

SpermMar Test IgA

Qualitativer Test zur Bestimmung von Spermaantikörpern der IgA-Klasse

Dok.Referenz: FP09 I01 R01 E.5
Ausgabe: 30.08.2018

Aufbewahrungsmittel: Natriumazid 0,09 %
Zwischen 2 °C und 8 °C lagern - Nicht einfrieren
Nur für die diagnostische in-vitro-Anwendung.
Reagenz nur für den professionellen Gebrauch vorgesehen.

ANWENDUNGSZWECK

Der SpermMar Test IgA ist ein diagnostisches Kit für die Detektion von Antisperma-Antikörpern der IgA-Klasse in humanem Sperma. Das Vorhandensein von Antisperma-Antikörpern kann mit Spermafunktion, Zona-Bindung und der Akrosomreaktion interferieren.

ALLGEMEINE INFORMATIONEN

Das Vorhandensein von Spermaantikörpern, die mit Antigenen in den Spermatozoen reagieren, wird als typisch und spezifisch für immunologische Infertilität angesehen (1,3,22,24). Diese Antikörper sind bei etwa 8 % der infertilen Männer anzutreffen (13).

Antisperma-Antikörper gehören zu verschiedenen immunologischen Klassen, aber nur die Klassen IgA und IgG sind klinisch relevant (18). Diese Klassen zeigen zytotoxische Effekte und werden mit dem SpermMar IgG Test in Spermatozoen oder im Serum adäquat detektiert. An Komplement C3 der IgA-Klasse gebundene Antisperma-Antikörper, die vor allem agglutinierende Eigenschaften haben (14), kommen selten ohne Antikörper der IgG-Klasse vor (6), spielen im Hinblick auf männliche Infertilität aber wahrscheinlich eine wichtigere Rolle. Tatsächlich haben Patienten, bei denen Spermaantikörper der IgA-Klasse kombiniert mit Spermaantikörpern der IgG-Klasse auftreten, oder Patienten mit lediglich IgA-Antikörpern sehr wenig Chancen darauf, dass ihre Partnerin auf natürliche Weise schwanger wird (6,20). Das bedeutet, dass die Detektion von Antikörpern der IgA-Klasse sowohl im Hinblick auf die Diagnose als auch auf die Prognose sehr wichtig ist (21).

Die Mehrheit der IgA-Antisperma-Antikörper wird durch die akzessorischen Geschlechtsdrüsen ausgeschieden (23). Sie sind in den Spermatozoen und manchmal im Seminalplasma vorhanden, im Serum jedoch meistens nicht. Darum wird von der Bestimmung von IgA-Antikörpern im Serum abgeraten (18). Es kann erwogen werden, bei niedriger Spermakonzentration oder geringer Motilität nach IgA-Antikörpern im Seminalplasma zu suchen, obwohl die mögliche klinische Bedeutung dieser Antikörper zweifelhaft ist.

Der direkte SpermMar Test IgA ist ein Test zur Detektion von Antikörpern, die die Spermatozoen bedecken. Er wird an frischem Sperma oder Spermatozoen durchgeführt, das bzw. die vom Seminalplasma durch einen Suspensionszyklus, Zentrifugation und Resuspension im Medium isoliert wurde bzw. wurden. Diese Spermatozoen werden mit den Beads gemischt, die mit antihumanem Anti-IgA beschichtet sind. Die Bildung gemischter Agglutinate motiler Spermatozoen mit Beads deutet auf Vorhandensein von IgA-Antisperma-Antikörpern auf den Spermatozoen hin (1,5,9,10,17).

PRODUKTBESTELLCODES

SPMA_S SpermMar Test IgA Einmalkit – 50 Tests
SPMA_C SpermMar Test IgA Komplettkit – 50 Tests

IM TEST ENTHALTENES MATERIAL

- » 1 Flasche mit 0,7 ml SpermMar IgA Beads
- » Objektträger 76 x 26 mm*
- » Deckgläser 24 x 40 mm*
- » Mikropipetten, kalibriert auf 10 Mikroliter*
- » Gummibirne*

*nur im Komplettkit enthalten

Das Analysenzertifikat und MSDS (Material Safety Data Sheet) ist auf Anfrage erhältlich oder kann auf unserer Website heruntergeladen werden (www.fertipro.com).

NICHT IM TEST ENTHALTENES MATERIAL

- » Lichtmikroskop (mit 400- bis 600facher Vergrößerung, Hellfeld, Dunkelfeld oder Phasenkontrast)
- » Nicht spermizides Kondom

GEBRAUCHSANWEISUNG



Wir empfehlen unser Demonstrationsvideo (Download über den Link auf der Website oder Barcode scannen).

SAMMLUNG UND VORBEREITUNG VON PROBEN

Spermasammlung vorzugsweise durch Masturbation. Falls aufgrund bestimmter Umstände von der Spermasammlung durch Masturbation abgeraten wird, können spezifische Kunststoffkondome von FertiPro zur Spermasammlung verwendet werden. Normale Kondome sollten nicht zur Spermasammlung verwendet werden, da diese mit Motilität und Lebensfähigkeit der Spermatozoen interferieren könnten. Unter idealen Bedingungen wird Sperma innerhalb der auf die Ejakulation folgenden Stunde untersucht.

VORBEREITUNG DES REAGENZ

Die SpermMar IgA Latexpartikel sind gebrauchsfertig. Dennoch müssen sie vor der Anwendung sorgfältig gemischt werden, um eine homogene Suspension zu erhalten.

DIREKTE SPERMAR TEST IGA FÜR DIE DETEKTION VON ANTISPERMA-ANTIKÖRPERN DER IGG-KLASSE AUF HUMANEN SPERMATOZOEN

1. Warten Sie, bis sich Reagenzien und Probe an die Raumtemperatur angepasst haben.
2. Auf einen Objektträger platzieren:
 - 10 Mikroliter frisches Sperma
 - 10 Mikroliter SpermMar Test IgA LatexpartikelDies kann mit Hilfe der 10 Mikroliter-Kapillarpipetten erfolgen, falls diese im Kit enthalten sind.
Hinweis: Zur Verwendung der Mikropipetten führen Sie das Ende der Pipette, das mit einer dicken schwarzen Linie markiert ist, in die Gummibirne ein (etwa 5 mm). Warten Sie, bis die Pipette sich durch Kapillarkraft bis zur ersten Markierung gefüllt hat (10 Mikroliter). Ziehen Sie keine Flüssigkeit in die Birne. Legen Sie die Fingerspitze über die Spitze der Birne. Halten Sie die Birne zwischen Daumen und Mittelfinger. Kneifen Sie vorsichtig in die Birne, um Flüssigkeit aus der Pipette zu drücken.
3. Mischen Sie die Probe und das Latexpartikel 5 Mal mit dem Rand eines Deckglases.
4. Das Deckglas wird auf die Mischung platziert und das Gemisch unter einem Lichtmikroskop bei 400- bis 600facher Vergrößerung evaluiert. Die Verwendung von Phasenkontrast oder Dunkelfeldbeleuchtung kann das Ablesen des Objektträgers vereinfachen.
5. Lesen Sie die Ergebnisse nach 3 Minuten ab. Suchen Sie nach an motilen Spermatozoen anhaftenden Latexpartikeln. Zählen Sie 100 Spermazellen aus, um den Prozentsatz an reaktivem Sperma zu ermitteln. Nach 10 Minuten erneut ablesen.
Hinweis: Lagern Sie das Präparat in einer Dampfkammer (z.B. Petrischale, die ein befeuchtetes Stück Filterpapier enthält).
6. Die Diagnose immunologische Infertilität wird vermutet, wenn 10-39 % der motilen Spermatozoen an Latexpartikeln anhaften; wenn 40 % oder mehr Spermatozoen anhaften, ist immunologische Infertilität sehr wahrscheinlich.

INTERPRETATION DER ERGEBNISSE

Bei korrekter Durchführung des Tests wird das Nichtvorhandensein von Antisperma-Antikörpern durch sich frei bewegende Spermatozoen, die nicht mit Latexpartikeln bedeckt sind, angezeigt. Die Latexpartikel können untereinander agglutinieren, meist ist dies jedoch nicht der Fall. Bei Vorhandensein von Antisperma-Antikörpern reagieren die Spermatozoen mit den Partikeln. Zunächst ein und später mehrere Partikel haften sich an alle oder einen Teil der motilen Spermatozoen. Der Prozentsatz an motilen Spermatozoen, die diese gemischte Agglutination zeigen, steht in direktem Zusammenhang mit der Schwere der immunologischen Reaktion.

Im Allgemeinen ist der Anteil der motilen Spermatozoen, die beim SpermMar Test IgA reagieren, kleiner als beim SpermMar Test IgG. Gelegentlich kann jedoch auch das Gegenteil der Fall sein (12). In seltenen Fällen tritt eine positive Reaktion beim SpermMar Test IgA bei Nichtvorhandensein einer Reaktion beim SpermMar Test IgG auf. Dies weist auf das Vorhandensein sekretorischer Antikörper der IgA-Klasse ohne Antikörper der IgG-Klasse hin. Eine gemischte Agglutinationsreaktion von 40 % oder mehr im Sperma deutet auf eine positive Reaktion beim SpermMar Test IgA hin.

EINSCHRÄNKUNGEN DER METHODE

Der direkte SpermMar Test IgA kann nur bei Vorhandensein von motilen Spermatozoen in der Spermprobe durchgeführt werden. Proben mit sehr niedriger Spermakonzentration oder geringer Motilität können häufig zu falsch negativen Ergebnissen führen.

LEISTUNGSMERKMALE

Einige hundert Spermproben wurden mit der direkten gemischten Antiglobulinreaktion und dem direkten SpermMar Test auf IgG getestet. Die Ergebnisse waren in 97 % der Fälle vergleichbar. In 3 % der Fälle detektierte der SpermMar Test Antikörper, während der gemischte Antiglobulinreaktionstest, der rote Blutkörperchen verwendet, negativ war. In solchen Fällen war der Prozentsatz der Spermatozoen, die beim SpermMar Test reagieren, normalerweise gering (14). Die Ergebnisse des SpermMar Test IgA wurden durch Vergleich mit Immunofluoreszenz und Nephelometrie zweifelsfrei nachgewiesen.

LAGERUNG DES REAGENZ

Bei korrekter Lagerung ist das SpermMar Test IgA-Reagenz 12 Monate ab Produktionsdatum stabil. Das SpermMar Test IgA-Reagenz muss bei Nichtanwendung zwischen 2 °C und 8 °C gelagert werden. DAS REAGENZ NICHT EINFRIEREN. Geeignet für Transport oder kurzzeitige Lagerung bei erhöhten Temperaturen (bis zu 5 Tage bei 37 °C).

WARNHINWEISE UND VORSORGE MAßNAHMEN

Alle Proben sind als potentielle Überträger von HIV oder Hepatitis zu behandeln. Beim Umgang mit Proben immer Schutzkleidung tragen. SpermMar Test IgA enthält 0,1 % Bovines Serumalbumin mit US-Herkunft.

BIBLIOGRAPHIE

1. BOETTCHER B., HJORT T., RUMKE Ph., SHULMAN S. et VYAZOV O.E. (eds.). Auto and iso-antibodies to antigens of the human reproductive system. 1. Results of an international comparative study of antibodies to spermatozoa and other antigens detected in sera from infertile patients deposited in the WHO Reference bank for reproductive immunology. *Acta Pathol Microbiol Scand*, 1977, vol. 258 (suppl.), p. 1-69.
2. COMHAIRE F.H. et KUNNEN M. Factors affecting the probability of conception after treatment of subfertile men with varicocele by transcatheter embolisation with Bucrylate. *Fertil Steril*, 1985, vol. 43, p. 781-786.
3. FRIBERG J. Immunoglobulin concentration in serum and seminal fluid from men with and

- without sperm-agglutinating antibodies. *Obstet. Gynecol.*, 1980, vol. 136, p. 671-675.
4. GOLOMB J., VARDINON H., HOMONNAI Z.T., BRAF Z. et YUST I. Demonstration of antispermatozoal antibodies in varicocele-related infertility with an enzymelinked Immunosorbent assay (ELISA). *Fertil Steril*, 1986, vol. 45, p. 397-402.
 5. JAGER S., KREMER J. et VAN SLOCHTEREN-DRAAISMA T. A simple method of screening for sperm antibodies in the human male. Detection of spermatozoal surface IgG with the direct mixed antiglobulin reaction carried out on untreated fresh human semen. *Int. J. Fertil.*, 1978, vol. 23, p. 12-21.
 6. JAGER S., KREMER J., KUIKEN J. et VAN SLOCHTEREN-DRAAISMA T. Immunoglobulin class of antispermatozoal antibodies from infertile men and inhibition of in vitro sperm penetration into cervical mucus, *IntJ. Androl.*, 1980, vol. 3, p. 1-14.
 7. RUMKE P. The origin of immunoglobulins in semen. *Clin. Exp. Immunol.*, 1976, vol. 17, p. 287-297.
 8. SHULMAN J.F. et SHULMAN S. Methylprednisolone treatment of immunologic infertility in the male. *Fertil Steril*, 1982, vol. 38, p. 591-599.
 9. STEDRONSKA J. et HENDRY W.F. The value of the mixed antiglobulin reaction (MAR-Test) as an addition to routine seminal analysis in the evaluation of the subfertile couple. *Am. J. Reprod. Immunol.*, 1983, vol. 3, p. 89-91.
 10. VERMEULEN L. et COMHAIRE F.H. Le test <MAR> aux particules de Latex, et le test spermatoxique selon Suominen : simplification et nouveauté dans l'arsenal du diagnostic immunologique. *Contraception, Fertilité, Sexualité*, 1983, vol. 11 (suppl.), p. 381-384.
 11. W.H.O. 1984 : Workshop on the standardized investigation of the infertile couple, moderator P. Rowe, coordinator M. Darling. *Fertil Steril* (eds) R.F. HARRISON, J. BONNAR et W. THOMPSON. Publ. M.T.P.-Press Ltd. (Lancaster, Boston, La Haye, Dordrecht), 1984, p. 427-431.
 12. W.H.O. Laboratory manual for semen analysis and sperm cervical mucus interaction. Publ. Cambridge University Press, 2010.
Deutsch: WHO Handbuch zur Untersuchung und Aufarbeitung des menschlichen Ejakulats. 5. Auflage, Springer Verlag, 2012
 13. WORLD HEALTH ORGANISATION. Towards more objectivity in diagnosis and management of male infertility. *Int J Androl*, 1987, Suppl 7.
 14. KREMER J. et JAGER S. The significance of antisperm antibodies for sperm-cervical mucus interaction. *Hum. Reprod.*, 1992, vol. 7, p. 781-784.
 15. KAY D.J. et BOETTCHER B. Comparison of the SpermMar test with currently accepted procedures for detecting human sperm antibodies. *Reprod. Fer. Dev.*, 1992, vol. 4, p. 175-181.
 16. ACKERMAN S., Mc GUIRE G., FULGHAM D.L. et ALEXANDER N. An evaluation of a commercially available assay for the detection of antisperm antibodies. *Fertil Steril*, 1988, vol. 49, p. 732-734.
 17. BRONSON R., COOPER G et ROSENFELD D. Sperm antibodies: their role in infertility. *Fertil Steril*, 1984, vol. 42, p. 171-183.
 18. CLARKE GN, STOJANOFF A, CAUCHI MN et JOHNSTON WIH. The immunoglobulin class of antispermatozoal antibodies in serum. *Am J Reprod Immunol Microbiol*, 1985, vol. 7, p. 143-147.
 19. HINTING A, VERMEULEN L et COMHAIRE F. The indirect mixed antiglobulin reaction test using a commercially available kit for the detection of antisperm antibodies in serum. *Fertil Steril*, 1988, vol. 49, p. 1039-1044.
 20. MEINERTZ H et HJORT T. Detection of autoimmunity to sperm: mixed antiglobulin reaction (MAR) test or sperm agglutination? A

- study on 537 men from infertile couples. *Fertil Steril*, 1986, vol. 46, p. 86-91.
21. PARSLow JM, POULTON TA, BESSER GM et HENDRY WF. The clinical relevance of classes of immunoglobulins on spermatozoa from infertile and vasectomized males. *Fertil Steril*, 1985, vol. 43, 621.
 22. RUMKE P et HELLINGA. Autoantibodies against spermatozoa in sterile men. *Am J Clin Pathol*, 1959, vol. 32, p. 357-363.
 23. UELING DT. Secretory IgA in seminal fluid. *Fertil Steril*, 1971, vol. 22, p. 769-773.
 24. WILSON L. Sperm agglutinins in human semen and blood. *Proc Soc Exp Biol Med*, 1954, vol. 85, p. 652-655.

TECHNISCHE UNTERSTÜTZUNG



FertiPro N.V.
Industriepark Noord 32, 8730 Beernem, Belgien
Tel. +32 (0)50 79 18 05
Fax +32 (0)50 79 17 99
URL: www.fertipro.com
E-Mail : info@fertipro.com



SpermMar Test IgG

Qualitativer Latextest zur Bestimmung von Spermaantikörpern.

Dok.Referenz: FP09 I01 R01 E.5
Ausgabe: 30.08.2018

Aufbewahrungsmittel: Natriumazid 0,09 %.
Zwischen 2 °C und 8 °C lagern - Nicht einfrieren
Nur für die diagnostische in-vitro-Anwendung.
Reagenz nur für den professionellen Gebrauch vorgesehen.

ANWENDUNGSZWECK

Der SpermMar Test IgG ist ein diagnostisches Kit für die Detektion von Antisperma-Antikörpern der IgG-Klasse in humanem Sperma oder Serum. Der direkte SpermMar Test IgG kann an unbehandeltem humanem Sperma durchgeführt werden, unter der Voraussetzung, dass dieses motile Spermatozoen enthält. Der indirekte SpermMar Test IgG kann am Serum angewendet werden. Das Vorhandensein von Antisperma-Antikörpern kann mit Spermafunktion, Zona-Bindung und der Akrosomreaktion interferieren.

ALLGEMEINE INFORMATIONEN

Das Vorhandensein von Spermaantikörpern, die mit Antigenen der Spermatozoen reagieren, wird als typisch und spezifisch für immunologische Infertilität angesehen (2,4,11). Diese Antikörper sind bei etwa 8 % der infertilen Männer anzutreffen (13). Spermaantikörper lassen sich in zwei immunologische Klassen einteilen: IgA- und IgG-Antikörper. Einige Daten weisen darauf hin, dass IgA-Antikörper klinisch bedeutsamer sind als IgG-Antikörper. IgA-Antikörper kommen jedoch selten ohne IgG-Antikörper vor. Darum reicht es aus, im Rahmen eines Routinescreening auf IgG-Antikörper zu testen (6,7,14). Der direkte SpermMar Test IgG wird durchgeführt, indem frisches, unbehandeltes Sperma mit Latexpartikeln, die mit humanem IgG beschichtet sind, gemischt wird. Diesem Gemisch wird ein monospezifisches Anti-Human-IgG-Antiserum zugefügt. Die Bildung von Agglutinaten zwischen Partikeln und motilen Spermatozoen deutet auf das Vorhandensein von IgG-Antikörpern auf den Spermatozoen hin (1,5,9,10). Beim indirekten SpermMar Test IgG werden gewaschene, motile

Spenderspermatozoen mit verdünntem, dekompentiertem Patientenserum männlichen oder weiblichen Ursprungs inkubiert. Wenn das Serum Antisperma-Antikörper enthält, bedecken diese die Spenderspermatozoen, die anschließend bei einem SpermMar Test IgG positiv reagieren.

PRODUKTBESTELLCODES

SPMG_S SpermMar Test IgG Einfachkit– 50 Tests
SPMG_S SpermMar Test IgG Komplettkit– 50 Tests

IM TEST ENTHALTENES MATERIAL

- » 1 Flasche mit 0,7 ml SpermMar Test IgG-Latexpartikeln
 - » 1 Flasche mit 0,7 ml SpermMar Test IgG-Antiserum
 - » Objektträger 76 x 26 mm.*
 - » Deckgläser 24 x 40 mm.*
 - » Mikropipetten, kalibriert auf 10 Mikroliter*
 - » Gummibirne*
- * nur im Komplettkit

Das Analysenzertifikat und MSDS (Material Safety Data Sheet) ist auf Anfrage erhältlich oder kann auf unserer Website heruntergeladen werden (www.fertipro.com).

NICHT IM TEST ENTHALTENES MATERIAL

- » Lichtmikroskop (mit 400- bis 600facher Vergrößerung, Hellfeld, Dunkelfeld oder Phasenkontrast)
- » EBSS-Medium ohne zugesetzte Proteine für den indirekten SpermMar Test IgG (z.B. Sigma-Aldrich – E2888)
- » Nicht spermizides Kondom
- » Mikrotiterplatte (z.B. Kima 650 101)

GEBRAUCHSANWEISUNG



Wir empfehlen unser Demonstrationsvideo (Download über den Link auf der Website oder Barcode scannen).

SAMMLUNG UND VORBEREITUNG VON PROBEN

Samensammlung vorzugsweise durch Masturbation. Falls aufgrund bestimmter Umstände von der Spermasammlung durch Masturbation abgeraten wird, können spezifische Kunststoffkondome von FertiPro zur Spermasammlung verwendet werden. Normale Kondome sollten nicht zur Spermasammlung verwendet werden, da diese mit Motilität und Lebensfähigkeit der Spermatozoen interferieren könnten. Unter idealen Bedingungen wird Sperma innerhalb der auf die Ejakulation folgenden Stunde untersucht.

VORBEREITUNG DES REAGENZ

Die SpermMar Test IgG Latexpartikel sind gebrauchsfertig. Dennoch müssen sie vor der Anwendung sorgfältig gemischt werden, um eine homogene Suspension zu erhalten. SpermMar Test IgG Antiserum ist gebrauchsfertig.

DIREKTER SPERMAR TEST IGG

1. Warten Sie, bis sich Reagenzien und Probe an die Raumtemperatur angepasst haben.
2. Auf einen Objektträger platzieren:
 - 10 Mikroliter frisches, unbehandeltes Sperma
 - 10 Mikroliter SpermMar Test IgG Latexpartikel
 - 10 Mikroliter SpermMar Test IgG Antiserum
Dies kann mit Hilfe der mitgelieferten 10 Mikroliter-Kapillarpipetten erfolgen (Kompletttest).
Hinweis: Zur Verwendung der Mikropipetten führen Sie das Ende der Pipette, das mit einer dicken schwarzen Linie markiert ist, in die Gummibirne ein (etwa 5 mm). Warten Sie, bis die Pipette sich durch Kapillarwirkung bis zur ersten Markierung gefüllt hat (10 Mikroliter). Ziehen Sie keine Flüssigkeit in die Birne. Halten Sie die Birne zwischen Daumen und Mittelfinger. Kneifen Sie

vorsichtig in die Birne, um Flüssigkeit aus der Pipette zu drücken.

- Mischen Sie die Probe und das Latexreagenz 5 Mal mit dem Rand eines Deckglases.
- Mischen Sie das Antiserum mit dem Latexreagenz und dem Probengemisch.
- Das Deckglas wird auf das Gemisch platziert und dieses unter einem Lichtmikroskop bei 400- bis 600facher Vergrößerung betrachtet (Phasenkontrast oder Dunkelfeldbeleuchtung kann das Ablesen des Objektträgers vereinfachen).
- Lesen Sie die Ergebnisse nach 2-3 Minuten ab. Suchen Sie nach Latexpartikeln, die an motilen Spermatozoen anhaften. Zählen Sie 10 Spermazellen aus, um den Prozentsatz an reaktivem Sperma zu ermitteln. Nach 10 Minuten erneut ablesen, wenn keine Anhaftung der Beads an Sperma festgestellt wird.

Hinweis: Lagern Sie das Präparat in einer Dampfkammer (z.B. Petrischale, die ein befeuchtetes Stück Filterpapier enthält).

INDIREKTER SPERMAR TEST IGG

- Warten Sie, bis sich Reagenzien und Probe an die Raumtemperatur angepasst haben.
- Inaktivieren Sie die Serumproben, indem Sie diese auf 56 °C erwärmen, 30 Minuten bei Verwendung von Reagenzgläsern aus Glas, 45 Minuten bei Reagenzgläsern aus Kunststoff.
- Passen Sie den pH-Wert des EBSS auf 7,4-7,5 an (durch Zugabe von 0,1 N NaOH oder HCl).
- Waschen Sie die motilen Spermatozoen, indem Sie diese in dem Medium mit angepasstem pH-Wert (pH = 7,4-7,5) nach oben schwimmen lassen. Swim ups müssen in 5 ml-Gläsern oder sterilen Kunststoffreagenzgläsern mit rundem Boden bei 37 °C 45 Minuten lang durchgeführt werden. Passen Sie die Spermakonzentration auf 20x10⁶ sp/ml mit EBSS-Medium (pH= 7,4-7,5) an.
- Verdünnen Sie die inaktivierte Serumprobe in Serie 1/16 mit EBSS-Medium (pH=7,4-7,5) in einer Titerplatte.
- Mischen Sie 50 Mikroliter der (1/16) verdünnten, inaktivierten Serumprobe (Schritt 5) mit 50 Mikroliter des gewaschenen, motilen Spermatozoen (Schritt 4) in einer freien Vertiefung der Titerplatte. 60 Minuten lang bei 37 °C inkubieren.
- Auf einen Objektträger platzieren:
 - 10 Mikroliter des Sperma-Samen-Gemischs
 - 10 Mikroliter SpermMar Test IgG Latexpartikel
 - 10 Mikroliter SpermMar Test IgG Antiserum
- Mischen Sie die Probe und das Latexreagenz 5 Mal mit dem Rand eines Deckglases.
- Mischen Sie das Antiserum mit dem Latexreagenz und dem Probengemisch.
- Das Deckglas wird auf das Gemisch platziert und dieses unter einem Lichtmikroskop bei 400- bis 600facher Vergrößerung betrachtet (Phasenkontrast oder Dunkelfeldbeleuchtung kann das Ablesen des Objektträgers vereinfachen).
- Lesen Sie die Ergebnisse nach 2-3 Minuten ab. Suchen Sie nach Latexpartikeln, die an motilen Spermatozoen anhaften. Zählen Sie 10 Spermazellen aus, um den Prozentsatz an reaktivem Sperma zu ermitteln. Nach 10 Minuten erneut ablesen, wenn keine Anhaftung der Partikel an Sperma festgestellt wird.

Hinweis: Lagern Sie das Präparat in einer Dampfkammer (z.B. Petrischale, die ein befeuchtetes Stück Filterpapier enthält). Um Verdunstung während der Inkubation zu vermeiden, immer mit Parafilm abdecken.

ERGEBNISSE

Bei korrekter Durchführung des Tests wird das Nichtvorhandensein von Spermaantikörpern durch sich frei bewegende Spermatozoen, die nicht mit Latexpartikeln bedeckt sind, angezeigt. Die Latexpartikel selbst bilden wachsende Agglutinate, wodurch die Reaktivität der Reagenzien bewiesen

wird. Bei Vorhandensein von Spermaantikörpern sind die Spermatozoen teilweise mit Latexpartikeln bedeckt. In manchen Fällen können die Spermatozoen sogar durch die große Anzahl von anhaftenden Latexpartikeln immobilisiert sein. Beim direkten SpermMar Test IgG wird die Diagnose immunologische Infertilität vermutet, wenn 10-39 % der motilen Spermatozoen mit Latexpartikeln bedeckt sind. Wenn 40 % oder mehr der Spermatozoen bedeckt sind, ist immunologische Infertilität höchst wahrscheinlich. Zusätzliche Tests müssten die Diagnose bestätigen. Bei positivem Ergebnis wird empfohlen, den SpermMar Test IgA durchzuführen. Beim indirekten SpermMar Test IgG wird das Vorhandensein von 40 % oder mehr Reaktion zwischen den beschichteten Latexpartikeln und motilen Spermatozoen im Allgemeinen als Untergrenze für signifikante Aktivität akzeptiert.

EINSCHRÄNKUNGEN DER METHODE

Der direkte SpermMar Test IgG kann nur bei Vorhandensein von motilen Spermatozoen in der Spermprobe durchgeführt werden. Proben mit geringer Motilität können zu falsch negativen Ergebnissen führen. In diesen Fällen empfiehlt sich die Durchführung des indirekten SpermMar Test IgG.

LEISTUNGSMERKMALE

DIREKTER SPERMAR TEST IGG

Einige hundert Spermproben wurden mit dem direkten MAR-Test (gemischte Antiglobulinreaktion basierend auf roten Blutkörperchen) und mit dem SpermMar Test IgG getestet. Die Ergebnisse waren in 97 % der Fälle vergleichbar. In 3 % der Fälle war der auf roten Blutkörperchen basierende MAR-Test negativ, während der SpermMar Test IgG antikörperbeschichtete Spermatozoen detektierte, wenn auch in relativ kleinen Anzahlen (< 40 %). Dies beweist folglich die höhere Sensitivität des SpermMar Test IgG (10,16).

INDIREKTER SPERMAR TEST IGG

Unter Verwendung des Werts von 40 % Reaktion zwischen motilen Spermatozoen und beschichteten Latexpartikeln als Untergrenze für signifikante Aktivität war das Ergebnis in manchen Fällen mit dem indirekten SpermMar Test IgG positiv, während beim Tray Agglutination Test oder anderen zurzeit akzeptierten Verfahren das Ergebnis negativ war. Der SpermMar Test IgG hat sich als benutzerfreundlicher und sensitiver erwiesen (15). Ein falsch negatives Ergebnis beim indirekten SpermMar Test IgG im Vergleich mit dem Tray Agglutination Test kam in Fällen vor, bei denen IgM im Serum vorhanden war. Die klinische Bedeutung ist zweifelhaft. Es wird empfohlen, ein positives Ergebnis des indirekten SpermMar Test IgG durch zusätzliche Tests zur Detektion von agglutinierender Aktivität (Tray Agglutination Test) und zytotoxischer Aktivität (ATP-Release Cytotoxicity Test) zu bestätigen. Mit letzteren Tests wird auch die Art des immunologischen Effekts bewertet, der durch die Antispermata-Antikörper verursacht wird.

LAGERUNG DER REAGENZIEN

SpermMar Test IgG-Reagenzien sind 18 Monate ab Produktionsdatum stabil. SpermMar Test IgG-Reagenzien müssen bei Nichtanwendung zwischen 2 °C und 8 °C gelagert werden. NICHT EINFRIEREN. Geeignet für den Transport oder kurzzeitige Lagerung bei erhöhten Temperaturen (bis zu 5 Tage bei 37 °C).

WARNHINWEISE UND VORSORGE MAßNAHMEN

Sämtliches humanes, organisches Material muss als potentiell infektiös angesehen werden. Alle Proben sind als potentielle Überträger von HIV oder Hepatitis zu behandeln. Beim Umgang mit Proben immer Schutzkleidung tragen. SpermMar Test IgG Latexpartikel enthält 0,1 % Bovines Serumalbumin mit US-Herkunft. SpermMar Test IgG Latexpartikel sind mit humanem IgG beschichtet. Alle verwendeten Materialien wurden

durch den ursprünglichen Hersteller auf Hepatitis B, Hepatitis C und HIV getestet.

SpermMar Test IgG Positiv- und Negativkontrollen

Kontrollen zur Anwendung mit dem indirekten Test zur Bestimmung von Spermaantikörpern (SpermMar IgG)

Dok.Referenz: FP09 I01 R01 E.5
Ausgabe: 30.08.2018

Aufbewahrungsmittel: Natriumazid 0,09 %.
Zwischen 2 °C und 8 °C lagern - Nicht einfrieren
Nur für die diagnostische in-vitro-Anwendung.
Reagenz nur für den professionellen Gebrauch vorgesehen.

ANWENDUNGSZWECK

Die SpermMar Test IgG Positiv- und Negativkontrolle wurde als Qualitätskontrolle des SpermMar Test IgG konzipiert.

ALLGEMEINE INFORMATIONEN

Das Vorhandensein von Spermaantikörpern, die mit Antigenen der Spermatozoen reagieren, wird als typisch und spezifisch für immunologische Infertilität angesehen (2,4,11). Spermaantikörper lassen sich in zwei immunologische Klassen einteilen: IgA- und IgG-Antikörper. Einige Daten weisen darauf hin, dass IgA-Antikörper klinisch bedeutsamer sind als IgG-Antikörper. IgA-Antikörper kommen jedoch selten ohne IgG-Antikörper vor. Darum reicht es aus, im Rahmen eines Routinescreening auf IgG-Antikörper zu testen (6,7,14).

Beim indirekten SpermMar Test IgG werden gewaschene, motile Spermatozoen mit verdünntem, dekomplementiertem Patientenserum männlichen oder weiblichen Ursprungs inkubiert. Wenn das Serum Antispermata-Antikörper enthält, bedecken diese die Spermatozoen, die anschließend bei einem SpermMar Test IgG positiv reagieren.

Die SpermMar Test IgG Positivkontrolle enthält gebrauchsfertiges Patientenserum mit Antispermata-Antikörperwerten von über 80 %. Die SpermMar Test IgG Negativkontrolle enthält gebrauchsfertiges Patientenserum mit Antispermata-Antikörperwerten von unter 40 %.

PRODUKT-CODES UND KITHALT

SPMG_P	1 Flasche mit 2,5 ml positivem Kontrollserum für den SpermMar Test IgG.
SPMG_N	1 Flasche mit 2,5 ml negativem Kontrollserum für den SpermMar Test IgG.

IM TEST ENTHALTENES MATERIAL

- » 1 Flasche mit 2,5 ml dekomplementiertem Patientenserum verdünnt in FertiCult Flushing-Medium ohne Humanserum Albumin.

Das Analysenzertifikat und MSDS (Material Safety Data Sheet) ist auf Anfrage erhältlich oder kann auf unserer Website heruntergeladen werden (www.fertipro.com).

NICHT IM KIT ENTHALTENES MATERIAL

- » SpermMar Test IgG
- » Objektträger
- » Deckgläser
- » Lichtmikroskop (mit 400- bis 600facher Vergrößerung, Hellfeld, Dunkelfeld oder Phasenkontrast)
- » EBSS-Medium (z.B. Sigma-Aldrich – E2888).
- » Mikrotiterplatte (z.B. Kima 650 101).

GEBRAUCHSANWEISUNG

VORBEREITUNG DES REAGENZ

Die SpermMar Test IgG Positiv- und Negativkontrolle sind gebrauchsfertig. Vor der Anwendung an die Raumtemperatur anpassen lassen.

SAMMLUNG UND VORBEREITUNG VON PROBEN

Das Spermensperma wird durch Masturbation oder durch andere, vom Arzt empfohlene Methoden gesammelt. Sperma wird vorzugsweise innerhalb einer Stunde nach der Ejakulation untersucht.

VERFAHREN

1. Warten Sie, bis sich alle Reagenzien und Proben an die Raumtemperatur angepasst haben.
2. Waschen Sie die motilen Spermatozoen, indem Sie diese in dem pH-angepassten EBSS-Medium (pH = 7,4-7,5) nach oben schwimmen lassen. Swim ups müssen in 5 ml-Gläsern oder sterilen Kunststoffreagenzgläsern mit rundem Boden bei 37 °C 45 Minuten lang durchgeführt werden. Passen Sie die Spermakonzentration auf 20×10^6 sp/ml mit Medium (pH= 7,4-7,5) an.
3. Mischen Sie 50 Mikroliter des Kontrollserums mit 50 Mikroliter des gewaschenen, motilen Spermenspermas in einer freien Vertiefung der Mikrotiterplatte. 60 Minuten lang bei 37 °C inkubieren.
4. Auf einen Objektträger platzieren:
 - 10 Mikroliter des Sperma-Samen-Gemischs
 - 10 Mikroliter SpermMar Test IgG Latexpartikel
 - 10 Mikroliter SpermMar Test IgG Antiserum
5. Mischen Sie die Probe und das Latexreagenz 5 Mal mit dem Rand eines Deckglases.
6. Mischen Sie das Antiserum mit dem Latexreagenz und dem Probengemisch.
7. Das Deckglas wird auf das Gemisch platziert und dieses unter einem Lichtmikroskop bei 400- bis 600facher Vergrößerung betrachtet (Phasenkontrast oder Dunkelfeldbeleuchtung kann das Ablesen des Objektträgers vereinfachen).
8. Lesen Sie die Ergebnisse nach 2-3 Minuten ab. Suchen Sie nach Latexpartikeln, die an motilen Spermatozoen anhaften. Zählen Sie 100 Spermazellen aus, um den Prozentsatz an reaktivem Sperma zu ermitteln. Nach 10 Minuten erneut ablesen, wenn keine Anhaftung der Partikel an Sperma festgestellt wird.

Hinweis: Lagern Sie das Präparat in einer Dampfkammer (z.B. Petrischale, die ein befeuchtetes Stück Filterpapier enthält). Um Verdunstung während der Inkubation zu vermeiden, immer mit Parafilm abdecken.

ERGEBNISSE

Bei korrekter Durchführung des Tests wird das Nichtvorhandensein von Spermaantikörpern durch sich frei bewegende Spermatozoen, die nicht mit Latexpartikeln bedeckt sind, angezeigt. Die Latexpartikel selbst bilden wachsende Agglutinate, wodurch die Reaktivität der Reagenzien bewiesen wird. Bei Vorhandensein von Spermaantikörpern sind die Spermatozoen teilweise mit Latexpartikeln bedeckt. In manchen Fällen können die Spermatozoen sogar durch die große Anzahl von anhaftenden Latexpartikeln immobilisiert sein.

- » Die SpermMar Test IgG Positivkontrolle müsste 80 % oder mehr motile, mit Latexpartikeln bedeckte Spermatozoen ergeben.
- » Die SpermMar Test IgG Negativkontrolle müsste weniger als 40 % motile, mit Latexpartikeln bedeckte Spermatozoen ergeben.

EINSCHRÄNKUNGEN DER METHODE

Der indirekte SpermMar Test IgG kann nur bei Vorhandensein von motilen Spermatozoen im Sperma durchgeführt werden.

LAGERUNG DES REAGENZ

Bei korrekter Lagerung sind die SpermMar Test IgG Kontrollseren 18 Monate ab Produktionsdatum stabil. SpermMar Test IgG-Reagenzien müssen bei Nichtanwendung zwischen 2 °C und 8 °C gelagert werden.

WARNHINWEISE UND VORSORGE MAßNAHMEN

Sämtliches humanes, organisches Material muss als potentiell infektiös angesehen werden. Alle Proben sind als potentielle Überträger von HIV oder Hepatitis zu behandeln. Beim Umgang mit Proben immer Schutzkleidung tragen.

SpermMar Test IgG Positiv- und Negativkontrolle sind zwar auf HIV und Hepatitis getestet. Dennoch muss der Anwender bei Anwendung der Kontrollseren immer Schutzkleidung tragen.

BIBLIOGRAPHIE

Siehe SpermMar Test IgA.

TECHNISCHE UNTERSTÜTZUNG



FertiPro N.V.
Industriepark Noord 32, 8730 Beernem,
Belgien
Tel. +32 (0)50 79 18 05
Fax +32 (0)50 79 17 99
URL : www.fertipro.com
E-Mail : info@fertipro.com

