

SpermMar Test IgG

Témoins positifs et négatifs du SpermMar Test IgG

Référence du document : FP09 I02 R01 F.2

Édition : 07.12.2023

Utilisation à des fins de diagnostic in vitro uniquement.

Réactif à usage professionnel uniquement.

INTRODUCTION

Le sperme n'entrant pas en contact avec la circulation sanguine, le système reproducteur masculin ne contient en temps normal pas d'anticorps anti-spermatozoïdes. Cependant, si la barrière hémato-testiculaire est rompue, le système immunitaire peut détecter les spermatozoïdes matures comme des antigènes et former des anticorps anti-spermatozoïdes qui provoquent une subfertilité ou une infertilité. Les anticorps anti-spermatozoïdes appartiennent à deux classes immunologiques: les immunoglobulines (Ig)A et les anticorps IgG, qui peuvent être présentes dans l'échantillon de sperme ainsi que dans le sérum sanguin masculin. De plus, on peut parfois retrouver des anticorps anti-spermatozoïdes dans le sérum sanguin des femmes. Les anticorps IgG anti-spermatozoïdes sont cliniquement associés à l'infertilité immunologique (1-3), un dépistage peut donc aider à évaluer l'infertilité chez un couple.

USAGE PRÉVU

Le SpermMar Test IgG est un kit de diagnostic semi-quantitatif, non automatisé, permettant de détecter les anticorps anti-spermatozoïdes de la classe d'IgG sur les spermatozoïdes dans le sperme ou sérum humain. Il s'agit d'un test microscopique rapide et simple d'utilisation avec une population de tests correspondant aux couples infertiles. Le test peut être effectué sur un échantillon de sperme humain frais et non traité lors de l'application du SpermMar Test IgG direct, ou sur du sérum sanguin humain (d'hommes et de femmes) lors de l'utilisation du SpermMar Test IgG indirect. Le test avec SpermMar Test IgG peut aider à évaluer le diagnostic et la gestion de l'infertilité dans un couple.

Le témoin positif SpermMar Test IgG et le témoin négatif SpermMar Test IgG sont conçus pour contrôler les performances du SpermMar Test IgG indirect.

PRINCIPE DU TEST

Le test avec SpermMar Test IgG direct est réalisé en mélangeant du sperme frais non traité avec des particules de latex recouvertes d'IgG humaine et d'antisérum IgG anti-humaine. La formation d'agglutinats entre les particules de latex et les spermatozoïdes motiles indique la présence d'anticorps IgG sur les spermatozoïdes.

Dans le SpermMar Test IgG indirect, les spermatozoïdes motiles lavés du donneur sont incubés avec du sérum de patient dilué et désupplémenté d'origine masculine ou féminine. Si le sérum contient des anticorps anti-spermatozoïdes, ceux-ci couvriront les spermatozoïdes du donneur qui réagiront positivement lors d'un test avec SpermMar Test IgG ultérieur.

Les témoins positifs et négatifs SpermMar Test IgG sont utilisés comme matériel témoin du SpermMar Test IgG indirect et contiennent du sérum de patient prêt à l'emploi avec des taux d'anticorps anti-spermatozoïdes respectivement supérieurs à 80 % pour le témoin positif et inférieurs à 40 % pour le témoin négatif.

CODES DE RÉFÉRENCE

SpermMar Test IgG :

SPMG_S Kit unique SpermMar Test IgG – 50 tests

SPMG_C Kit complet SpermMar Test IgG – 50 tests

Témoin positif et négatif du test SpermMar Test IgG :

SPMG_P 1 flacon de 2,5 ml de sérum témoin positif pour le test SpermMar Test IgG.

SPMG_N 1 flacon de 2,5 ml de sérum témoin négatif pour le test SpermMar Test IgG.

MATÉRIEL FOURNI AVEC LE TEST

SpermMar Test IgG :

» 1 flacon contenant 0,7 ml de particules de latex SpermMar Test IgG

» 1 flacon contenant 0,7 ml d'antisérum SpermMar Test IgG

» Micro lames 76 x 26 mm*

» Caches de verre 24 x 40 mm*

» Pipettes microcapillaires calibrées à 10 microlitres*

» Poire en caoutchouc*

*kit complet uniquement

Témoins positifs et négatifs du test SpermMar Test IgG :

- » 1 flacon de 2,5 ml de sérum de patient décomplémenté dilué dans du milieu FertiCult Flushing sans albumine sérique humaine

Un certificat d'analyse et une fiche de données de sécurité sont disponibles sur demande ou peuvent être téléchargés sur notre site Internet (www.fertipro.com).

MATÉRIEL REQUIS, MAIS NON FOURNI

- » Microscope optique (avec un grossissement de 400 x à 600 x, à fond clair, fond noir ou à contraste de phase)
- » Pour effectuer le test SpermMar Test IgG indirect : Solution saline tamponnée au pH isotonique sans supplémentation protéique (p. ex. PBS, EBSS, HTF Hepes, Ham's F10...)
- » Pour effectuer le test SpermMar Test IgG indirect : Sperme de donneur motile testé négatif pour les IgG
- » Préservatif non spermicide (si nécessaire)
- » Plaque de microtitration (p. ex. Kima 650 101) / Tubes Eppendorf

Il convient de noter que les témoins positifs et négatifs du test avec SpermMar Test IgG ne sont pas fournis avec le IgG Test SpermMar et qu'ils doivent être achetés séparément.

MODE D'EMPLOI

Scanner le code-barres (ou télécharger le lien sur www.fertipro.com) pour visionner la vidéo de démonstration.



COLLECTE ET PRÉPARATION DE L'ÉCHANTILLON

Collecte de sperme

Des récipients standard de collecte de sperme doivent être utilisés. Ils sont généralement fabriqués en polypropylène et soumis à des tests de survie/motilité des spermatozoïdes, lorsque l'échantillon de sperme est recueilli par masturbation. Des préservatifs en plastique non toxique pour les spermatozoïdes doivent être utilisés lorsqu'une collecte de sperme par masturbation est déconseillée. Conserver le récipient de collecte de sperme à température ambiante avant d'y ajouter l'échantillon de sperme afin d'éviter toute variation importante de température susceptible d'affecter les spermatozoïdes. Idéalement, le sperme doit être examiné dans l'heure suivant l'éjaculation.

Collecte de sérum

L'échantillon de sang doit être prélevé dans des tubes de prélèvement de sérum sanguin standard. Il est important de suivre les instructions du fabricant des tubes de prélèvement. Chaque tube de sérum doit être retourné 10 fois après le prélèvement. Après avoir patienté 30 minutes pour permettre la coagulation, le tube doit être centrifugé (p. ex. 10 minutes à 1 000 g) pour séparer le sérum. Le sérum peut être conservé entre 2 et 8 °C pendant 7 jours maximum.

PRÉPARATION DU RÉACTIF

Les particules de latex SpermMar Test IgG sont prêtes à l'emploi. Cependant, elles doivent être soigneusement mélangées avant utilisation pour garantir une suspension homogène. L'antisérum SpermMar Test IgG est prêt à l'emploi.

Les témoins positifs et négatifs SpermMar Test IgG sont prêts à l'emploi. Les laisser reposer à température ambiante avant utilisation.

SPERMAR TEST IgG DIRECT

1. Laisser les réactifs et les échantillon reposer à température ambiante.
2. Sur une micro lame, placer :

» 10 µl de sperme frais non traité

» 10 µl de particules de latex SpermMar Test IgG

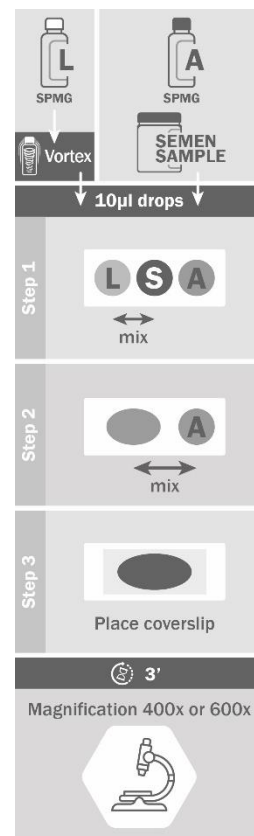
» 10 µl d'antisérum SpermMar Test IgG

Cette opération peut être effectuée à l'aide des pipettes capillaires de 10 microlitres fournies (test complet).

Remarque : Pour utiliser les pipettes microcapillaires : insérer l'extrémité de la pipette marquée d'un trait noir épais dans la poire en caoutchouc (environ 5 mm). Laisser la pipette se remplir par capillarité jusqu'à la première marque (10

microlitres). Ne pas aspirer de liquide dans la poire en caoutchouc. Maintenir la poire entre le pouce et le majeur et la presser délicatement pour expulser le liquide de la pipette.

3. Mélanger 5 fois l'échantillon et les particules de latex avec le bord d'un cache de verre.



- Mélanger l'antisérum avec le mélange échantillon-latex.
- Placer le cache-objet sur le mélange et observer le mélange au microscope optique en utilisant un grossissement de 400x ou 600x (un contraste de phase ou un éclairage en fond noir peut faciliter la lecture des lames).
- Lire le résultat après 2-3 minutes. Observer les particules de latex attachées aux spermatozoïdes motiles. Compter 100 spermatozoïdes pour déterminer le pourcentage de spermatozoïdes réactifs. Si aucune fixation des particules de latex aux spermatozoïdes n'est observée, recommencer la lecture après 10 minutes.

Remarque : Conserver la préparation dans une chambre humide (p. ex. dans une boîte de Pétri contenant un morceau de papier filtre humidifié).

SPERMAR TEST IgG INDIRECT

- Laisser tous les réactifs et échantillons reposer à température ambiante.
- Inactiver les échantillons de sérum en les chauffant à 56 °C pendant 30 minutes en cas d'utilisation d'éprouvettes en verre ou 45 minutes en cas d'utilisation d'éprouvettes en plastique.
- Ajuster le pH (en ajoutant du 0.1N NaOH ou du HCl) de la solution saline tamponnée au pH isotonique à 7,4-7,5.
- Laver les spermatozoïdes motiles des donneurs en les laissant migrer dans le milieu à pH ajusté (pH = 7,4 - 7,5). Une migration ascendante peut être réalisée dans des tubes à essai en verre ou en plastique stériles de 5 ml à fond rond à 37 °C pendant 1 heure. Ajuster la concentration de sperme à 20x10⁶ spermatozoïdes/ml avec la solution saline tamponnée au pH isotonique (pH = 7,4-7,5).
- Diluer en série l'échantillon de sérum inactivé à 1/16 avec une solution saline tamponnée au pH isotonique (pH = 7,4-7,5) dans une plaque de titrage ou un tube Eppendorf.
- Mélanger 50 µl de l'échantillon de sérum inactivé dilué (1/16) (étape 5) avec 50 µl de sperme de donneur mobile lavé (étape 4) dans un puits libre de la plaque de titrage. Incuber 60 minutes à 37 °C.
- Sur une micro lame, placer :
 - » 10 µl de mélange sperme-sérum (étape 6)
 - » 10 µl de particules de latex SpermMar IgG
 - » 10 µl d'antisérum SpermMar IgG
- Mélanger 5 fois l'échantillon et les particules de latex avec le bord d'un cache de verre.
- Mélanger l'antisérum avec le mélange échantillon-latex.
- Placer le cache-objet sur le mélange et observer le mélange au microscope optique en utilisant un grossissement de 400x ou 600x (le contraste de phase ou l'éclairage sur fond noir peuvent également être utilisés pour faciliter la lecture).
- Lire les résultats après 2 à 3 minutes. Observer les particules de latex attachées aux spermatozoïdes motiles. Compter 100 spermatozoïdes pour déterminer le pourcentage de spermatozoïdes réactifs. Si aucune fixation des particules aux spermatozoïdes n'est observée, recommencer la lecture après 10 minutes.

Remarque : Conserver la préparation dans une chambre humide (p. ex. dans une boîte de Pétri contenant un morceau de papier filtre humidifié).

MÉTHODE DE TÉMOINS POSITIF ET NÉGATIF SPERMAR IgG

- Laisser tous les réactifs et échantillons reposer à température ambiante.
- Laver les spermatozoïdes motiles des donneurs en les laissant migrer dans la solution saline isotonique tamponnée à pH ajusté (pH = 7,4-7,5). Une migration ascendante peut être réalisée dans des tubes à essai en verre ou en plastique stériles de 5 ml à fond rond à 37 °C pendant 1 heure. Ajuster la concentration de sperme à 20x10⁶ spermatozoïdes/ml avec la solution saline tamponnée au pH isotonique (pH = 7,4-7,5).
- Mélanger 50 µl de sérum témoin avec 50 µl de sperme de donneur mobile lavé dans un puits libre de la plaque de microtitration ou le tube Eppendorf. Incuber 60 minutes à 37 °C.
- Sur une micro lame, placer :
 - » 10 µl de mélange sperme-sérum
 - » 10 µl de particules de latex SpermMar Test IgG
 - » 10 µl d'antisérum SpermMar Test IgG
- Mélanger 5 fois l'échantillon et les particules de latex avec le bord d'un cache de verre.
- Mélanger l'antisérum avec le mélange échantillon-latex.
- Le cache-objet doit être placé sur le mélange et observé au microscope optique en utilisant un grossissement de 400x ou 600x (le contraste de phase ou l'éclairage sur fond noir peuvent également être utilisés pour faciliter la lecture).
- Lire les résultats après 2 à 3 minutes. Observer les particules de latex attachées aux spermatozoïdes motiles. Compter 100 spermatozoïdes pour déterminer le pourcentage de spermatozoïdes réactifs. Si aucune fixation des particules aux spermatozoïdes n'est observée, recommencer la lecture après 10 minutes.

Remarque : Conserver la préparation dans une chambre humide (p. ex. dans une boîte de Pétri contenant un morceau de papier filtre humidifié).

INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

SpermMar Test IgG

Si le test est correctement effectué, l'absence d'anticorps anti-spermatozoïdes sera mise en évidence par des spermatozoïdes se déplaçant librement et non recouverts

de particules de latex. Les particules de latex formeront elles-mêmes des agglutinats en croissance, prouvant ainsi la réactivité des réactifs. Cependant, en présence d'anticorps anti-spermatozoïdes, les spermatozoïdes seront partiellement recouverts de particules de latex. Dans certains cas, les spermatozoïdes peuvent même être immobilisés par la quantité massive de particules de latex adhérentes.

Dans le test avec SpermMar Test IgG direct, le diagnostic d'infertilité immunologique est suspecté lorsque 10 à 39 % des spermatozoïdes motiles sont recouverts de particules de latex ; si 40 % ou plus des spermatozoïdes sont couverts, une infertilité immunologique est hautement probable. Des tests complémentaires doivent confirmer le diagnostic. À chaque résultat positif, il est recommandé d'effectuer également le test avec SpermMar test IgA (FertiPro NV).

Dans le test avec SpermMar Test IgG indirect, la présence de 40 % ou plus de réaction entre les spermatozoïdes recouverts de particules de latex et les spermatozoïdes motiles constitue généralement la limite inférieure d'une liaison significative des anticorps.

Témoins positifs et négatifs du test SpermMar Test IgG

» Le témoin positif SpermMar Test IgG doit produire 80 % ou plus de spermatozoïdes motiles recouverts de particules de latex.

» Le témoin négatif SpermMar Test IgG doit produire moins de 40 % de spermatozoïdes motiles recouverts de particules de latex.

LIMITES DE LA MÉTHODE

Le test avec SpermMar Test IgG direct ne peut être réalisé que si des spermatozoïdes motiles sont présents dans le sperme. Les échantillons présentant une très faible concentration de spermatozoïdes et/ou une faible motilité ne peuvent pas être évalués, car l'évaluation doit s'effectuer sur 100 spermatozoïdes motiles après incubation avec les réactifs. Les cellules non motiles ne doivent pas être comptabilisées. Lorsque cela n'est pas possible, il est suggéré d'effectuer le test avec SpermMar Test IgG indirect sur le sérum sanguin.

Les témoins positifs et négatifs ne peuvent être appliqués que dans un test avec SpermMar Test indirect, et le sperme du donneur doit contenir des spermatozoïdes motiles négatifs pour les IgG.

CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCE

SpermMar Test IgG direct

Lorsque le test SpermMar Test IgG direct est comparé au test Immunobead direct, une bonne corrélation peut être déterminée entre les deux tests (4-7). Une corrélation positive a également été déterminée entre le test SpermMar Test IgG direct et la mesure par cytométrie en flux (8-10).

SpermMar Test IgG indirect

Lorsque le test SpermMar Test IgG indirect est comparé au test Immunobead indirect, une bonne corrélation peut être déterminée entre les deux tests (4, 5, 11). En outre, une bonne corrélation entre le test SpermMar Test IgG indirect et le test d'agglutination sur plateau a été déterminée (4, 12, 13).

RÉPÉTABILITÉ ET REPRODUCTIBILITÉ

La répétabilité et la reproductibilité ont été évaluées à l'aide d'échantillons présentant différents niveaux de sévérité de la réaction immunologique. Les CV_{intra} et CV_{inter} du test SpermMar Test IgG s'élevaient respectivement à 3,5 % et 3,23 %, ce qui est bien inférieur à 15 %, indiquant une répétabilité et une reproductibilité acceptables pour le test avec SpermMar Test IgG.

STOCKAGE/ÉLIMINATION

- Le SpermMar Test IgG permet de réaliser 50 tests SpermMar IgG individuels (in)directs pendant toute sa durée de conservation. Les témoins positifs et négatifs SpermMar Test IgG permettent d'effectuer 50 tests individuels répartis sur la durée de conservation. Une fois chaque test terminé, jeter tous les réactifs et matériaux utilisés. Bien refermer les flacons de réactif après chaque utilisation et les conserver entre 2 et 8 °C. Après ouverture, les réactifs et témoins SpermMar Test IgG sont stables pendant 18 mois à compter de la date de fabrication.
- Ne pas utiliser après la date d'expiration.
- Ne pas congeler.
- Les réactifs doivent être éliminés conformément aux réglementations locales relatives à l'élimination des dispositifs médicaux, en tenant compte du fait que ce dispositif contient des substances d'origine humaine et/ou animale.

AVERTISSEMENTS ET PRÉCAUTIONS

Toute matière organique humaine doit être considérée comme potentiellement infectieuse. Manipuler tous les échantillons comme s'ils étaient susceptibles de transmettre le VIH ou l'hépatite. Porter des vêtements de protection lors de la manipulation des échantillons.

Les particules de latex SpermMar Test IgG contiennent 0,1 % d'albumine de sérum bovin d'origine américaine, qui est certifiée par un certificat de conformité de la DEQM. En outre, le produit répond aux exigences européennes en matière de produits sanguins techniques traités.

Les particules de latex SpermMar Test IgG sont recouvertes d'IgG humaines, qui sont fabriquées de manière biotechnologique. Par conséquent, une infection par hépatite, VIH 1/2 ou d'autres maladies infectieuses peut être considérée comme impossible.

L'antisérum SpermMar Test IgG contient de l'antisérum de lapin à l'IgG humaine. Toute contamination est évitée grâce à l'ajout d'azote de sodium comme conservateur (< 1 g/l).

Les témoins positifs et négatifs SpermMar Test IgG contiennent du sérum humain, qui a été testé pour le VIH, l'hépatite B et l'hépatite C. Cependant, l'utilisateur doit toujours porter des vêtements de protection lors de la manipulation des sérums témoins.

Tout incident grave (tel que défini dans le Règlement européen 2017/746 relatif aux dispositifs médicaux de diagnostic in vitro) doit être signalé à FertiPro NV et, le cas échéant, à l'autorité compétente de l'État membre de l'UE dans lequel l'utilisateur et/ou le patient sont établis.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Cui D, Han G, Shang Y, Liu C, Xia L, Li L, et al. Antisperm antibodies in infertile men and their effect on semen parameters: a systematic review and meta-analysis. Clin Chim Acta. 2015;444:29-36.
2. Lombardo F, Gandini L, Dondero F, Lenzi A. Antisperm immunity in natural and assisted reproduction. Hum Reprod Update. 2001;7(5):450-6.
3. Francavilla F, Santucci R, Barbonetti A, Francavilla S. Naturally-occurring antisperm antibodies in men: interference with fertility and clinical implications. An update. Front Biosci. 2007;12:2890-911.
4. Andreou E, Mahmoud A, Vermeulen L, Schoonjans F, Comhaire F. Comparison of different methods for the investigation of antisperm antibodies on spermatozoa, in seminal plasma and in serum. Hum Reprod. 1995;10(1):125-31.
5. Khoo D, Feigenbaum SL, McClure RD. Screening assays for immunologic infertility: a comparison study. Am J Reprod Immunol. 1991;26(1):11-6.
6. Hellstrom WJ, Samuels SJ, Waits AB, Overstreet JW. A comparison of the usefulness of SpermMar and immunobead tests for the detection of antisperm antibodies. Fertil Steril. 1989;52(6):1027-31.

7. Marconi M, Nowotny A, Pantke P, Diemer T, Weidner W. Antisperm antibodies detected by mixed agglutination reaction and immunobead test are not associated with chronic inflammation and infection of the seminal tract. Andrologia. 2008;40(4):227-34.
8. Rasanen M, Agrawal YP, Saarikoski S. Seminal fluid antisperm antibodies measured by direct flow cytometry do not correlate with those measured by indirect flow cytometry, the indirect immunobead test, and the indirect mixed antiglobulin reaction. Fertil Steril. 1996;65(1):170-5.
9. Rasanen M, Lahteenmaki A, Saarikoski S, Agrawal YP. Comparison of flow cytometric measurement of seminal antisperm antibodies with the mixed antiglobulin reaction and the serum tray agglutination test. Fertil Steril. 1994;61(1):143-50.
10. Nikolaeva MA, Kulakov VI, Ter-Avanesov GV, Terekhina LN, Pshenichnikova TJ, Sukhikh GT. Detection of antisperm antibodies on the surface of living spermatozoa using flow cytometry: preliminary study. Fertil Steril. 1993;59(3):639-44.
11. Kay DJ, Boettcher B. Comparison of the SpermMar test with currently accepted procedures for detecting human sperm antibodies. Reprod Fertil Dev. 1992;4(2):175-81.
12. Hinting A, Vermeulen L, Comhaire F. The indirect mixed antiglobulin reaction test using a commercially available kit for the detection of antisperm antibodies in serum. Fertil Steril. 1988;49(6):1039-44.
13. Comhaire FH, Hinting A, Vermeulen L, Schoonjans F, Goethals I. Evaluation of the direct and indirect mixed antiglobulin reaction with latex particles for the diagnosis of immunological infertility. Int J Androl. 1988;11(1):37-44.

ASSISTANCE TECHNIQUE



FertiPro NV
 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



GLOSSAIRE DES SYMBOLES

Symboles tels que définis dans la norme ISO 15223			
	Référence catalogue		Numéro de lot
	Consulter les instructions d'utilisation		Fabricant
	Diagnostics in vitro		Limite de température
	Date de péremption		Attention
	Témoin négatif		Témoin positif
	Contient du matériel biologique d'origine animale		Contient du sang humain ou des dérivés du plasma
	Contient suffisamment pour 50 tests		
Symbole tel que défini dans la norme IVDR 2017/746			
	Marquage CE délivré par l'organisme notifié 2797		