

SpermMar Test IgA

Kwalitatieve test voor de bepaling van Sperma Antilichamen van de IgA-klasse

Doc. referentie: FP09 I01 R01 E.5
Editie: 30.08.2018

Bewaarmiddel: Natrium azide 0,09%.
Bewaar tussen 2 °C en 8 °C – Niet invriezen
Enkel voor in vitro diagnostisch gebruik.
Reagens enkel voor professioneel gebruik.

BEOOGD GEBRUIK

De SpermMar Test IgA is een diagnostische kit voor de detectie van antisperma antilichamen van de IgA-klasse in humaan semen. De aanwezigheid van antisperma antilichamen kan interfereren met spermafunctie, zona binding en de acrosoomreactie.

ALGEMENE INFORMATIE

De aanwezigheid van sperma antilichamen die reageren met antigenen op de spermatozoa wordt beschouwd als typisch en specifiek voor immunologische infertilititeit (1,3,22,24). Deze antilichamen worden teruggevonden in ongeveer 8% van de infertiele mannen (13).

Antisperma antilichamen behoren tot verschillende immunologische klassen, maar enkel die van de IgA en IgG klassen zijn klinisch relevant (18). Deze klassen vertonen cytotoxische effecten en worden adequaat gedetecteerd op spermatozoa of in serum met de SpermMar IgG Test. Antisperma antilichamen gebonden aan complement C3 van de IgA klasse, die vooral agglutinerende eigenschappen hebben (14), komen zelden voor zonder antilichamen van de IgG klasse (6), maar zij zijn waarschijnlijk belangrijker voor mannelijke infertilititeit. Inderdaad, patiënten die sperma antilichamen van de IgA klasse combineren met sperma antilichamen van de IgG klasse, of patiënten met enkel IgA antilichamen hebben erg weinig kans op een natuurlijke zwangerschap met hun partner (6,20). Dit betekent dat de detectie van antilichamen van de IgA klasse zeer belangrijk is voor zowel diagnose als prognose (21).

Het merendeel van de IgA antisperma antilichamen wordt afgescheiden door de accessoire geslachtsklieren (23). Ze zijn aanwezig op de spermatozoa en soms in het seminaal plasma, maar meestal afwezig in serum. Daarom is het niet aangeraden om IgA antilichamen in serum te bepalen (18). Het kan worden overwogen om te zoeken naar IgA antilichamen in seminaal plasma, in het geval van lage sperma concentratie of lage motiliteit, hoewel de mogelijke klinische betekenis van deze antilichamen twijfelachtig is.

De directe SpermMar Test IgA is een test voor de detectie van antilichamen die de spermatozoa bedekken, uitgevoerd op vers sperma of spermatozoa die geïsoleerd zijn van seminaal plasma door een cyclus van suspensie, centrifugatie en resuspensie in medium. Deze spermatozoa worden gemixt met de beads die gecoat zijn met antihumaan anti-IgA. De vorming van gemixte agglutinatoren van motiele spermatozoa met beads duidt op de aanwezigheid van IgA antisperma antilichamen op de spermatozoa (1,5,9,10,17).

PRODUCT BESTELCODES

SPMA_S SpermMar Test IgA single kit – 50 testen
SPMA_C SpermMar Test IgA complete kit – 50 testen

MATERIAAL INBEGREPEN IN DE TEST

- » 1 flacon die 0,7 ml SpermMar IgA beads bevat
- » Microscopie slides 76 x 26 mm*
- » Dekglasjes 24 x 40 mm*
- » Microcapillaire pipetten gekalibreerd op 10 microliter*
- » Rubberen peer*

*alleen in de complete kit

Het certificaat van analyse en MSDS zijn beschikbaar op aanvraag of kunnen gedownload worden van onze website (www.fertipro.com).

MATERIAAL NIET INBEGREPEN IN DE TEST

- » Lichtmicroscop (met 400x tot 600x vergroting, helderveld, donkerveld of fasecontrast)
- » Niet-zaaddodend condoom

GEBRUIKSAANWIJZING



Wij raden aan om onze demonstratievideo te bekijken (download via link op de website of scan barcode).

VERZAMELING EN VOORBEREIDING VAN SPECIMEN

Bij voorkeur, semen collectie door masturbatie. Wanneer door bepaalde omstandigheden semen collectie door masturbatie wordt afgeraden, zijn specifieke plastic condooms van FertiPro beschikbaar voor semen collectie. Gewone condooms zouden niet gebruikt mogen worden voor semen collectie want ze zouden kunnen interfereren met de motiliteit en levensvatbaarheid van de spermatozoa. In ideale omstandigheden wordt semen onderzocht binnen het uur na ejaculatie.

VOORBEREIDING VAN HET REAGENS

Alhoewel de SpermMar IgA latex partikels gebruiksklaar zijn, dienen ze grondig te worden gemengd voor gebruik om een homogene suspensie te verkrijgen.

DIRECTE SPERMAR TEST IGA VOOR DE DETECTIE VAN ANTISPERMA ANTILICHAMEN VAN DE IGA KLASSE OP HUMANE SPERMATOZOA

1. Laat reagentia en specimen aanpassen aan kamertemperatuur.
2. Plaats op een microscoop slide:
 - 10 microliter vers semen
 - 10 microliter SpermMar Test IgA latex partikelsDit kan gebeuren met behulp van de 10 microliter capillaire pipetten, indien aanwezig in de kit.
Opmerking: om de microcapillaire pipetten te gebruiken, voeg het einde van de pipet gemarkeerd met een dikke zwarte lijn in de rubberen peer (ongeveer 5 mm). Laat de pipet vullen door middel van capillaire actie tot het eerste merkteken (10 microliter). Trek geen vloeistof in de peer. Plaats de top van uw vinger over de top van de peer. Terwijl de peer tussen duim en middelvinger wordt gehouden, knijp voorzichtig in de peer om vloeistof uit de pipet te drijven.
3. Meng het staal en het latex reagens 5 keer met de rand van een dekglaasje.
4. Het dekglaasje wordt op het mengsel geplaatst en het mengsel wordt geëvalueerd onder een lichtmicroscopie gebruik makend van een 400x tot 600x vergroting. Het gebruik van fase contrast of donkerveld verlichting kan het lezen van de slide vergemakkelijken.
5. Lees de resultaten af na 3 minuten. Zoek naar latex partikels aangehecht aan motiele spermatozoa. Tel 100 spermacellen om het percentage aan reactieve sperma te bepalen. Lees opnieuw na 10 minuten.
Opmerking: Bewaar het preparaat in een dampkamer (bv. een petrischaal die een bevochtigd stukje filterpapier bevat).
6. De diagnose van immunologische infertilititeit wordt vermoed wanneer 10-39% van de motiele spermatozoa aangehecht zijn aan latex partikels; als 40% of meer spermatozoa aangehecht zijn, is immunologische infertilititeit hoogst waarschijnlijk.

INTERPRETATIE VAN DE RESULTATEN

Wanneer de test naar behoren is uitgevoerd, zal de afwezigheid van antisperma antilichamen getoond worden door vrij bewegende spermatozoa die niet bedekt zijn met latex partikels. De latex partikels

kunnen onderling agglutineren, al is dit meestal niet het geval. In de aanwezigheid van antisperma antilichamen gaan de spermatozoa reageren met de partikels en één, later meerdere partikels gaan aanhechten aan alle of een deel van de motiele spermatozoa. Het percentage van motiele spermatozoa die deze gemengde agglutinatie vertonen is direct gerelateerd met de ernst van de immunologische reactie.

In het algemeen is de proportie van motiele spermatozoa die reageren in de SpermMar Test IgA kleiner dan in de SpermMar Test IgG, maar occasioneel kan het tegenovergestelde voorkomen (12). In zeldzame situaties is er een positieve reactie in de SpermMar Test IgA in de afwezigheid van enige reactie in de SpermMar Test IgG, wijzend op de aanwezigheid van secretore antilichamen van de IgA klasse zonder antilichamen van de IgG klasse. Een gemixte agglutinatiereactie van 40% of meer in semen wijst op een positieve reactie op de SpermMar Test IgA.

BEPERKINGEN VAN DE METHODE

De directe SpermMar Test IgA kan alleen maar worden uitgevoerd als motiele spermatozoa aanwezig zijn in het semen staal. Staal met een zeer lage sperma concentratie of motiliteit kunnen vals negatieve resultaten opleveren.

PERFORMANTIE KENMERKEN

Enkele honderden semen stalen zijn getest geweest met de directe gemixte antiglobuline reactie en de directe SpermMar Test voor IgG. De resultaten waren vergelijkbaar in 97% van de gevallen. In 3% van de gevallen detecteerde de SpermMar Test antilichamen, terwijl de gemixte antiglobuline reactie test gebruik makend van rode bloedcellen negatief was. In zulke gevallen was het percentage van spermatozoa die reageren in de SpermMar Test gewoonlijk laag (14). De resultaten van de SpermMar Test IgA waren accuraat bewezen na vergelijking met immunofluorescentie en nefelometrie.

BEWARING VAN HET REAGENS

Wanneer naar behoren bewaard, is het SpermMar Test IgA reagens stabiel gedurende 12 maanden na de productiedatum. Het SpermMar Test IgA reagens moet bewaard worden tussen 2°C en 8°C wanneer niet in gebruik. HET REAGENS NIET INVRIEZEN. Geschikt voor transport of korte termijn bewaring bij verhoogde temperaturen (tot 5 dagen op 37°C).

WAARSCHUWINGEN EN VOORZORGEN

Behandel alle stalen alsof ze HIV of hepatitis kunnen overdragen. Draag altijd beschermende kledij wanneer gewerkt wordt met specimen. SpermMar Test IgA bevat 0.1% Boviene Serum Albumine van VS origine.

BIBLIOGRAFIE

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-DRAAÏSMA T. A simple method of screening for antisperm 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-DRAAÏSMA T. Immunoglobulin class of antispermatozoal antibodies from infertile men and inhibition of in vitro sperm penetration into cervical mucus. *Int. J. 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 diagnostique 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.
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 ONDERSTEUNING



FertiPro N.V.
 Industriepark Noord 32, 8730 Beernem, Belgium
 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

Kwalitatieve latex test voor de bepaling van Sperma Antilichamen.

Doc. referentie: FP09 I01 R01 E.5
 Editie: 30.08.2018

Bewaarmiddel: Natrium azide 0,09%.
 Bewaar tussen 2 °C en 8 °C – Niet invriezen
 Enkel voor in vitro diagnostisch gebruik.
 Reagens enkel voor professioneel gebruik.

BEOOGD GEBRUIK

De SpermMar Test IgG is een diagnostische kit voor de detectie van antisperma antilichamen van de IgG-klasse in humaan semen of serum. De directe SpermMar Test IgG kan uitgevoerd worden op onbehandeld humaan semen, of voorwaarde dat het motiele spermatozoa bevat, de indirecte SpermMar Test IgG kan gebruikt worden op serum. De aanwezigheid van antisperma antilichamen kan interfereren met spermfunctie, zona binding en de acrosoomreactie.

ALGEMENE INFORMATIE

De aanwezigheid van sperma antilichamen die reageren met antigenen van de spermatozoa wordt gezien als typisch en specifiek voor immunologische infertiliteit (2,4,11). Deze antilichamen worden in ongeveer 8% van de infertiele mannen gevonden (13). Sperma antilichamen behoren tot 2 immunologische klassen: IgA en IgG antilichamen. Sommige data wijzen erop dat IgA antilichamen klinisch belangrijker zijn dan IgG antilichamen. Echter, IgA antilichamen komen zelden voor zonder IgG antilichamen. Daarom is het voldoende om voor IgG antilichamen te testen in routine screening (6,7,14).

De directe SpermMar Test IgG wordt uitgevoerd door vers, onbehandeld semen te mengen met latex partikels die gecoat zijn met humaan IgG. Aan dit mengsel wordt een monospecifiek antihumaan IgG antiserum toegevoegd. De vorming van agglutinatens tussen partikels en motiele spermatozoa wijst op de aanwezigheid van IgG antilichamen op de spermatozoa (1,5,9,10). In de indirecte SpermMar Test IgG worden gewassen motiele donor spermatozoa geïncubeerd met verdund en gedecomplementeerd patiënt serum van mannelijke of vrouwelijke origine.

Als het serum antisperma antilichamen bevat, zullen deze de donor spermatozoa bedekken die vervolgens positief zullen reageren in een SpermMar Test IgG.

PRODUCT BESTELCODES

SPMG_S SpermMar Test IgG single kit– 50 testen
 SPMG_C SpermMar Test IgG complete kit – 50 testen

MATERIAAL INBEGREPEN IN DE TEST

- » 1 flacon die 0,7 ml SpermMar Test IgG latex partikels bevat
- » 1 flacon die 0,7 ml SpermMar Test IgG antiserum bevat
- » Microscoop slides 76 x 26 mm.*
- » Dekglasjes 24 x 40 mm.*
- » Microcapillaire pipetten gekalibreerd op 10 microliter*
- » Rubberen peer*

* alleen in de complete kit

Het certificaat van analyse en MSDS zijn beschikbaar op verzoek of kunnen gedownload worden van onze website (www.fertipro.com)

MATERIAAL NIET INBEGREPEN IN DE TEST

- » Lichtmicroscoop (met 400x tot 600x vergroting, helderveld, donkerveld of fasecontrast)
- » EBSS medium zonder toegevoegde proteïnen voor de indirecte SpermMar Test IgG (e.g. Sigma-Aldrich – E2888)
- » Niet-zaaddodend condoom
- » Microtiterplaat (bv. Kima 650 101)

GEBRUIKSAANWIJZING



Wij raden aan om onze demonstratievideo te bekijken (download via link op de website of scan barcode).

VERZAMELING EN VOORBEREIDING VAN SPECIMEN

Bij voorkeur semen collectie door masturbatie. Wanneer door bepaalde omstandigheden semen collectie door masturbatie wordt afgeraden, zijn specifieke plasticke condooms beschikbaar van FertiPro voor semen collectie. Gewone condooms zouden niet gebruikt mogen worden voor semen collectie want ze zouden kunnen interfereren met de motiliteit en levensvatbaarheid van de spermatozoa. In ideale omstandigheden wordt semen onderzocht binnen het uur na ejaculatie.

VOORBEREIDING VAN HET REAGENS

De SpermMar Test IgG latex partikels zijn klaar om te gebruiken, maar ze dienen grondig te worden gemengd voor gebruik om een homogene suspensie te verkrijgen. SpermMar Test IgG Antiserum is klaar om te gebruiken.

DIRECTE SPERMAR TEST IGG

1. Laat reagentia en specimen aanpassen aan kamertemperatuur.
2. Plaats op een microscoop slide:
 - 10 microliter vers, onbehandeld semen
 - 10 microliter SpermMar Test IgG latex partikels
 - 10 microliter SpermMar Test IgG Antiserum
 Dit kan gebeuren met behulp van de meegeleverde 10 microliter capillaire pipetten (complete test).

Opmerking: om de microcapillaire pipetten te gebruiken, voeg het einde van de pipet gemarkeerd met een dikke zwarte lijn in de rubberen peer (ongeveer 5 mm). Laat de pipet vullen door middel van capillaire actie tot het eerste merkteken (10 microliters). Trek geen vloeistof in de rubberen peer. Terwijl de peer tussen duim en middelvinger wordt gehouden, knijp voorzichtig in de peer om vloeistof uit de pipet te drijven.
3. Meng het staal en het latex reagens 5 keer met de rand van een dekglaasje.
4. Meng het antiserum met het Latex reagens en staal mengsel.
5. Het dekglaasje wordt op het mengsel geplaatst en het mengsel wordt bekeken onder een lichtmicroscoop gebruik makend van een 400x tot 600x vergroting (fase contrast of donkerveld verlichting kan het lezen van de slide vergemakkelijken).
6. Lees de resultaten af na 2-3 minuten. Zoek voor latex partikels aangehecht aan motiele spermatozoa. Tel 100 spermacellen om het percentage aan reactieve sperma te bepalen. Als er

geen aanhechting van de beads aan sperma wordt waargenomen, lees opnieuw na 10 minuten.

Opmerking: Bewaar het preparaat in een dampkamer (bv. een petrischaal die een bevochtigd stukje filterpapier bevat).

INDIRECTE SPERMAR TEST IGG

1. Laat reagentia en specimen aanpassen aan kamertemperatuur.
2. Inactieveer de serum specimen door ze te verwarmen op 56°C gedurende 30 minuten als glazen test-tubes worden gebruikt, 45 minuten als plastic test-tubes worden gebruikt.
3. Pas de pH van de EBSS aan tot 7,4-7,5 (door 0.1N NaOH of HCl toe te voegen).
4. Was de motiele donor spermatozoa door ze omhoog te laten zwemmen in het medium met een aangepaste pH (pH=7,4-7,5). Swim up moet worden uitgevoerd in 5 ml glazen of steriele plastic test tubes met een ronde bodem op 37°C voor 45 minuten. Pas de sperma concentratie aan tot 20x10⁶ sp/ml met EBSS medium (pH= 7,4-7,5).
5. Verdun in serie het geïnactiveerde serum specimen 1/16 met EBSS medium (pH=7,4-7,5) in een titerplaat.
6. Meng 50 microliter van het (1/16) verdunde, geïnactiveerde serum specimen (stap 5) met 50 microliter van het gewassen motiele donor sperma (stap 4) in een vrije well op de titerplaat. Incubeer 60 minuten op 37°C.
7. Plaats op een microslide:
 - 10 microliter van het sperma-semen mengsel
 - 10 microliter SpermMar Test IgG latex partikels
 - 10 microliter SpermMar Test IgG Antiserum
8. Meng het staal en het latex reagens 5 keer met de rand van een dekglasje.
9. Meng het antiserum met het Latex reagens en staal mengsel.
10. Het dekglasje wordt op het mengsel geplaatst en het mengsel wordt bekeken onder een lichtmicroscop gebruik makend van een 400x tot 600x vergroting (fase contrast of donkerveld verlichting kan het lezen van de slide vergemakkelijken).
11. Lees de resultaten af na 2-3 minuten. Zoek voor latex partikels aangehecht aan motiele spermatozoa. Tel 100 spermacellen om het percentage aan reactieve sperma te bepalen. Als er geen aanhechting van de partikels aan sperma wordt waargenomen, lees opnieuw na 10 minuten.

Opmerking: Bewaar het preparaat in een dampkamer (bv. een petrischaal die een bevochtigd stukje filterpapier bevat). Om verdamping tijdens incubatie tegen te gaan, bedek altijd met parafilm.

RESULTATEN

Wanneer de test naar behoren is uitgevoerd, zal de afwezigheid van sperma antilichamen getoond worden door vrij bewegende spermatozoa die niet bedekt zijn met latex partikels. De latex partikels zelf zullen groeiende agglutinaties vormen, waarbij de reactiviteit van de reagentia wordt bewezen. In de aanwezigheid van sperma antilichamen gaan de spermatozoa gedeeltelijk bedekt zijn met latex partikels. In sommige gevallen kunnen de spermatozoa zelfs geïmmobiliseerd zijn door het grote aantal van aangehechte latex partikels. In de directe SpermMar Test IgG wordt de diagnose van immunologische infertiliteit vermoed wanneer 10-39% van de motiele spermatozoa bedekt zijn met latex partikels. Wanneer 40% of meer van de spermatozoa bedekt zijn, is immunologische infertiliteit hoogst waarschijnlijk. Additionele testen zouden de diagnose moeten bevestigen. Wanneer een positief resultaat wordt bekomen, is het aangeraden om de SpermMar Test IgA uit te voeren. In de indirecte SpermMar Test IgG wordt de aanwezigheid van 40% of meer reactie tussen de gecoate latex partikels en motiele spermatozoa over het algemeen geaccepteerd als de onderlimiet voor significante activiteit.

BEPERKINGEN VAN DE METHODE

De directe SpermMar Test IgG kan alleen maar worden uitgevoerd als motiele spermatozoa aanwezig zijn in het semen sample. Stalen met lage motiliteit kunnen vals negatieve resultaten opleveren, in zulke gevallen is het aangeraden om de indirecte SpermMar Test IgG uit te voeren.

PERFORMANTIE KENMERKEN

DIRECTE SPERMAR TEST IGG

Enkele honderden semen stalen zijn getest geweest met de directe MAR-test (gemixte antiglobuline reactie gebaseerd op rode bloedcellen) en met de SpermMar Test IgG. De resultaten waren vergelijkbaar in 97% van de gevallen. In 3% van de gevallen was de MAR-Test gebaseerd op rode bloedcellen negatief, terwijl de SpermMar Test IgG antilichamen gecoate spermatozoa detecteerde, hoewel in relatief kleine aantallen (<40%), bewijst dit dus de hogere sensitiviteit van de SpermMar Test IgG (10,16).

INDIRECTE SPERMAR TEST IGG

Gebruik makend van de waarde van 40% reactie tussen motiele spermatozoa en gecoate latex partikels als de onderlimiet voor significante activiteit, was het resultaat in sommige gevallen met de indirecte SpermMar Test IgG positief, terwijl bij de Tray Agglutination Test, of andere momenteel geaccepteerde procedures het resultaat negatief was. The SpermMar Test IgG is bewezen als gemakkelijker te gebruiken en meer sensitief (15). Een vals negatief resultaat met de indirecte SpermMar Test IgG in vergelijking met de Tray Agglutination Test kwam voor in gevallen met IgM aanwezig in het serum, waarvan de klinische betekenis twijfelachtig is. Het wordt aangeraden om een positief resultaat van de indirecte SpermMar Test IgG te bevestigen door additionele testen voor de detectie van agglutinerende activiteit (Tray Agglutination Test) en voor cytotoxische activiteit zoals de ATP-Release cytotoxicity test. Deze laatste testen zullen ook het type van immunologisch effect uitgevoerd door de antisperma antilichamen beoordelen.

BEWARING VAN DE REAGENTIA

SpermMar Test IgG reagentia zijn stabiel voor 18 maanden na de productiedatum. SpermMar Test IgG reagentia moeten bewaard worden tussen 2°C en 8°C wanneer niet in gebruik. VRIES NIET IN. Geschikt voor transport of korte termijn bewaring bij verhoogde temperaturen (tot 5 dagen op 37°C).

WAARSCHUWINGEN EN VOORZORGEN

Alle humaan, organisch materiaal zou als potentieel infectieus moeten gezien worden. Behandel alle stalen alsof ze HIV of hepatitis kunnen overdragen. Draag altijd beschermende kledij wanneer gewerkt wordt met specimen.

SpermMar Test IgG latex partikels bevat 0.1% Boviene Serum Albumine van VS origine. SpermMar Test IgG latex partikels zijn gecoat met humaan IgG, alle gebruikte materialen zijn bij de originele fabrikant getest voor Hepatitis B, Hepatitis C en HIV.

SpermMar Test IgG Positive en Negative Controls

Controles voor gebruik met de indirecte test voor de bepaling van sperma antilichamen (SpermMar IgG)

Doc. referentie: FP09 I01 R01 E.5
Editie: 30.08.2018

Bewaarmiddel: Natrium azide 0,09%.
Bewaar tussen 2 °C en 8 °C – Niet invriezen
Enkel voor in vitro diagnostisch gebruik.
Reagens enkel voor professioneel gebruik.

BEOOGD GEBRUIK

De SpermMar Test IgG Positieve en Negatieve controle zijn ontworpen als kwaliteitscontrole van de SpermMar Test IgG.

ALGEMENE INFORMATIE

De aanwezigheid van sperma antilichamen die reageren met antigenen van de spermatozoa wordt gezien als typisch en specifiek voor immunologische infertiliteit (2,4,11). Sperma antilichamen behoren tot 2 immunologische klassen: IgA en IgG antilichamen. Sommige data wijzigen erop dat IgA antilichamen klinisch belangrijker zijn dan IgG antilichamen. Echter, IgA antilichamen komen zelden voor zonder IgG antilichamen. Daarom is het voldoende om voor IgG antilichamen te testen in routine screening (6,7,14). In de indirecte SpermMar Test IgG worden gewassen motiele donor spermatozoa geïncubeerd met verdund en gedecomplementeerd patiënt serum van mannelijke of vrouwelijke origine. Als het serum antisperma antilichamen bevat, zullen deze het donor spermatozoa bedekken die vervolgens positief zullen reageren in een SpermMar Test IgG.

De SpermMar Test IgG positieve controle bevat gebruiksklaar patiënt serum met antisperma antilichamen waarden hoger dan 80%. De SpermMar Test IgG negatieve controle bevat gebruiksklaar patiënt serum met antisperma antilichamen waarden lager dan 40%.

PRODUCTCODES EN KIT INHOUD

SPMG_P	1 flacon met 2,5 ml positieve controle serum voor de SpermMar Test IgG.
SPMG_N	1 flacon met 2,5 ml negatieve controle serum voor de SpermMar Test IgG.

MATERIAAL INBEGREPEN IN DE TEST

- » 1 flacon met 2,5 ml gedecomplementeerd patiënt serum verdun in FertiCult Flushing medium zonder humaan serum albumine.

Het certificaat van analyse en MSDS zijn beschikbaar op aanvraag of kunnen gedownload worden van onze website (www.fertipro.com).

MATERIAAL NIET INBEGREPEN IN DE KIT

- » SpermMar Test IgG
- » Microscop slides
- » Dekglasjes
- » Lichtmicroscop (met 400x tot 600x vergroting, helderveld, donkerveld of fasecontrast)
- » EBSS medium (bv., Sigma-Aldrich – E2888).
- » Microtiterplaat (bv., Kima 650 101).

GEBRUIKSAANWIJZING

VOORBEREIDING VAN HET REAGENS

De SpermMar Test IgG positieve en negatieve controle zijn gebruiksklaar. Laat aanpassen aan kamertemperatuur voor gebruik.

VERZAMELING EN VOORBEREIDING VAN SPECIMEN

Het donor semen zou verzameld moeten worden door masturbatie of door andere methodes aanbevolen door de arts. Semen wordt bij voorkeur onderzocht binnen 1 uur na ejaculatie.

PROCEDURE

1. Laat alle reagentia en specimen aanpassen aan kamertemperatuur.
2. Was de motiele donor spermatozoa door ze omhoog te laten zwemmen in het pH aangepast EBSS medium (pH=7,4-7,5). Swim up moet worden uitgevoerd in 5 ml glazen of steriele plastic test tubes met een ronde bodem op 37°C voor 45 minuten. Pas de sperma concentratie aan tot 20x10⁶ sp/ml met medium (pH= 7,4-7,5).
3. Meng 50 microliter van control serum met 50 microliter van het gewassen motiele donor sperma in een vrije well op de microtiterplaat. Incubeer 60 minuten op 37°C.
4. Plaats op een microscop slide:
 - 10 microliter van het sperma-semen mengsel

- 10 microliter SpermMar Test IgG latex partikels
 - 10 microliter SpermMar Test IgG Antiserum
5. Meng het staal en het latex reagens 5 keer met de rand van een dekglasje.
 6. Meng het antiserum met het Latex reagens en staal mengsel.
 7. Het dekglasje wordt op het mengsel geplaatst en het mengsel wordt bekeken onder een lichtmicroscopie gebruik makend van een 400x tot 600x vergroting (fase contrast of donkerveld verlichting kunnen ook gebruikt worden om het lezen van de slide te vergemakkelijken).
 8. Lees de resultaten af na 2-3 minuten. Zoek voor latex partikels aangehecht aan motiele spermatozoa. Tel 100 spermacellen om het percentage aan reactieve sperma te bepalen. Als er geen aanhechting van de partikels aan sperma wordt waargenomen, lees opnieuw na 10 minuten.

Opmerking: Bewaar het preparaat in een dampkamer (bv. een petrischaal die een bevochtigd stukje filterpapier bevat). Om verdamping tijdens incubatie tegen te gaan, bedek altijd met parafilm.

RESULTATEN

Wanneer de test naar behoren is uitgevoerd, zal de afwezigheid van sperma antilichamen getoond worden door vrij bewegende spermatozoa die niet bedekt zijn met latex partikels. De latex partikels zelf zullen groeiende agglutinaties vormen, waarbij de reactiviteit van de reagentia wordt bewezen. In de aanwezigheid van sperma antilichamen gaan de spermatozoa gedeeltelijk bedekt zijn met latex partikels. In sommige gevallen kunnen de spermatozoa zelfs geïmmobiliseerd zijn door het grote aantal van aangehechte latex partikels.

- » De SpermMar Test IgG Positieve Controle zou 80% of meer motiele spermatozoa bedekt met latex partikels moeten opleveren.
- » De SpermMar Test IgG Negatieve Controle zou minder dan 40% bedekt met latex partikels moeten opleveren.

BEPERKINGEN VAN DE METHODE

De indirecte SpermMar Test IgG kan enkel uitgevoerd worden als motiele spermatozoa aanwezig zijn in het semen.

BEWARING VAN HET REAGENS

Wanneer correct bewaard, zijn de SpermMar Test IgG controle sera stabiel voor 18 maanden na de productiedatum. SpermMar Test IgG reagentia moeten bewaard worden tussen 2°C en 8°C wanneer niet in gebruik.

WAARSCHUWINGEN EN VOORZORGEN

Alle humaan, organisch materiaal zou als potentieel infectieus moeten gezien worden. Behandel alle stalen alsof ze HIV of hepatitis kunnen overdragen. Draag altijd beschermende kledij wanneer gewerkt wordt met specimens.

Hoewel SpermMar Test IgG Positieve en Negatieve Controle getest zijn voor HIV en hepatitis, moet de gebruiker altijd beschermende kledij dragen wanneer er met de control sera wordt gewerkt.

BIBLIOGRAFIE

Zie SpermMar Test IgA.

TECHNISCHE ONDERSTEUNING



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

