

Triladyl® CSS Application

抗生物質非使用 Triladyl® CSS は、卵黄を使用した牛凍結精液作成のためのワンステップ無菌濃縮希釈液です。CSS ワンステップ処理方法による 5°C 又は室温での精液処理が可能です。この希釈液は羊、ヤギ、鹿などのその他の動物の精液凍結処理にも使用できます。

1. 成分

- TRIS
- クエン酸
- 糖
- 緩衝剤
- グリセリン
- 超純水

※ CSS ワンステップ精液処理方法では、希釈された精液 1 cc に対し次の量の抗生物質を加えます (CSS Minimum Requirements の Appendix 1) :

- ・ タイロシン (100 µg)、ゲンタマイシン (500 µg)、スペクチノマイシン (600 µg)、リンコマイシン (300 µg)

2. ボトルサイズ

Triladyl® CSS 1 本には、希釈液 1,000 cc を作るための濃縮液 200 cc が入っています。抗生物質は含まれていません。

3. 取扱い方法

3.1. 最終希釈液の作成

希釈液を作成するためには、以下のものがが必要です。

- Triladyl® CSS 濃縮液 1 本 (200g)
- 混合抗生物質溶液 (25 cc)
- 超純水 (580 cc)
- 新鮮な卵黄 (200g)
- シリンダー又は三角フラスコ (殺菌済み)
- フィルター (殺菌済み)
- 希釈液フィルター漏斗 (殺菌済み)

Triladyl® CSS 濃縮液 1 本 (200g) を目盛り付きフラスコに空け、それに超純水 580 cc を数回に分けて入れます。この原液は安定しており、5°C の状態で約 1 週間保存できます。

卵黄を、体積と重量が互いに一致するよう 200g 分計量します。卵の殻は全体を火に炙ることで殺菌できます。卵を静かに割り、卵黄を卵白から完全に分離させます。卵黄をフィルター紙に乗せ、卵白がすべてなくなるように紙を巻きます。卵黄は紙に包んだまま紙の端に置きます。そのまま卵黄に軽く力を加えて膜を破れば、膜がフィルター紙に残り、黄身だけ落とすことができます。卵黄に溶液をゆっくりと加え、マグネティックスティラーや無菌ガラス棒などでよく攪拌します。

Triladyl® CSS の最適な保存状態を作るためには、正しい順番で卵黄に溶液を加えることが必要であり、手順が逆ではいけません。

使用前に、希釈液を無菌フィルター漏斗や滅菌ガーゼで濾過します。それから混合抗生物質溶液(抗生物質に精製水を加えよく溶かしたものを)を 25 cc準備し、うち 20 ccを希釈液に加えます。調合済みの希釈液はその日のうち使用しなければなりません。残りの 5 ccの混合抗生物質溶液は、採精直後の精液処理用として使用します。

3.2. 水質

希釈に使用する水の質は非常に重要です。蒸留、脱イオン、逆浸透によって精製する必要があり、更に殺菌が必要な場合もあります。精製水は以下の規定を満たす必要があります。

- 伝導率: 1 $\mu\text{S}/\text{cm}$ 以下
- 細菌: 10 cc中 1 CFU(コロニー形成単位)以下

水の細菌汚染には細心の注意が必要です。殺菌処理されていないチューブ、パイプ、保存容器の使用は細菌汚染の恐れがあります。水処理に適切な設備がない場合は、精製水を購入する必要があります。バッテリー用や家庭用の脱塩水の使用はお勧めできません。

3.3. 推奨希釈方法

精液は採精後、28°C~32°Cのお湯の中で保温します。CSS のワンステップ希釈法では、精液 1 ccに対し 0.02 ccの混合抗生物質を加えて混ぜます。この処理には3~5分かかります。顕微鏡で分析した後、収集ビーカー内の精液に希釈液をゆっくりと加え、1:1 の割合で希釈します。それから、希釈液の全必要量を計算し、予め温めておいた別の大きめビーカーに精液を注ぎ込み、そこに希釈液の残りを加えて下さい。精液と希釈液が十分混ざるように 2~3 回慎重に振って下さい。正確に処理するためにも、ガラス瓶の目盛りではなく、電子測定器やスマートディスペンサーシステムなどを使用して下さい。

注: 精液、希釈液、ガラスなどは、温度差による衝撃を防ぐため、必ず同じ温度を維持してください。

希釈後の精液は、室温で処理することができます。ストロー注入作業は 5°C又は室温で行って下さい。

● 5°Cでの精液注入作業(CSS 推奨):

事前希釈された精液を、部分的又は完全に希釈し、冷蔵室/キャビネットの中で 5°Cまで下げます。5°Cに達した後、冷蔵室/キャビネットの中で精液をストローに注入します。

注: 冷却前に精液を部分的に希釈した場合、5°Cに冷却された希釈液の残量を、部分的に希釈し冷却した精液に足していきます。

● 室温での精液作成

事前希釈した精液に残りの希釈液を静かに加えます。ストロー注入後、凍結まで2~3時間かけて5°Cに冷却します。

● ストロー凍結

ストローの凍結は、液体窒素の液面から 4 cmのラック上で、又は開始温度-120°Cの精液専用自動凍結機で行います。自動凍結機を使う場合は、0.25 ccストローでは7分間、0.5 ccストローでは10分間以

上かける必要があります。

3.4. 特殊な用法

ヤギの凍結精液作成では、牛や羊の場合と比べて卵黄の量を少なくします、5% (50g) だけです。Triladyl® CSS (200g) と超純水 (580 cc) の量は変わらず、処理方法も上に記したものと全く同じです。鹿の場合は、下準備済み Triladyl® CSS 希釈液: 精液の比率は 5~7:1 の割合がお勧めです。

4. 保存、品質保持期限と注意事項

4.1. 保管方法と品質保持期限

濃縮希釈液のボトルは 5°C の冷蔵庫で保管して下さい。品質保持期限はボトルのラベルに印刷されています。原液は準備直後に冷蔵して 1 週間まで冷蔵庫で保管できます。残った調合済み又は事前に温めた希釈液は、5°C の状態で 1~2 日間保管できます。

4.2. 注意事項

この希釈液は人間や動物に使用しないで下さい。また、お子様の手の届かない場所に保管して下さい。

4.3. カウンセリングとトレーニング

Triladyl® CSS は様々な精液凍結処理で使用することができます。Minitübe の専門家があらゆる質問に対応しています。また、Minitübe では個人のお客様にもトレーニングを提供しています。詳しくは HP をご覧下さい。

5. 製品規格と品質管理

5.1. 原料品質

この希釈液に使用されている原料はすべて、GMP と DIN ISO 9001:2000 の規定に沿って生産されており、Ph Eur、BP、USP などの規格のもとに保証されています。また、調合物質における国際品質ガイドラインに基づいて検査されており、その必要条件を満たしています。この希釈液の精液保護の適正さについては、希釈液の各成分がバッチ毎に、専門獣医師の監視の下、化学的、物理的、精子学的に検査されています。分析証明書と検査記録は追跡可能となっています。

5.2. 生産規格

希釈液の混合と容器への注入作業は、GMP の条件に則って空気調節された環境で行われ、測定記録等と併せて文書で記録されます。混合した希釈液は、精液保護のための現実的な条件の下で、専門獣医師の監視の下、独立機関によって化学的、物理的に検査されます。

5.3. 証明書

一般的な品質証明書と同様に、バッチ証明書も要望によりご用意できます。