

# SpermMar Test IgG

## SpermMar Test IgG Positive and Negative Controls

Dokumentum azonosító: FP09 I02 R01 F.2

Frissítés: 07.12.2023

In vitro diagnosztikai felhasználásra.

Kizárólag professzionális használatra szánt reagensek.

### BEVEZETÉS

Mivel a sperma nem kerül kapcsolatba a vérkeringéssel, a férfi ivarszervekben normális körülmények között nincsenek spermium elleni antitestek. Ha azonban a vér-here-gát sérül, előfordulhat, hogy az immunrendszer az érett spermiumokat antigénként ismeri fel, és ellenanyagot, antitesteket termel a spermiumok ellen, amelyek alacsony termékenységet, szubfertilítást, és meddőséget okoznak.

A spermium elleni antitestek két immunológiai osztályba tartoznak: az immunglobulin (Ig)A és IgG antitestek osztályába, és előfordulhatnak az ondómintában, valamint a férfi vérszérumban is. Ezenkívül esetenként a nők vérszérumban is megtalálhatók a spermium elleni antitestek. A spermium elleni IgG antitestek klinikai összefüggésben állnak az immunológiai meddőséggel (1-3), ezért a szűrés segítséget nyújthat a párok termékenységének megítélésében.

### RENDELTESSZERŰ HASZNÁLAT

A SpermMar Test IgG félkvantitatív, nem automatizált diagnosztikai teszt IgG osztályú spermium elleni antitestek kimutatására szolgál az emberi ondóban vagy szérumban. Ez egy gyors, könnyen használható mikroszkópos teszt, amelynek célsoportja terméketlen párok.

A vizsgálat a direkt (közvetlen) SpermMar IgG teszt alkalmazásakor frissen levett, kezeletlen emberi ondómintán, az indirekt (közvetett) SpermMar IgG teszt alkalmazásakor pedig emberi (férfiaktól és nőktől származó) vérszérumban végezhető. A SpermMar Test IgG segíthet a pár meddőségének a diagnosztizálásában és kezelésében.

A SpermMar Test IgG Positive Control és a SpermMar Test IgG Negative Control az indirekt SpermMar Test IgG teljesítményének ellenőrzésére szolgál.

### A vizsgálati módszer elve

A direkt SpermMar IgG tesztet úgy végzik, hogy a frissen levett, kezeletlen ondót keverik össze humán IgG-vel bevont latex-szemcsékkel és anti-humán IgG antiszérummal. Ha a motilis spermiumok agglutinátumot képeznek a latex-szemcsékkel, az spermium elleni IgG antitestek jelenlétét jelzi a hímivarsejteken.

Az indirekt SpermMar teszt IgG során a mosott, motilis donor spermiumokat hígított és dekomplementált, férfi vagy női eredetű szérumban inkubálják. Ha a szérumban spermium elleni antitesteket tartalmaz, azok hozzátapadnak a donor spermiumokhoz, amelyek később pozitív reakciót adnak a SpermMar IgG tesztben.

A SpermMar Test IgG Positive és Negative Control az indirekt SpermMar Test IgG ellenőrzésére szolgál, és olyan felhasználásra kész betegszérumot tartalmaz, amelynek spermium elleni antitest-szintje a pozitív kontroll esetében 80%-nál magasabb, a negatív kontroll esetében pedig 40%-nál alacsonyabb.

### A TESZTHEZ MELLÉKELT ANYAGOK

SpermMar Test IgG:

- » 1 fiola, ami 0,7 ml SpermMar Test IgG Latex Particles
- » 1 fiola, ami 0,7 ml SpermMar Test IgG Antiserum
- » Mikroszkóp-tárgylemezek 76 x 26 mm\*
- » Fedőlemezek 24 x 40 mm\*
- » 10 mikroliterre kalibrált mikrokapilláris pipetták\*
- » Pipettagumi, körte alakú\*

\*kizárólag a teljes készlettel

SpermMar Test IgG Positive és Negative Controls:

- » 1 fiola 2,5 ml dekomplementált betegszérum, amelyet emberi szérumbalbumin nélküli FertiCult Flushing öblítőközegben hígítottak.

Az analitikai tanúsítvány és az MSDS kérésre rendelkezésre áll, vagy letölthető a weboldalunkról ([www.fertipro.com](http://www.fertipro.com)).

### SZÜKSÉGES, DE NEM BIZTOSÍTOTT ANYAGOK

- » Non spermicidal condom (if required)
- » Microtiter plate (e.g. Kima 650 101) / Eppendorf tubes
- » Fénymikroszkóp (400-600x nagyításhoz, világos látómező, sötét háttér vagy fáziskontraszt)
- » Az indirekt SpermMar IgG teszt elvégzéséhez: Izotóniás pH pufferelt sóoldat fehérjekegészítő nélkül (PBS, EBSS, HTF Hepes, Ham's F10,...)
- » Az indirekt SpermMar IgG teszt elvégzéséhez: Motilis donorsperma, amely IgG-re tesztelve negatívnak bizonyult.
- » Nem spermaölvő óvszer (szükség esetén)
- » Mikrotiterlemez (pl. Kima 650 101) / Eppendorf csövek

Felhívjuk a figyelmét, hogy a SpermMar Test IgG Positive és Negative Control nem tartozik a SpermMar Test IgG csomaghoz, azokat külön kell megvásárolni.

### MÓDSZER

A szemléltető videó megtekintéséhez szkennelje be a vonalkódot (vagy kövesse a [www.fertipro.com](http://www.fertipro.com) oldalon található linket):



### Mintavétel és előkészítés

Ondó-mintavétel

A szabványos spermagyűjtő tartályoknak kell használni, ha a spermát maszturbációval gyűjtik. Ezek jellemzően polipropilénből készülnek, és a spermát túlélési/spermamotilitási vizsgálatot végeznek. Ha a maszturbációval történő ondó-mintavétel nem lehetséges, nem spermicid műanyag óvszereket kell használni. Mielőtt az ondómintát beletenné, tartsa az ondó-mintavételi edényt szobahőmérsékleten; ezzel elkerülhető a nagy hőingadozás, ami befolyással lehet a spermiumokra. Az ondó vizsgálatát ideális esetben az ejakulációt követő 1 óra belül kell elvégezni.

Vérszérumból mintavétel

A vérminta vételezése szabványos vérszérumgyűjtő csövekbe történik. Fontos, hogy betartsa a mintavételi csövek gyártójának utasításait. Minden egyes szérumsövet a levétel után 10-szer át kell fordítani, majd a véralvadás megtörténteig 30 perces várakozás után a csövet centrifugálni kell (pl. 10 percig 1000 g-n) a szérumból történő elválasztásához. A szérumból 2-8 °C-on legfeljebb 7 napig tárolható.

### A reagens előkészítése

A SpermMar Test IgG Latex Particles használatra készek, azonban használat előtt alaposan össze kell keverni őket, hogy homogén szuszpenziót kapjunk.

A SpermMar Test IgG Antiserum használatra készek.

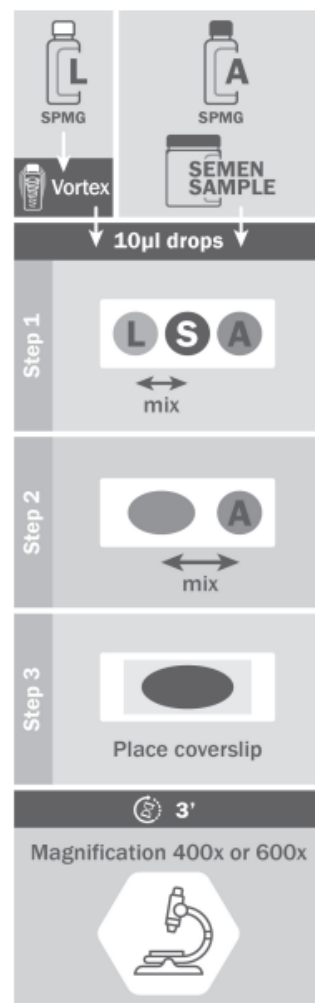
A SpermMar Test IgG Positive és Negative Controls használatra készek. Hagyja, hogy használat előtt a minták felveggyék a szobahőmérsékletet.

### DIRECT SPERMAR TEST IgG

1. Hagyja, hogy használat előtt a reagens és a minták felveggyék a szobahőmérsékletet.
2. Egy tárgylemezre helyezzen:
  - » 10 µl friss, kezeletlen ondót
  - » 10 µl SpermMar Test IgG Latex Particles
  - » 10 µl SpermMar Test IgG AntiserumEzt a mellékelt 10 mikroliteres kapillárispipettákkal lehet elvégezni (amely csak a teljes készlettel jár).

Megjegyzés : A mikrokapilláris pipetták használatához helyezze be a pipetta vastag fekete vonallal jelölt végét a pipettagumba (kb. 5 mm). Hagyja, hogy a pipetta a kapilláris hatás révén az első rovátkáig (10 mikroliter) feltöltődjön. Ne szívjon fel folyadékot a pipettagumba. A pipettagumit a hüvelyk- és a középső ujj közé fogva, óvatosan nyomja össze a gumit, hogy a folyadék kiürüljön a pipettából.

3. A mintát és a latex-szemcséket keverje össze 5-ször egy fedőlemez élével.



4. Keverje össze az anti-szérumot a Sample-Latex mixture keverékkel.
5. Tegye a fedőlemezt a keverékre, és tekintse meg a keveréket fénymikroszkóp alatt 400-szoros vagy 600-szoros nagyítással. A fáziskontrasztos vagy sötét háttérrel megvilágítás használata megkönnyítheti a tárgylemez leolvasását.
6. Olvassa le az eredményt 2-3 perc múlva. Figyelje meg, hogy vannak-e a motilis spermiumokhoz tapadt latex-szemcsék. Számoljon össze 100 spermiumot a reaktív spermiumok százalékos arányának meghatározásához. Ha nem észlelhetők a spermához tapadt latex-szemcsék, 10 perc elteltével végezze el újra a mérést.

*Megjegyzés: Tartsa a preparátumot nedves kamrában (pl. benedvesített szűrőpapírral bélelt Petri-csészében)*

#### **INDIRECT SPERMMAR TEST IgG**

1. Hagyja, hogy használat előtt a reagensek és a minták felvegyék a szobahőmérsékletet.
2. Inaktíválja a szérummintákat 56°C-on történő melegítéssel 30 percig, ha üveg kémcsöveket használ, illetve 45 percig, ha műanyag kémcsöveket.
3. Állítsa be az izotóniás pH-pufferelt sóoldat pH-ját (0,1 N NaOH vagy HCl hozzáadásával) 7,4-7,5-re.
4. Mossa át a motilis donorspermiumokat úgy, hogy hagyja őket felúszni a beállított pH-értékű tápoldatban (pH = 7.4 - 7.5). A felúsztatás elvégezhető 5 ml-es üveg vagy kerek aljú steril műanyag kémcsövekben 37°C-on 1 órán át. Állítsa be a spermiumkoncentrációt 20x10<sup>6</sup> spermium/ml-re az izotóniás pufferelt sóoldattal (pH = 7.4 - 7.5).
5. Az inaktívált szérummintát 1/16-os sorozatban hígítsa fel izotóniás pufferelt sóoldattal (pH = 7.4 - 7.5) titerlemezen vagy Eppendorf csőben.
6. Keverjen össze 50 µl hígított (1/16), inaktívált szérummintát (5. lépés) 50 µl átmosott, motilis donorspermiummal (4. lépés) a titerlemez egyik szabad mélyedésében. Inkubálja 60 percig 37°C-on.
7. Egy tárgylemezre helyezzen:
  - » 10 µl sperma-szérum keveréket (6. lépés)
  - » 10 µl SpermMar IgG Latex Particles
  - » 10 µl SpermMar IgG Antiserum
8. A mintát és a latex-szemcséket keverje össze 5-ször egy fedőlemez élével
9. Keverje össze az anti-szérumot a Sample-Latex mixture keverékkel.
10. Tegye a fedőlemezt a keverékre, és tekintse meg a keveréket fénymikroszkóp alatt 400-szoros vagy 600-szoros nagyítással. A fáziskontrasztos vagy sötét háttérrel megvilágítás használata megkönnyítheti a tárgylemez leolvasását.
11. Olvassa le az eredményt 2-3 perc múlva. Figyelje meg, hogy vannak-e a motilis spermiumokhoz tapadt latex-szemcsék. Számoljon össze 100 spermiumot a reaktív spermiumok százalékos arányának meghatározásához. Ha nem észlelhetők a spermához tapadt latex-szemcsék, 10 perc elteltével végezze el újra a mérést.

*Megjegyzés: Tartsa a preparátumot nedves kamrában (pl. benedvesített szűrőpapírral bélelt Petri-csészében).*

#### **MÓDSZER SPERMMAR IGG POSITIVE AND NEGATIVE CONTROL**

##### **ELJÁRÁS**

1. Hagyja, hogy használat előtt a reagensek és a minták felvegyék a szobahőmérsékletet.
2. Mossa át a motilis donorspermiumokat úgy, hogy hagyja őket felúszni a beállított pH-értékű tápoldatban (pH = 7.4 - 7.5). A felúsztatás elvégezhető 5 ml-es üveg vagy kerek aljú steril műanyag kémcsövekben 37°C-on 1 órán át. Állítsa be a spermiumkoncentrációt 20x10<sup>6</sup> spermium/ml-re az izotóniás pufferelt sóoldattal (pH = 7.4 - 7.5).
3. Keverjen össze 50 µl kontrollszérumot 50 µl átmosott, motilis donorspermiummal a titerlemez egyik szabad mélyedésében. Inkubálja 60 percig 37°C-on.
4. Egy tárgylemezre helyezzen:
  - » 10 µl sperma-szérum keveréket
  - » 10 µl SpermMar Test IgG Latex Particles
  - » 10 µl SpermMar Test IgG Antiserum
5. A mintát és a latex-szemcséket keverje össze 5-ször egy fedőlemez élével
6. Keverje össze az anti-szérumot a Sample-Latex mixture keverékkel.
7. Tegye a fedőlemezt a keverékre, és tekintse meg a keveréket fénymikroszkóp alatt 400-szoros vagy 600-szoros nagyítással. A fáziskontrasztos vagy sötét háttérrel megvilágítás használata megkönnyítheti a tárgylemez leolvasását.
8. Olvassa le az eredményt 2-3 perc múlva. Figyelje meg, hogy vannak-e a motilis spermiumokhoz tapadt latex-szemcsék. Számoljon össze 100 spermiumot a reaktív spermiumok százalékos arányának meghatározásához. Ha nem észlelhetők a spermához tapadt latex-szemcsék, 10 perc elteltével végezze el újra a mérést.

*Megjegyzés: Tartsa a preparátumot nedves kamrában (pl. benedvesített szűrőpapírral bélelt Petri-csészében).*

#### **AZ EREDMÉNYEK ÉRTELMEZÉSE**

##### **SpermMar Test IgG**

Ha megfelelően végezte el a vizsgálatot, a szabadon mozgó, hozzájuk tapadt latex-szemcsék nélküli spermiumok jelzik, hogy a sperma nem tartalmaz spermium elleni antitesteket. Maguk a latex-szemcsék egyre növekvő agglutinátumokat képeznek, ami a reagensek reaktivitását bizonyítja. Spermium elleni antitestek jelenlétében

azonban a spermiumokat részben be fogják fedni a latex-szemcsék. Egyes esetekben a spermiumok akár mozgásképtelenné is válhatnak a nagy mennyiségben hozzájuk tapadt latex-részecskék miatt.

A direkt SpermMar IgG teszt esetében az immunológiai meddség gyanúja merül fel, ha a motilis spermiumok 10-39%-át betakarják a latex-szemcsék; ha pedig a spermiumok 40%-át vagy annál többet fedik, akkor nagy valószínűséggel fennáll az immunológiai meddség. Javasoljuk a diagnózis alátámasztását más vizsgálatokkal. Pozitív eredmény esetén ajánlott a SpermMar IgA teszt (FertiPro NV) elvégzése is.

Az indirekt SpermMar IgG teszt esetében a bevonatos latex-szemcsék és a motilis spermiumok közötti 40%-os vagy annál nagyobb mértékű reakciót általában a szignifikáns antitest-kötődés elfogadott alsó határértéke.

#### **SpermMar Test IgG Positive and Negative Control**

» A SpermMar IgG Positive Control tesztnek legalább 80%-ban kell latex-szemcsékkel fedett motilis spermiumokat tartalmaznia.

» A SpermMar IgG Negative Control tesztnek kevesebb mint 40%-ban szabad latex-szemcsékkel fedett spermiumokat tartalmaznia.

#### **A MÓDSZER KORLÁTAI**

A direkt SpermMar IgG teszt csak akkor végezhető el, ha az ondómintában vannak motilis spermiumok. A nagyon alacsony spermiumkoncentrációjú és/vagy gyenge motilitású minták nem értékelhetők, mivel 100 motilis spermiumot kell vizsgálni a reagensekkel való inkubációt követően. Az immotilis sejteket számolásakor nem kell figyelembe venni. Ha ez nem megoldható, javasolt az indirekt SpermMar IgG teszt vérszérumon történő elvégzése.

A Positive és Negative kontrollok csak az indirekt SpermMar tesztben alkalmazhatók, és a donorspermának IgG-negatív, motilis spermiumokat kell tartalmaznia.

#### **TELJESÍTMÉNYJELLEMZŐK**

##### **DIRECT SPERMMAR TEST IgG**

A direkt SpermMar IgG teszt és az direkt Immunobead teszt összehasonlítása során a két teszt között jó korrelációt találtunk (4-7). A direkt SpermMar Test IgG és az áramlási citometriás mérési módszer között szintén pozitív korreláció volt kimutatható (8-10).

##### **INDIRECT SPERMMAR TEST IgG**

Az indirekt SpermMar IgG teszt és az indirekt Immunobead teszt összehasonlítása során, a két teszt között jó korrelációt találtunk (4, 5, 11). Jó korreláció volt megfigyelhető továbbá az indirekt SpermMar IgG teszt és a Tray agglutinációs teszt között (4, 12, 13).

#### **MEGISMÉTELHETŐSÉG ÉS REPRODUKÁLHATÓSÁG**

Az ismételhetőséget és a reprodukálhatóságot a különböző súlyosságú immunreakciókat mutató minták felhasználásával értékelték. A SpermMar Test IgG CV<sub>intra</sub> és CV<sub>inter</sub> értéke 3,5%, illetve 3,23%, ami, minthogy jóval 15% alatt van, a SpermMar IgA teszt elfogadható ismételhetőségéről és reprodukálhatóságáról tanúskodik.

#### **TÁROLÁS/ÁRTALMATLANÍTÁS**

- A SpermMar IgG teszt 50 különálló (in)direkt SpermMar IgG teszt elvégzésére szolgál, az eltarthatósági időn belül. A SpermMar IgG Positive és Negative Control teszt az eltarthatósági időn belül 50 különálló teszt elvégzésére szolgál. Valamennyi felhasznált reagenst és anyagot minden egyes teszt után ártalmatlanítani kell. Minden egyes használat után jól zárja le, és tárolja 2-8 °C-on a reagensüvegeket. A SpermMar Test IgG reagens a felbontás után a gyártási dátumtól számított 18 hónapig megőrzi stabilitását.
- A lejáratú idő után ne használja fel.
- Ne fagyassza le.
- A reagenst az orvostechnikai eszközök ártalmatlanítására vonatkozó helyi előírásoknak megfelelően kell ártalmatlanítani, figyelembe véve, hogy az eszközök állati eredetű anyagokat tartalmaznak.

#### **FIGYELMEZTETÉSEK ÉS ÓVINTÉZKEDÉSEK**

Minden emberi eredetű, szerves anyagot potenciálisan fertőzőnek kell tekinteni. Minden mintával úgy kell bánni, mint ami alkalmas lehet a HIV vagy a hepatitisz továbbadására. A minták kezelése során mindig viseljen védőruházatot.

A SpermMar Test IgG 0,1% USA-ból származó EDQM alkalmassági tanúsítvánnyal rendelkező szarvasmarha szérumbumint tartalmaz. A termék megfelel továbbá a kezelt technikai vérvérvételre vonatkozó európai követelményeknek.

A SpermMar Test IgG latex-szemcsék biotechnológiai úton előállított humán IgG-vel bevontak, ezért a hepatitisz, HIV 1/2 vagy más fertőző betegségekkel való fertőzés kizártnak tekinthető.

A SpermMar Test IgG Antiserum humán IgG ellenes nyúl antiszérumot tartalmaz. A kontaminációt nátrium-azid tartósítószer (< 1g/l) hozzáadásával akadályozzuk meg.

A SpermMar Test IgG Positive és Negative Controls emberi szérumot tartalmaz, bevizsgálat HIV, Hepatitis B és Hepatitis C szempontjából. Ugyanakkor javasoljuk, hogy a felhasználó mindig viseljen védőruházatot a kontrollszérumokkal való munka közben.

Minden bekövetkezett súlyos eseményt (a 2017/746 európai in vitro diagnosztikai orvostechnikai eszközrendelet meghatározása szerint) jelenteni kell a FertiPro NV-nek és adott esetben annak az uniós tagállam illetékes hatóságának, ahol a felhasználó és/vagy a beteg lakóhelye található.

#### HIVATKOZÁSOK

- 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.
- Lombardo F, Gandini L, Dondero F, Lenzi A. Antisperm immunity in natural and assisted reproduction. Hum Reprod Update. 2001;7(5):450-6.
- 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.
- 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.
- Khoo D, Feigenbaum SL, McClure RD. Screening assays for immunologic infertility: a comparison study. Am J Reprod Immunol. 1991;26(1):11-6.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.

- 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.
- 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.
- 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.
- 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.

#### ÜGYFÉL-MŰSZAKI TÁMOGATÁS



FertiPro NV  
 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



#### JELKÉPEK GLOSSZÁRIUM

Az ISO 15223-1 szabványban meghatározott szimbólumok			
	Katalógus-szám		Tételkód
	Lásd a használati utasítást		Gyártó
	In vitro diagnosztikai		Hőmérsékleti határérték
	Felhasználhatósági idő		Vigyázat
	Negatív kontroll		Pozitív kontroll
	Állati eredetű biológiai anyagot tartalmaz		Emberi vért vagy plazmaszármazékokat tartalmaz
	50 teszthez elegendő mennyiséget tartalmaz		
Az dokumentumában meghatározott szimbólum IVDR 2017/745			
	CE-jelölés a bejelentett szervezet által 2797		