



## Konzentrationsmessung von Ebersamen mit AndroVision®

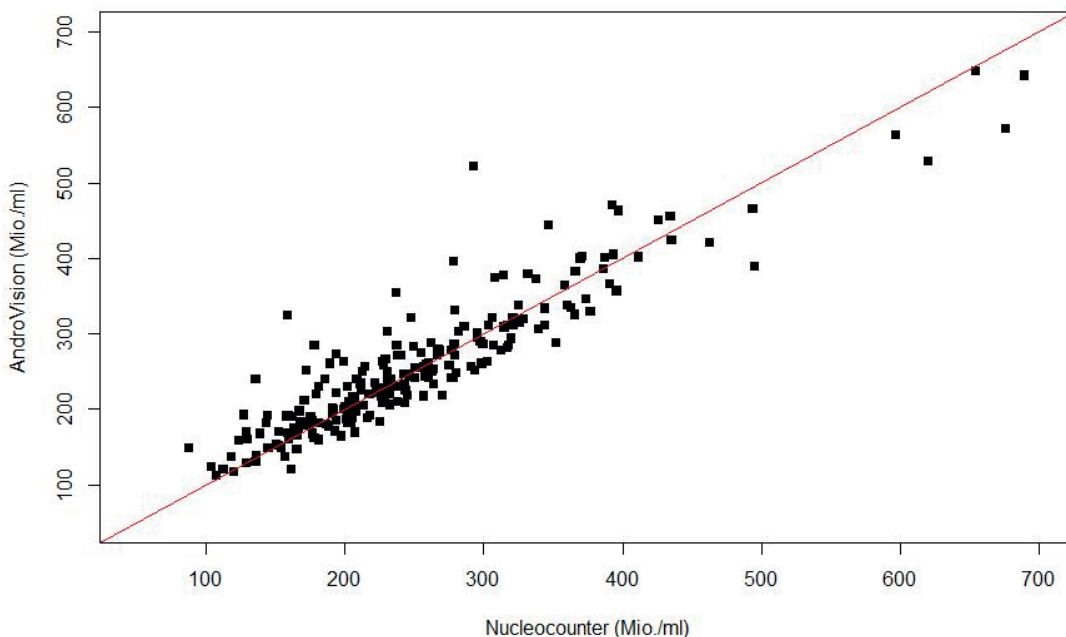
Rudolf Großfeld (Ph.D.), Minitüb GmbH

Besamungsstationen haben ein hohes Interesse daran, die Nutzung von Ebern mit hohem Zuchtwert zu maximieren und von jedem Eberejakulat so viele Samentuben wie möglich zu produzieren. Damit alle Tuben die gleiche Menge an Sperma enthalten, ist eine akkurate und präzise Samenkonzentrationsmessung Grundvoraussetzung; insbesondere da die Stationen versuchen die Anzahl der Samenzellen je Tube zu reduzieren<sup>1</sup>.

Die Validierung von Messsystemen kann durch den Vergleich mit einer anerkannten Referenzmethode durchgeführt werden. Als Referenzmethode für die Samenkonzentrationsmessung wird z.B. der NucleoCounter (SP-100) von der NAAB (National Association of Animal Breeders)<sup>2</sup> und dem Danish National Committee für Pig Production<sup>3</sup> empfohlen. Wegen der hohen Verbrauchsmittelkosten wird der NucleoCounter (NC) nur sehr wenig in der täglichen Produktion genutzt, obwohl er als Referenzmethode für die Qualitätskontrolle der Spermienmenge pro Tube dient.

Minitüb's AndroVision® CASA-System wurde in der Samenkonzentrationsmessung intensiv gegen den NC getestet, um eine hohe Korrektheit und Präzision der AndroVision®-Messungen sicherzustellen. Mit AndroVision® kann auf eine wirtschaftlichere Alternative zum NC zurückgegriffen werden, ohne Kompromisse in der Präzision der Konzentrationsmessung eingehen zu müssen. Zusätzlich werden nützliche Funktionen geboten, wie die Motilitätsmessung.

Grafik 1 zeigt das Ergebnis einer Testreihe, in der 220 Eberejakulate sowohl mit dem NucleoCounter als auch mit AndroVision® hinsichtlich ihrer Samenkonzentration bewertet wurden.



Grafik 1: Samenkonzentrationsmessungen von nativen Eberejakulaten mit AndroVision® und NucleoCounter(n=220)

Jeder Punkt in dieser Grafik repräsentiert eine Messung. Die rote Linie entspricht der 45°-Linie oder besser, der Linie der perfekten Übereinstimmung. Messungen bzw. Punkte, die sehr nahe oder direkt auf dieser Linie liegen, zeigen denselben Messwert in AndroVision® und dem NucleoCounter (Referenzmethode).

Ein Indikator für die Übereinstimmung (Konkordanz) von Messungen ist also die Nähe der Messwerte zur roten Linie. Wie aus der Grafik zu entnehmen ist, liegen fast alle Messwerte nahe der roten Linie. Dies zeigt eine hohe Übereinstimmung zwischen AndroVision® und NucleoCounter. Einige Ausreißer sind erkennbar. Diese Ausreißer entstehen üblicherweise durch außerordentliche Pipettier- oder Probenaufbereitungsfehler, die bei beiden Messmethoden auftreten können. Ausreißer sind üblich, wichtig ist die Tatsache, dass der Großteil der Messwerte nahe der Ideallinie liegt.

Die visuelle Beurteilung der Übereinstimmung der Messmethoden in einer Grafik ist einfach, aber subjektiv. Zusätzlich sollten daher Koeffizienten zur mathematischen Beschreibung der Übereinstimmung in einer Zahl berechnet werden.

Ein Koeffizient, der diesen Zweck erfüllt, ist der Konkordanz-Korrelations-Koeffizient (Concordance Correlation Coefficient, CCC)<sup>4</sup>. Der CCC für die obige Messreihe beträgt 0,9164. Je näher dieser Wert bei 1 liegt, desto höher ist die Übereinstimmung zwischen zwei Messmethoden. In der Statistikk-literatur wird ein Koeffizient von 0,9164 als „nahezu vollständige“ Übereinstimmung beschrieben<sup>5</sup>. Ein weiterer häufig genutzter und mit dem CCC nahezu identischer Koeffizient ist der Intra-Klassen-Korrelations-Koeffizient (Intra-class correlation coefficient, ICC)<sup>6</sup>, der in diesem Fall 0,917 beträgt.

Zu beachten gilt, dass das Bestimmtheitsmaß ( $r^2$ ) NICHT geeignet ist, um die Übereinstimmung von zwei Messmethoden zu beurteilen. Das Bestimmtheitsmaß  $r^2$  beschreibt nur, ob zwei Messmethoden einem linearen Zusammenhang unterliegen, was eigentlich zu erwarten wäre, wenn zwei Methoden das Gleiche messen. Das Bestimmtheitsmaß  $r^2$  ist anfällig gegenüber der Tatsache, dass ein linearer Zusammenhang durchaus von der Linie der perfekten Übereinstimmung (45°-Linie, siehe oben) abweichen kann. Das kann im Falle einer systematischen Abweichung bei einer Methode auftreten, z.B. durch Fehler in einer internen Berechnungsformel, einer falsch kalibrierten Pipette o.ä. Der CCC und der ICC berücksichtigen solche Abweichungen zusätzlich zum linearen Zusammenhang<sup>7</sup> von zwei Messmethoden.

Zusammenfassend stimmt die Samenkonzentrationsmessung von Ebersamen mit AndroVision® in einem hohem Grad mit einer Referenzmethode überein und ist zuverlässig. Aus statistischer Sicht ist die Übereinstimmung nahezu vollständig. Daher ist die Samenkonzentrationsmessung mit AndroVision® eine valide Methode, um die Anzahl von Spermien in Eberjakulaten zu bestimmen. Sie bietet darüber hinaus einige zusätzliche Vorteile, da AndroVision® noch weitere wesentliche Informationen über eine Samenprobe liefert.

## Literaturverzeichnis

1. Hansen, C. et al. Comparison of FACSCount AF system, Improved Neubauer hemocytometer, Corning 254 photometer, SpermVision, UltiMate and NucleoCounter SP-100 for determination of sperm concentration of boar semen. *Theriogenology* 66, 2188–2194 (2006).
2. Brito, Leonardo F.C. Beckmann, B. et al. NAAB-CSS semen quality control program minimum guidelines. in NAAB Technical Conference on Artificial Insemination and Reproduction 37–41 (2012).
3. 'Danish Agriculture & Food Council'. Danish Agriculture & Food Council. National committee for pig production guidelines for AI stations: Semen Preservation and Health Control. (2005).
4. Lin, L. I. A concordance correlation coefficient to evaluate reproducibility. *Biometrics* 45, 255–68 (1989).
5. Koch, R. & Spörl, E. Statistische Verfahren zum Vergleich zweier Messmethoden und zur Kalibrierung: Konkordanz-, Korrelations- und Regressionsanalyse am Beispiel der Augenninnendruckmessung. *Klin. Monbl. Augenheilkd.* 224, 52–57 (2007).
6. Bartko, J. J. The Intraclass Correlation Coefficient as a Measure of Reliability. *Psychol. Rep.* 19, 3–11 (1966).
7. Watson, P. F. & Petrie, A. Method agreement analysis: A review of correct methodology. *Theriogenology* 73, 1167–1179 (2010).