



Instructions for use / Notice

Actifish

Please read carefully these instructions before using this product. They contain important information for the processing of fish semen.

DESCRIPTION OF THE PRODUCT

Actifish is a concentrated isotonic solution that activates spermatozoa and improves milt fertility.

Composition

Contains ultra-pure water, activation agent, salts, gentamycin

Antibiotic

Yes, 0.05 g/l in the concentrated solution

Technical characteristics

Concentrated (10X) solution for activation of fish spermatozoa to be prepared as indicated. Manufactured by the ISO 9001:2008- certified laboratories of IMV Technologies.

Expiration

24 months from date of manufacture (manufacturing batch No. and date indicated on the label).

Sterilization

No

Color

Transparent

USES OF ACTIFISH:

1) Activation

In some fish, spermatozoa remains static in the seminal liquid. It can represent approximately 80% of the milt volume. Milt becomes mobile in the presence of Actifish. Actifish has been developed by the **French Institute of Agronomic Research (INRA)** in collaboration with the **French Syndicate of Breeders in Aquaculture (SYSAAF)** and IMV Technologies to provide hatcheries standard and optimized procedures for fish fertility (1997).

Based on the studies of Billard et al. (1977, INRA, France), Actifish significantly improves eyed eggs rate in rainbow trout (Haffray et al., 2008) and Atlantic salmon (unpublished data).

2) Improvement

Milt with low concentration or low motility gives lower fertility rates in salmonids hatchery. This low quality of the milt can come from:

- The fish
 - Due to gonad maturity collected too early or too late
 - Due to sexual inversion (sex-reversed males/neomales)
 - Due to low fertility performance of a genetic strain
 - Due to sub-optimal diet during maturation
- The milt
 - Conserved for several hours/days
 - Cryopreserved

3) Standardization

The quality of the activation solution will impact the fertilization rate and the eyed-eggs rate. It is therefore important to use a standard and controlled solution, independent of water quality.

Actifish

INSTRUCTIONS FOR USE

Preparation of Actifish

- Before use, the Actifish bottle has to be diluted in distilled water, demineralized, de-ionized water or equivalent quality.
- **Do not use mineral water, circuit water or tap water.**
- **The water does not have to be sterile.**
- **Do not use the concentrated solution without diluting.**
- Dilution ratios

	Salmonids	Marine Fish	Cyprinidae	Siluridae
Examples	<i>Salmo salar</i> <i>Oncorhynchus kisutch</i> <i>Salmo trutta</i> <i>Oncorhynchus mykiss</i> <i>Oncorhynchus tshawytscha</i> <i>Salvelinus alpinus</i> <i>Salvelinus fontinalis</i> Other salmonids...	<i>Dicentrarchus labrax</i> <i>Sparus aurata</i> <i>Argyrosomus regius</i> <i>Lates calcarifer</i> Other marine fish...	<i>Carassius carassius</i> <i>Cyprinus carpio</i> <i>Labeo rohita</i> <i>Hypophthalmichthys molitrix</i> Other Cyprinidae...	<i>Silurus</i> Other...
Concentrated Actifish	1 vol	1 vol	1 vol	1 vol
Distilled Water	9 vol	3 vol	29 vol	29 vol
Total	10 vol	4 vol	30 vol	30 vol

- After preparation, the solution can be stored for 1 week at 4°C.

Ovocytes preparation

- After stripping of the ovocytes from the female, rinse them with Ovafish (Ref. 026950). See Ovafish instructions for detailed protocol.
- Place the ovocytes in a dry and clean bucket.

Milt preparation

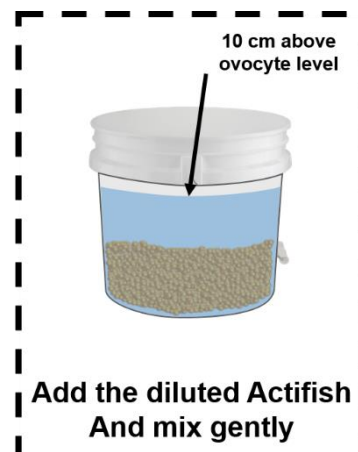
- When the volume of milt is small, it is advised to first **dilute milt with Storfish** (Ref. 018500) to maximize the chances of spermatozoa to reach the ovocytes. See Storfish instructions for detailed protocol.
- If the milt is not stripped but collected from gonad dissection, it needs to **first be matured in Storfish** (Ref. 018500). See Storfish instructions for detailed protocol.

Fertilization

- Place the ovocytes in a dry and clean bucket.
- Add diluted milt to reach a ratio of 0.5-2 Million spermatozoa / ovocyte.
- Mix gently with the hand during 10 s to homogeneously distribute the spermatozoa in the entire bucket.

⚠ Use non-spermicide gloves to mix. Some plastic can release powder or toxic compounds dangerous for the cells. We recommend the Copolymer soft-touch glove (Ref. 024183).

- Add diluted Actifish 10 cm (about 10 fingers width) above the ovocyte level.





Instructions for use / Notice

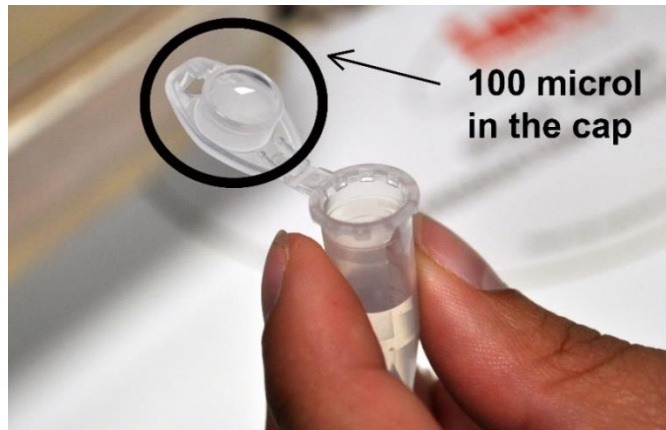
Actifish

⚠ Avoid temperature shock: the Actifish must be approximately as the same temperature as the ovocytes ($\pm 5^{\circ}\text{C}$).

- Mix gently during 30 s.
- Wait for 2 minutes
- Remove the Actifish : **remove Actifish surplus**
- Disinfect the eggs if necessary and incubate

Sperm motility estimate

- Actifish is also adapted to standardize sperm quality estimates. The full protocol of fish milt quality control is available with IMV CASA system (Computer-Assisted-Sperm-Analysis, IVOS II, Ref.24911 and CEROS II, Ref.24905).
- Predilute the semen with Storfish in order to reach a concentration of approximately 200 Million spermatozoid / ml.
- Fill an Eppendorf tube with 1 ml of diluted Actifish. A few seconds before the analysis **for 100 μl** of prediluted semen in the Eppendorf cap



- Prepare the pipette to load 2.7 μl in Leja chamber (20 μm depth, Ref. 025107)
- Close the cap mix semen and diluted Actifish.
- Take the 2.7 μl of activated semen and rapidly load the chamber under the microscope and start acquisition after stabilization of the sample drift

STORAGE

- Do not use in case of visible deterioration of the packaging or the product, such as particles floating or color change.
- Store at temperatures between $+2^{\circ}\text{C}$ and $+8^{\circ}\text{C}$. Keep in a cool, dry, dark place. Avoid sunlight.
- Do not use after freezing.
- Do not use after the expiration date.
- Do not store close to foodstuff, drinks or animal feed. Do not ingest or inhale. In case of accidental projection on skin or eyes, rinse profusely with water. Consult a doctor in case of problem.

TRANSPORT

- Can be transported between 4°C and 35°C .

PRESENTATION

Description	Packaging	Reference
Actifish	Box of 10 x 1 bottle 1L of concentrated solution	018274

Lire attentivement cette notice avant l'utilisation du produit. Elle contient des informations importantes sur la manipulation de la semence

Document non contractuel – non contractual document



Instructions for use / Notice

Actifish

IDENTIFICATION DU PRODUIT

Actifish est une solution concentrée isotonique qui active les spermatozoïdes et améliore la fertilité de la semence de poissons.

Composition

Contient de l'eau ultra-pure, un agent d'activation, des sels, de la gentamycine

Antibiotique

Oui, 0.05 g/l dans la solution concentrée

Caractéristiques techniques

Solution concentrée (10X) pour l'activation de spermatozoïdes de poisson qui doit être préparée comme indiquée. Fabriqué selon les Bonnes Pratiques de Fabrication par le laboratoire d'IMV Technologies répondant aux normes d'assurance qualité ISO 9001 :2008.

Péremption

24 mois à partir de la date de fabrication (N° de lot et date de péremption mentionnés sur l'étiquette).

Stérilisation

Non

Coloration

Transparent

UTILISATION DE L'ACTIFISH

1) Activation

Les spermatozoïdes de certains poissons restent statiques dans le fluide séminal. Ceux-ci peuvent représenter jusqu'à 80% des spermatozoïdes extraits des gonades. Ils deviennent mobiles en présence d'Actifish. L'Actifish a été développé par l'**Institut National de la Recherche Agronomique Française** (INRA) en collaboration avec le **Syndicat de Sélectionneurs Avicoles et Aquacoles Français (SYSAAF)** et IMV Technologies afin de fournir aux écloseries des procédures standardisées pour l'amélioration de la fertilité des poissons (1997).

Basé sur l'amélioration des travaux de Billard et al. (1977, INRA), l'Actifish améliore le taux d'oeillés chez la truite arc-en-ciel (Haffray et al., 2008) et le saumon atlantique (données non publiées):

2) Optimisation

Une semence présentant une faible concentration (spermatocrite) ou une faible motilité donne des taux de fertilité faible en éclosion de salmonidés. Cette faible qualité peut provenir:

- Du mâle
 - En raison d'une collecte de la semence trop précoce ou trop tardive
 - En raison d'une inversion sexuelle (mâle inversé/néomales)
 - En raison de la faible fertilité d'une lignée génétique
 - En raison d'une alimentation sub-obtimale durant la maturation
- De la semence
 - Conservée dans Durant plusieurs jours/heures
 - Cryopréservée

3) Standardisation

La qualité de la solution utilisée pour la fertilisation va impacter le taux de fertilité et le taux d'oeillé. Il est donc important d'utiliser une solution de qualité standard et contrôlée qui ne soit pas dépendante de la qualité de l'eau.

Actifish

MODE D'EMPLOI:

Préparation de l'Actifish

- Avant utilisation, l'Actifish concentré doit être dilué dans de l'eau distillée, déminéralisée ou déionisée.
- **Ne pas utiliser de l'eau minérale, de l'eau du circuit d'élevage ou de l'eau du robinet.**
- **Ne pas utiliser l'Actifish concentré non dilué.**
- **Il n'est pas nécessaire d'utiliser de l'eau stérile.**
- Les ratios de dilution sont:

	Salmonidés	Poissons marins	Cyprinidés	Siluridés
Exemples	<i>Salmo salar</i> <i>Oncorhynchus kisutch</i> <i>Salmo trutta</i> <i>Oncorhynchus mykiss</i> <i>Oncorhynchus tshawytscha</i> <i>Salvelinus alpinus</i> <i>Salvelinus fontinalis</i> Autres salmonidés...	<i>Dicentrarchus labrax</i> <i>Sparus aurata</i> <i>Argyrosomus regius</i> <i>Lates calcarifer</i> Autres poissons marins...	<i>Carassius carassius</i> <i>Cyprinus carpio</i> <i>Labeo rohita</i> <i>Hypophthalmichthys molitrix</i> Autres Cyprinidés...	<i>Silurus</i> Autres...
Actifish concentré	1 vol	1 vol	1 vol	1 vol
Eau distillée	9 vol	3 vol	29 vol	29 vol
Total	10 vol	4 vol	30 vol	30 vol

- Après préparation, la solution peut être conservée une semaine à 4°C

Préparation des ovocytes

- Après le stripping des ovocytes, les rincer avec de l'Ovafish (Ref. 026950). Voir les Instructions de l'Ovafish pour un protocole détaillé.
- Placer les ovocytes dans un seau propre et sec.

Préparation de la semence

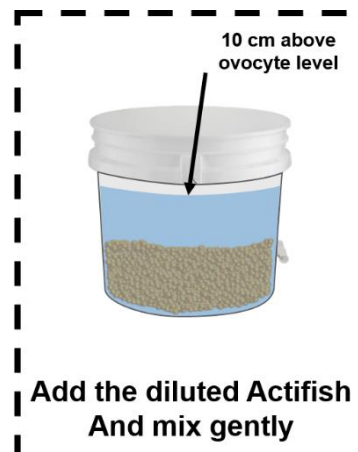
- Lorsque le volume de semence est faible, il est recommandé de la diluer d'abord dans le Storfish (Ref. 018500) afin d'optimiser les chances de rencontre entre les spermatozoïdes et les ovocytes. Voir les Instructions du Storfish pour un protocole détaillé.
- Si la semence n'est pas obtenue par stripping mais par dissection des gonades, elle doit être mature dans du **Storfish** (Ref. 018500). Voir les Instructions du Storfish pour un protocole détaillé.

Fertilisation

- Placer les ovocytes dans un seau propre et sec.
- Ajouter la semence diluée pour atteindre un ratio de 0,5-2 Million de spermatozoïdes / ovocyte.
- Mélanger doucement à la main pendant 10 s afin de distribuer les spermatozoïdes dans le seau de façon homogène.

⚠ Lors du mélange, utiliser un gant dont le matériau n'est pas spermicide. Certains plastiques ou latex peuvent relarguer de la poudre ou des composés dangereux pour les cellules dans le milieu. IMV recommande l'utilisation du gant copolymère-extra sensitif (Ref. **024183**).

- Ajouter l'Actifish jusqu'à ce qu'il dépasse le niveau des ovocytes de 10 cm (environ 10 doigts)





Instructions for use / Notice

Actifish

⚠ Eviter les chocs de température: l'Actifish doit être approximativement à la même température que les ovocytes ($\pm 5^{\circ}\text{C}$)

- Mélanger doucement à la main pendant 30 s

⚠ Lors du mélange, utiliser un gant dont le matériau n'est pas spermicides. Certains plastiques ou latex peuvent relarguer de la poudre ou des composés dangereux pour les cellules dans le milieu. IMV recommande l'utilisation du gant copolymère-extra sensible (Ref. **024183**).

- Attendre 2 minutes
- Enlever l'Actifish = **enlever le surplus de l'Actifish**
- Désinfecter si nécessaire et incuber

Analyse de motilité des spermatozoïdes

- L'Actifish permet de standardiser les analyses de qualité de semence. Le protocole complet est disponible avec le dispositif IMV CASA (Computer-Assisted-Sperm-Analysis, IVOS, Ref.24911 et CEROS, Ref.24905).
- Pré-diluer la semence dans du Storfish afin d'atteindre une concentration proche 200 Millions de spermatozoïdes / ml.
- Verser dans un tube Eppendorf 1 ml d'Actifish dilué. Quelques secondes avant l'analyse, verser 100 μl de semence pré-diluée dans le bouchon de l'Eppendorf.



- Préparer la pipette pour charger 2.7 μl dans une chambre de lame Leja (20 μm depth, Ref. 025107)
- Fermer le bouchon du tube pour mélanger la semence et l'Actifish dilué.
- Pipeter 2.7 μl de semence activé et la charger rapidement dans la chambre sous le microscope. Commencer l'acquisition des données dès la stabilisation du courant dans l'échantillon.

STOCKAGE

- Ne pas utiliser en cas de détérioration visible de l'emballage ou du produit, telles que des particules flottantes ou en cas de changement de couleur du produit.
- Stocker à une température comprise entre +2 $^{\circ}\text{C}$ et +8 $^{\circ}\text{C}$. Maintenir le produit dans un endroit frais, sec et à l'abri de la lumière directe.
- Ne pas utiliser après congélation.
- Ne pas utiliser après la date de péremption.
- Ne pas stocker à proximité de denrées alimentaires, les boissons ou les aliments pour animaux.
- Ne pas ingérer ou inhaler. En cas de projection accidentelle sur la peau ou les yeux, rincer abondamment avec de l'eau. Consulter un médecin en cas de problème.

TRANSPORT

- Peut être transporté entre 4 $^{\circ}\text{C}$ et 35 $^{\circ}\text{C}$.

PRESENTATION

Description	Packaging	Reference
Actifish	Carton de 10x 1 bouteille 1L de solution concentrée	018274

Document non contractuel – non contractual document