendido 50 ml de diluyente.

Tras la dilución el semen se debe someter a un descenso lento de temperatura. La tasa de descenso recomendada es de $0,05^\circ$ hasta $0,1^\circ\text{C}$ por minuto, lo que corresponde a un descenso desde la temperatura ambiente hasta $+5^\circ\text{C}$ en el transcurso de 2,5 a 5 horas.

EquiPlus es adecuado para la conservación del semen hasta por 3 días a aprox. $+5^\circ\text{C}$. Hasta su aplicación es muy recomendable el control diario de calidad.

3.3.2. Diluyente para centrifugación

El semen libre de secreción gelatinosa se diluye en proporción 1:1 con el diluyente preparado. Luego se somete a centrifugación por 5-10 min. a 500-800 g. Despues de la centrifugación, se retira el sobrenadante y el pellet centrifugado es resuspendido en

diluyente para semen fresco o diluyente para congelación. A fin de obtener una cantidad mayor de células espermáticas se puede trabajar con CushionFluid (Ref.Nº. 13580/0001).

4. Almacenamiento, estabilidad e indicaciones

4.1. Almacenamiento, estabilidad

Las botellas con **EquiPlus** deben ser almacenados a baja temperatura (bajo +10°C), en ambiente oscuro y seco. La vida útil mínima aparece impresa sobre el envoltorio.

4.2. Indicaciones importantes

No almacenar el diluyente al alcance de niños.

El diluyente no es adecuado para el tratamiento o consumo de personas o animales.

Antes de cada uso del diluyente, se debe comprobar con cautela, que el diluyente demuestre las propiedades descritas, especialmente con referencia a su consistencia y aspecto. En el caso que la consistencia o el aspecto no sean normal, no se debe usar el diluyente o solo después de contactar a Minitüb.

4.3. Análisis de errores

Una serie de factores es decisiva para una correcta conservación del semen y el éxito de la inseminación, entre otros:

- La utilización exclusiva de materiales y superficies inocuos para semen y diluyentes (guantes de colección, botellas de colección de semen y conservación de diluyentes, material de vidrio libre de residuos minerales).
- Manejo adecuado de temperatura, evitando particularmente temperaturas bajo +30°C para el semen no diluido, y bajo +4°C para el semen diluido, como también las fluctuaciones de temperatura.
- Evitar la contaminación bacteriana (medidas adecuadas de manejo y preparación de la monta de los sementales, colección en ambiente limpio, medidas higiénicas adecuadas en el laboratorio).
- Evitar factores espermio-tóxicos (agua, luz UV, polvo, detergentes).
- Calidad del agua utilizada (ver punto 3.2).

4.4. Asesoría y adiestramiento

Para resolver consultas pertinentes, Minitüb pone a su disposición a sus expertos en producción de semen e inseminación. Minitüb ofrece adiestramientos individuales. Usted puede informarse sobre la oferta actual de adiestramientos a través de nuestra página web.

5. Estándares de producción y controles de calidad

5.1. Calidad de materias primas

Todas las materias primas utilizadas en Minitüb son elaboradas de acuerdo a normas GMP y DIN ISO 9001:2015 y certificadas según estándares Ph Eur o USP. Han sido testadas cumpliendo normas actuales de calidad internacional que regulan la calidad de sustancias farmacéuticas.

5.2. Estándar de elaboración

La mezcla y envasado son efectuadas bajo condiciones GMP en recintos con atmósfera controlada, documentando los protocolos de pesaje. Bajo la supervisión de un equipo de veterinarios especializados, el producto final es sometido a una serie de testes físicos, diseñados para asegurar que los medios de Minitüb puedan otorgar una conservación de semen de gran eficacia espermatológica dentro de un amplio rango de condiciones climáticas y de procesamiento.

5.3. Certificados

A solicitud se puede acceder a un certificado de calidad general como también a un certificado individual de cada partida.

EquiPlus – это культуральная среда для спермы жеребцов, которая подходит для сохранения спермы при температуре от +4°C до +6°C в течение прибл. 72 часов. Кроме того, среда EquiPlus пригодна для центрифугирования спермы жеребцов. EquiPlus в жидкой форме поставляется в 100 мл стеклянных бутылочках и имеет беловатый цвет; в добавлении дополнительных компонентов нет необходимости.

1. Состав

В состав **EquiPlus** входят следующие компоненты:

- Казеинаты
- Сахара
- Буфер
- Антибиотики

2. Объем упаковки

EquiPlus в жидкой форме с гентамицина сульфатом, 100 мл
13570/0301

3. Применение

3.1. Приготовление

Требуемое количество **EquiPlus** необходимо подогреть до температуры +30°C - +35°C.

3.2. Качество воды

EquiPlus в жидкой форме производится с использованием ультрачистой воды. В дополнительном добавлении воды нет необходимости.

3.3. Рекомендуемое применение

3.3.1. Подготовка охлажденной спермы

Свежеполученную сперму жеребца сохраняют при температуре от +30°C до +33°C и проводят анализ. После удаления гелевого компонента определяют объем эякулята, концентрацию и подвижность спермиев. В зависимости от желаемого количества прогрессивно-подвижных спермиев в дозе для искусственного осеменения рассчитывают необходимое количество разбавителя. В момент первого разбавления температура разбавителя и спермы должна быть одинаковой (+/-1°C). Разбавитель медленно добавляют к отфильтрованному, не содержащему гелевого компонента эякуляту, и две фракции осторожно, но тщательно перемешивают в несколько этапов.

Расчет конечного объема разбавленной спермы:

Разбавление без центрифугирования

Оптимальная степень разбавления должна составлять не менее 1:3 (сперма : разбавитель), или 25 миллионов подвижных спермиев/мл после окончательного разбавления. Рекомендуемая доза подвижных спермиев на спермодозу - 600 миллионов. Объем для осеменения должен составлять 10-30 мл.

Пример:

Данные по свежеполученному эякуляту:

Объем эякулята = 45 мл

Концентрация спермы = 145 млн./мл

Общее количество спермиев в эякуляте = 6,525 млрд. ($6,525 \times 10^9$)

Подвижность = 60%

→ подвижных спермиев в эякуляте = 3,915 млрд.

Из данного эякулята можно получить 6 спермодоз для искусственного осеменения, каждая из которых будет содержать 600 миллионов спермиев (3,915 млрд. / 600 млн. = 6,5 доз).

Чтобы достичь оптимального разбавления с содержанием 25 миллионов подвижных спермиев/мл, окончательный объем должен составлять 156 мл (3,915 млрд./25 миллионов = 156,6 ml). Объем каждой спермодозы будет равняться 26 мл (156 мл / 6 доз = 26 мл).

Разбавление с центрифугированием:

Оптимальная степень разбавления и количество подвижных сперматозоидов на спермодозу остаются неизменными. Объем доз может быть уменьшен (10-15 мл).

Пример:

Данные по свежеполученному эякуляту:

Объем эякулята = 45 мл

Концентрация спермы = 145 млн./мл

Общее количество спермиев в эякуляте = 6,525 млрд.

Подвижность = 60%

→ подвижных спермиев в эякуляте = 3,915 млрд. спермиев

После центрифугирования и удаления супернатанта (должно остаться прибл. 1 мл семенной плазмы с отделенным центрифугированием осадком), к ресуспендированному осадку осторожно добавляют 3-5 мл разбавителя.

Затем определяют объем, проводят оценку подвижности и, на основе подсчетов, проведенных с помощью счетной камеры, рассчитывают новое число спермиев в эякуляте.

После разбавления сперму больше не нужно сохранять в теплых условиях. Рекомендуемая скорость охлаждения составляет от 0,05° до 0,1°C в минуту, соответственно охлаждение от комнатной температуры до температуры +5°C занимает от 2,5 до 5 часов.

EquiPlus подходит для сохранения спермы сроком до 3-х дней при температуре около +5°C. До применения очень рекомендуется ежедневно проводить анализ качества.

3.3.2. Центрифугирование

Приготовленный разбавитель и не содержащий гелевого компонента эякулят смешивают в соотношении 1:1. Центрифугирование выполняется при 500-800 г в течение 5-10 минут. После центрифугирования надосадочная жидкость (супернатант) удаляется, а осадок центрифугирования ресуспенсируется разбавителем для охлаждаемой или замораживаемой спермы. Чтобы получить больший выход спермиев, можно работать с буферной жидкостью CushionFluid (Реф. 13580/0001).

4. Способ хранения, срок годности при хранении и важные замечания

4.1. Способ и срок хранения

Бутылочки с жидкостью **EquiPlus** следует хранить в прохладном (ниже +10°C), сухом и темном месте. Минимальный срок годности при хранении напечатан на каждой бутылочке.

4.2. Важные замечания



**Храните продукт в недоступном для детей месте.
Продукт не предназначен для потребления людьми или животными, или применения в качестве лекарственного препарата.**

Перед каждым использованием разбавителя внимательно проверьте, отвечает ли он описанным свойствам, в частности это касается его консистенции и внешнего вида. Если консистенция или внешний вид разбавителя отличаются от нормального, то такой разбавитель не следует использовать, либо нужно вначале связаться с представителями Minitüb.

4.3. Устранение возможных проблем

Для надежного сохранения спермы и успеха искусственного осеменения решающими являются несколько факторов, а именно:

- Использование только таких материалов и поверхностей, которые безвредны для спермы и разбавителя (перчатки для сбора спермы, бутылочки для спермы и разбавителя, отсутствие минеральных осадков внутри стеклянной лабораторной посуды)
- Надежный температурный контроль, в частности недопущение возможности падения температуры ниже +30° для неразбавленной спермы и ниже +4°C для разбавленной спермы, а также исключение температурных колебаний.
- Исключение возможности бактериального загрязнения (путем соответствующей организации работы с жеребцами и препаратами для взятия спермы; сбор спермы в чистых условиях, соблюдение соответствующего гигиенического протокола в лаборатории)
- Исключение воздействия факторов, токсичных для спермы (вода, УФ излучение, пыль, моющее средство)
- Качество очищенной воды (см. пункт 3.2)

4.4. Консультирование и обучение

По любым техническим вопросам, связанным с производством спермы и искусственным осеменением, Вы можете обращаться к экспертам Minitüb. Компания Minitüb предлагает индивидуальную подготовку. Реальные предложения в плане тренингов можно увидеть на нашей web-странице.

5. Стандарт производства и контроль качества

5.1. Качество исходных материалов

Все используемые Minitüb исходные материалы производятся в соответствии с нормами GMP и DIN ISO 9001:2015, и сертифицированы по стандартам Ph Eur, BP или USP. Они протестированы в соответствии с международными директивами проверки

адекватности качества фармакологических веществ и соответствуют названным требованиям.

5.2. Стандарт производства

Смешивание и розлив выполняются с соблюдением условий стандартов GMP в контролируемой среде и документируются записями о взвешивании. Готовые смеси проходят химические и физические проверки, удостоверяющие, что среды компании Minitüb способны стабильно обеспечивать консервацию спермы с высокой на сперматологической эффективностью при различных климатических и технологических условиях.

5.3. Сертификаты

Общий сертификат качества, а также Сертификат анализа партии продукции предоставляются по требованию.

Literatur/ Literature/ Literatura/ Литература

Aurich, C. (2005): **Factors affecting the plasma membrane function of cooled-stored stallion spermatozoa.** Animal Reproduction Science, Vol. 89, Issues 1-4, 65-75.

Факторы, влияющие на функцию плазменной мембранны хранящихся в охлажденном состоянии сперматозоидов жеребца.

Pagl, R., Aurich, J.E., Müller-Schlösser, F., Kankofer, M., Aurich, C. (2006): **Comparison of an extender containing defined milk protein fractions with a skim milk-based extender for storage of equine semen at 5°C.** Theriogenology , Vol. 66, Issues 1115-1122.

Сопоставление разбавителя, содержащего определенные фракции молочных протеинов, и разбавителя на основе обезжиренного молока в плане возможности хранения спермы жеребцов при 5°C.

Аурих К., Зеебер П., Мюллер-Шлёссер Ф. (2007): **Сравнение различных разбавителей с установленным составом белка для хранения спермы жеребца при 5°C.** Воспроизводство домашних животных, том 42 (4):445-8.

4. Auflage/Edition/Edición/Издание 2017

© 2017 Minitüb GmbH, Tiefenbach

Alle Rechte, auch die der Übersetzung, vorbehalten.

Nachdruck, auch auszugsweise, nur mit schriftlicher Genehmigung. Kein Teil des Handbuchs darf in irgendeiner Form ohne schriftliche Zustimmung der Minitüb GmbH reproduziert oder unter Verwendung elektronischer Systeme verarbeitet, vervielfältigt oder verbreitet werden.

Alle Marken-Produktnamen sind Warenzeichen oder eingetragene Warenzeichen der jeweiligen Titelhalter.

Irrtum und technische Änderungen vorbehalten.

Produkt nur in einwandfreiem Zustand und unter Beachtung der Bedienungsanleitung betreiben/ verwenden.

Zum künftigen Nachschlagen aufbewahren (gem. EN ISO 12100).

Übersetzt aus dem Deutschen.

All rights reserved, including the translation.

Reprint, even in extracts only with a prior written permission. No part of this manual may be reproduced or transmitted in any form or by any means electronic, mechanical, photocopying, without the prior written permission of Minitüb GmbH.

All brand product names are trade marks or registered trade marks of the respective title holder.

Errors and technical alterations excepted.

Use product only in perfect condition and in compliance with the manual.

Keep safe for future consulting (according to EN ISO 12100).

Translated from German.

Todos los derechos reservados, incluyendo la traducción.

Reimpresión, incluyendo reimpresión parcial, sólo permitida previa autorización escrita. Sin la autorización escrita de Minitüb, ninguna parte del manual debe ser procesada, reproducida y difundida mediante sistemas electrónicos.

Todos los nombres de marcas o productos son marcas de producto o marcas registradas propiedad del fabricante.

Reserva del derecho a error y a modificaciones.

Operar/utilizar el producto sólo en estado inobjetable y en estricta observación del manual de operación.

Consevar para consultas posteriores (según EN ISO 12100).

Traducción del Alemán.

Полная или частичная перепечатка материалов допускается только при условии получения предварительного письменного разрешения. Копирование или передача данного Руководства в любой форме и с использованием любых средств, в том числе электронных, механических или фотокопировальных, без предварительного письменного разрешения Minitüb GmbH запрещена.

Все торговые марки и коммерческие наименования являются товарными знаками или зарегистрированными торговыми марками соответствующего правообладателя. Все права сохранены, включая перевод.

Оставляем за собой право на неточности и изменения.

Разрешается использовать продукт только в надлежащем состоянии и в строгом соответствии с Руководством по эксплуатации.

Храните инструкции в надежном месте для обращения к ним будущем (в соответствии с EN ISO 12100).

Перевод с немецкого языка.

Minitüb GmbH
Hauptstrasse 41
84184 Tiefenbach
Germany

Phone: +49 8709 9229 0

Fax: +49 8709 9229 39

email: minitube@minitube.de

Internet www.minitube.com

CEO: Dr. Christian Simmet
Register Court Landshut: HRB 4129
VAT-Id.No.: DE 182191255