

VORWORT

Liebe Leserinnen und
Leser,

in dieser Ausgabe der Gynemedia möchten wir in erster Linie Frau Dr. Dorothee Weiss danken für Ihren Beitrag zum Thema Osmolalität und deren Einfluss auf die Kultivierung im IVF-Labor.

Des Weiteren stellen wir Ihnen ein neues Gerät auf dem Markt vor, den Semen Quality Analyzer X1 PRO, den wir für Sie in einer internen Validierung im hauseigenen Labor mit einer manuellen Auszählung verglichen haben.

Anschließend freuen wir uns, Ihnen den neuen LYKOS Dynamic Targeting System™ (DTS) Laser von Hamilton Thorne vorzustellen, welcher seit Mitte Juni 2019 bei uns erhältlich ist!

Wir wünschen Ihnen bei der Lektüre viel Vergnügen und freuen uns auch weiterhin auf anregende Diskussionen.

Ihre Gynemed

Osmolalität: wenig beachtet und doch so wichtig!

Zur Behandlung ungewollter Kinderlosigkeit ist die Kultivierung der Gameten/Embryonen in vitro ein Standardverfahren.

Um die Entwicklungskompetenz der Zellen zu erhalten, sind ideale Kultivierungsbedingungen eine Grundvoraussetzung. Dazu gehören die Zusammensetzung des Kultivierungsmediums und die Einhaltung der physikalischen Parameter wie Temperatur, pH-Wert und Osmolalität. Klassische Schrankinkubatoren sind in der Regel sogenannte Feuchtinkubatoren, also Inkubatoren mit einer annähernd gesättigten Luftfeuchte. Sie verfügen über ein großes Nutzraumvolumen wie es für Zellkulturen gebraucht wird. Die Verfügbarkeit von qualitativ gutem Öl zur Überschichtung der Mikrotropfen, dass die Verdunstung des Mediums verhindert, ermöglichte die Entwicklung sogenannter Trockeninkubatoren.

Der Verzicht auf eine gesättigte Luftfeuchte verringert das Risiko der Verkeimung der Geräte. Die Entwicklung der Benchtop-Inkubatoren und Time-lapse-Systeme, die bis auf wenige Ausnahmen (z.B. Cube von Astec) reine Trockeninkubatoren sind, brachten zusätzlich die Vorteile der ungestörten Kultivierung.

Durch den vergleichsweise kleinen Nutzraum, der jedoch für Kultivierung der Gameten und Embryonen bei ART völlig ausreichend ist, können die laufenden Kosten der Kultivierung auch unter reduziertem Sauerstoff gering gehalten werden.



Dr. Dorothee Weiss

Erste Untersuchungen von Mori et al. (2010/2011) zeigten, dass es bei der Kultivierung in Trockeninkubatoren nur zu einer geringen und damit vernachlässigbaren Änderung der Osmolalität kommt.

Neueste Untersuchungen zeigen jedoch, dass es durch den Verzicht auf die gesättigte Luftfeuchte sehr wohl zu einem Anstieg der Osmolalität und damit zu einem negativen Effekt auf die Entwicklung der Embryonen kommen kann.

Im Gegensatz zu den physikalischen Parametern pH-Wert und Temperatur, die in einem gewissen Rahmen angepasst werden können, wird die Osmolalität der kommerziell erhältlichen Kultivierungsmedien durch den Hersteller vorgegeben und damit als gegeben hingenommen. Sie wird daher im Laboralltag auch wenig beachtet und noch seltener überprüft. Die Osmolalität einer Lösung beschreibt die Gesamtzahl an festen

Teilchen in einer Lösung und wird als mOsm/kg angegeben. Die Osmolalität der Kultivierungsmedien ist ein wesentlicher Parameter der Kultivierung, da osmotischer Stress zu einem Teilungsarrest führen kann. Liegt die Osmolalität des Mediums nicht innerhalb des idealen Bereichs von 270 bis 290 mOsm/kg, kann es zu Störungen in der DNA-Replikation und Transkription sowie des Stoffwechsels der Mitochondrien kommen (Burg et al., 2007).

Hadi et al. (2005) konnte an Mäuseembryonen den negativen Effekt auf die Entwicklungskompetenz zeigen, wenn die Osmolalität über 300 mOsm/kg lag. Die Osmolalität der kommerziell erhältlichen Medien liegt zwischen 260 und 290 mOsm/kg und entspricht damit dem physiologischen Bereich.

Swain et al (2012) stellte fest, dass es schon bei der Präparation der Mikrotropfen zur Kultivierung zu einem Anstieg der Osmolalität in Abhängigkeit von der Größe und Oberfläche der Tropfen sowie der Luftbewegung und Temperatur kommen kann. Daher ist schon bei Ansetzen der Kultivierungsschälchen darauf zu achten, dass hier die Verdunstung so gering wie möglich gehalten wird.

Weiterhin kann die Osmolalität während der Kultivierung der Zellen im Inkubator ansteigen, wie neuste Untersuchungen von Fawzy et al. (2017) zeigten. So konnten signifikant schlechtere Implantations- und „ongoing“ Schwangerschaftsraten erreicht werden, wenn die Embryonen in einem Trockeninkubator kultiviert wurden im Vergleich zur Inkubation bei gesättigter Luftfeuchte. Die Autoren schlossen aus diesen Ergebnissen und aus Ergebnissen vorheriger Studien, in denen sie die Veränderung der Osmolalität im Kultivierungsmedium gemessen hatten, wenn dieses für mehrere Tage in einem Trockenbrutschrank gestanden hatte, dass der Anstieg der Osmolalität für diesen Effekt verantwortlich ist (Fawzy et

al. 2017). Auch die Messung der Osmolalität der Kultivierungsmedien in den Schälchen unterschiedlicher Time-lapse-Systeme ergab in allen Medien einen Anstieg der Osmolalität während der mehrtägigen Kultivierung. Dabei war der Anstieg abhängig von der Tropfengröße und der Höhe der Ölschicht (Carpenter et al. 2018).

De Gallego et al. (2018) fanden einen signifikanten Effekt auf die embryonale Entwicklung bei der Kultivierung der Embryonen in 80 µl Tropfen für 5-6 Tage in einem Trockeninkubator im Vergleich zum Inkubator mit gesättigter Luftfeuchte.

Albert et al. (2018) verglich die Entwicklung der Embryonen und Schwangerschaftsraten in Abhängigkeit davon, ob unter gesättigter Luftfeuchte oder trocken in einem Time-lapse-System kultiviert wurde. Dabei zeigten sich bei der Kultivierung mit gesättigter Luftfeuchte eine bessere Blastozystenentwicklung, eine höhere Schwangerschaftsrate und eine geringere Abortrate. Ob die Osmolalität des Mediums ansteigt, hängt neben der Dauer der Kultivierung und Tropfengröße auch von der Art und Menge des Öls ab, mit dem überschichtet wurde (Swain et al. 2018, Yumoto et al. 2018). Wie hoch die Gefahr der Verdunstung und damit des Anstiegs der Osmolalität in Trockeninkubatoren ist, hängt auch davon ab, ob in „Luft“ oder unter reduziertem Sauerstoffgehalt kultiviert wird, da die Umgebungsluft in der Regel eine Luftfeuchte von 40-60% hat, gasförmiger Stickstoff aus der Flasche dagegen 0%.

Die Verdunstung des Wassers aus dem Kultivierungsmedium hat nicht nur einen Effekt auf die Osmolalität im allgemeinen, sondern auch auf den pH-Wert, da die Kon-



ASTEC AD-3100 CUBE



Weitere Informationen zum ASTEC CUBE entnehmen Sie unserer März Gynemedica Ausgabe!

zentration des Bikarbonats und damit der pH-Wert steigt (Swain, 2019).

Die Ergebnisse der dargestellten Studien zeigen, wie wichtig es ist, alle grundlegenden physikalischen Parameter der In-vitro-Kultivierung zu beachten. Auch wenn Trockeninkubatoren im Handling Vorteile bieten, sollte der Effekt auf die Osmolalität der Kultivierungsmedien nicht unterschätzt werden. Ob und wie hoch der Einfluss jedoch ist, hängt von vielen Faktoren ab. Diese Tatsache könnte auch erklären, warum in den ersten Studien von Mori et al. (2010/2011) bei der Kultivierung in 100 µl Tropfen und einem Wechsel des Mediums alle 48 Std. nur ein sehr geringer Effekt auf die Osmolalität und keiner auf die Entwicklung der murinen und

humanen Zellen zu finden war.

In neueren Studien, in denen mit kleineren Volumina und ohne den Wechsel des Kultivierungsmediums nach 2-3 Tagen und unter

reduziertem Sauerstoff (0% Luftfeuchte) kultiviert wurde, konnte sehr wohl ein Anstieg der Osmolalität beobachtet werden. Daher sollte sich jeder fragen, ob und wie hoch die Wahrscheinlichkeit

des Anstiegs der Osmolalität in seinem laborspezifischen Kultivierungssystem ist und wie dies verhindert werden kann.

Literaturliste auf Anfrage erhältlich.

Lenshooke zur Spermioigrammerstellung

Gynemed hat ein neues Gerät im Portfolio. Bei einer internen Validierung im hauseigenen Labor unter der Leitung von Frau Dr. Julia Heinzmann ist eine vereinfachte, schnelle und automatisierte Spermienanalyse mit einer manuellen Auszählung verglichen worden.

Ermittelt wurden hierbei folgende Parameter: pH Wert, Konzentration, Motilität und Morphologie.

Für diese Validierung wurde das Gerät BonRayBio SEMEN Quality Analyzer verwendet. Dieser „Semen-Quality Analyzer“ bestimmt die Konzentration, den pH-Wert, die Beweglichkeit und die Morphologie der Spermprobe. Mittels des mitgelieferten Ejakulatbechers (C-KUP) kann weiterhin das Volumen, die Verflüssigung und die Farbe erfasst werden. Die Ergebnisse werden nach Abschluss der Analyse in Form einer Tabelle sowie in Bild und Videoformat dargestellt.

Vergleichend dazu wurde das Ejakulat manuell ausgewertet. Die Befundung des SpermioGRAMMS erfolgte nach den aktuellen Richtlinien des Handbuchs der WHO (5. Auflage).

Zur Konzentrations- und Beweglichkeitsbestimmung wurden Einwegzählkammern (Neubauer Improved) verwendet. Die mikroskopische Beurteilung der Spermienform erfolgt nach den „Strict-Kruger“ Kriterien, die Färbung mittels „prestained Slides“ von Cell-VU.

Für die Untersuchung wurden nur frisch gewonnene Ejakulate re-

kruierter Spender des Landkreises Ostholstein verwendet.

Die Abgabe erfolgte in häuslicher Umgebung. Das Alter der Studienteilnehmer lag zwischen 35 und 55 Jahren. Die Karenzzeit variierte zwischen 1-14 Tagen. Insgesamt wurden im Zeitraum vom 01.05.2019 bis 31.05.2019 12 Proben analysiert. Dabei zeigten sich Befunde von Oligoasthenospermie bis Normospermie.

Nach einer Verflüssigungszeit von ca. 30 Minuten wurden die Proben untersucht und analysiert. Die Testkassette des Semen-Analyzers wurde streng nach den Gebrauchshinweisen befüllt und innerhalb von 30 Sekunden analysiert.

Die Auswertung der Ergebnisse ergab, dass die Abweichung im Bereich des pH-Wertes und der Morphologie gering ist. Die Motilität wird vom automatisierten System und dem manuellen Anwender annähernd gleich bewertet. Geringe Differenzen zeigten sich jedoch im Bereich der Konzentration insbesondere bei sehr niedrigen oder sehr hohen Konzentrationen. Seitens des Herstellers wird darauf hingewie-



Semen Quality Analyzer
X1 PRO



Semen Test
Cassette



C-KUP
Ejakulatbecher

sen, dass die technischen Gegebenheiten einer Bestimmung jenseits von 120 Mio/ml und diesseits von <2 Mio/ml unscharf sind.

Ein weiterer Schwerpunkt unserer Beobachtungen liegt in der Be-

arbeitungszeit beider Methoden sowie in der Handhabung im Arbeitsalltag: Der Samen-Analyzer arbeitet mit ca. 30 Sec. um ein vielfaches schneller, als es bei einem sorgfältigen, manuellen Auszählen der Fall ist. Die Handhabung ist

simpel und selbsterklärend und für jeden leicht zu erlernen. Durch die kompakte Ausführung und die lange Akkulaufzeit (ca. 8 Stunden) ist das Gerät optimal dafür ausgelegt, mobil in verschiedenen Laboratorien angewendet zu werden.

Markteinführung des Dynamic Targeting System™ (DTS) Lasers

Die aktuelle Generation der von Gynemed vertriebenen Laser (LYKOS DTS von Hamilton Thorne) bietet allen Anwendern in Verbindung mit der kürzlich aktualisierten Laser 6-Software und der 5-Megapixel-Digitalkamera eine nochmals verbesserte Benutzerfreundlichkeit durch:

- Eine präzise Ziel- und Lasersteuerung für die exakte Positionierung des Laserstrahls ohne Mikromanipulation/Bewegung der Zellen zum Target mit dem Kreuztisch
- Automatische Kalibrierung zur Gewährleistung der Genauigkeit bei gleichzeitiger Verkürzung der Technikerzeit, geringster Wartungsaufwand aller im Markt befindlichen Laser
- Integrierte Datenbank zur Qualitätskontrolle zur Datenerfassung, Berichterstellung und Verknüpfung mit vorhandenen Laborinformationssystemen
- Berichterstellungstools, mit denen der Benutzer unbegrenzt Berichte erstellen kann
- Aktualisierte Benutzeroberfläche mit Automatisierungsopti-

onen für mehrere Modi, um die Verwendung zu vereinfachen

- Deutschsprachige Unterstützung

Durch die Integration der Steuerelemente in das Mikroskopobjektiv haben wir die von unseren Kunden und Anwendern gewohnte einfache Installation beibehalten und sind gleichzeitig das einzige wirklich tragbare Lasersystem für IVF-Kliniken auf dem Markt.

Des Weiteren ist es das einzige Lasersystem, das einen problemlosen Umbau durch den Kunden auf alle bekannten Mikroskope ermöglicht, ohne zusätzliche Komponenten zukaufen zu müssen.

Unsere Ausrichtungssoftware bietet dem Benutzer die Flexibilität, das Lasersystem nach seinen Wünschen zu automatisieren.

Die Einführung unseres LYKOS DTS spiegelt das anhaltende Engagement von Hamilton Thorne wider, den Embryologen modernste



LYKOS Dynamic Targeting System™ (DTS) Laser

Technologie zur Verfügung zu stellen, um ihren Patienten die bestmögliche Behandlung zu bieten.

Gynemed und Hamilton Thorne werden die neue LYKOS DTS-Technologie erstmalig in Europa auf dem ESHRE 2019 in Wien ausstellen.

Sprechen Sie uns an.

IMPRESSUM

Herausgeber: GYNEMED GmbH & Co. KG

Telefon: +49 4363/90329-0 Fax: +49 4363/90329-19 E-mail: info@gynemed.de

Redaktion: Dr. Fabian Sell (V.i.S.d.P.) 23738 Lensahn Telefon: +49 4363/1231

Layout: Julia Biegemann

