ANTIGENES

Medizinische Labordiagnostika Soukou

SemenHos

(Seminal Hypo-Osmotic test/Spermien Hypo-Osmose Test/Test de hypo-osmotique des spermatozoïdes)

MANUAL PAGE 2-3

GEBRAUCHSANWEISUNG SEITE 4-5

INSTRUCTIONS (EN RÉDACTION)

ANTIGENES
Medizinische Labordiagnostika
Soukou
Hustadtring 151
44801 Bochum
Germany

Tel.: +49 234-91795580
Fax: +49 234-91795581
Email: info@antigenes.de
Homepage: www.antigenes.de

REF **Art.-No. ZR106020**
20 applications

IVD ***in vitro* diagnostics**

Manual

PLEASE READ CAREFULLY

SemenHos

(Seminal Hypo-Osmotic test)

Professional Use Only

Application

This SemenHos test is used to test the vitality of sperm cells. The hypo-osmotic swelling is based on the semi-permeability of the intact cell membrane and their ability of active water transport, in order not to burst. In sperms with intact membranes the flagellum swells up within 5 min. This change remains stable up to 30 min.

Principle

In this hypo-osmotic swelling test swelling of cells only occurs in vital cells with an intact membrane by using hypotonic solution.

Storage and stability

2-8°C. Sterile sampling. Contains no antibiotic.

24 months from date of manufacture. After opening use within 7 days.

Content

SemenHos solution 20 x 900 µl

Necessary utensils

- Coverslips (18 x 18 mm)
- Gloves
- Contrasting phase microscope
- Native ejaculate or washed sperm (105-110 µl)
- Slides
- Paper towels
- Pipettes and tips (10-100 µl)
- Water bath or heating cabinet (37°C)

Preparation of SemenHos solution

Preheat the SemenHos solution to 37°C

Procedure

1. Occasionally native ejaculate without additions includes hypo-osmotic sperm forms. Transfer 5-10 µl liquefied semen without air bubbles to a slide and cover it with cover slips. Microscope at 400x magnification. This is the zero-value.
2. Examine the percentage of sperms with swollen flagellum by observing 100 sperms, calculated in duplicate. Note this value note* (a_0 %).
3. Add 100 µl ejaculate without air bubbles to 900 µl preheated SemenHos solution and mix
4. Incubate this mixture for 10 min at 37°C.
5. Transfer 10 µl of the mixture to a slide and place and cover it with a cover slip.
6. Microscope at 200x or 400x magnification.
7. Repeat twice step 2 to 6.

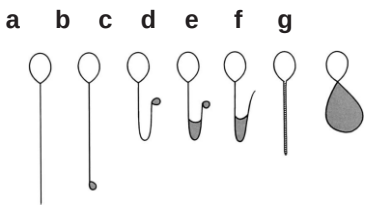

Fig.1: Schematic representation of typical morphological changes of human spermatozoa after exposure with hypo-osmotic solution (extract WHO 2010).
No change (a). Different tail changes (b-g). The swelling in the tail region is indicated in gray.

© ANTIGENES all rights reserved – www.antigenes.de – Ver. 01/2016

Evaluation

Percentage of vitality of spermatozoa

Calculate the difference between the percentage of sperms with swollen flagellum before and after incubation with the SemenHos solution.

Example:

Before incubation:

1. Count 2/100
2. Count 3/100

Mean value: 2.5 /100= 2.5%

After incubation:

1. Count 88/100
2. Count 97/100

Mean value: 92.5/100= 92.5%

Result: 92.5% - 2.5%= 90%

90 % of the sperms are vital

The SemenHos test is regarded as normal, if after incubation more than 60% of the sperms show a swollen flagellum. The sample is not normal when the result is less than 50% (WHO 2010).

Safety information / Precautions

(Please read also safety data sheets)

- All semen samples should be considered potentially infectious. Handle with all samples like HIV or hepatitis infected material.
- When working with samples and reagents wear always protective clothing (gloves, gowns, eye / face protection).
- All ingredients of reagents are classified as non-toxic

References

1. **Drevius L, Eriksson H, (1966)** Osmotic swelling of mammalian spermatozoa, Experimental *Cell Research*, 42: 136-56
2. **Jeyendran RS, et al, (1984)** Development of an assay to assess the functional integrity of the human sperm membrane and its relationship to the other sperm characteristics, *Journal of Reproduction and Fertility*, 70: 219-28
3. **WHO Press**, **(2010)** Laboratory manual for the examination and processing of human semen, 5Th edition
4. **Zaneveld LJD, (1984)** *Journal of Reproduction and Fertility*, 70:219-228. © Society for Reproduction and Fertility

ANTIGENES
Medizinische Labordiagnostika
Soukou
Hustadtring 151
D-44801 Bochum

Tel.: +49 234-91795580
Fax: +49 234-91795581
Email: info@antigenes.de
Homepage: www.antigenes.de

REF **Art.-Nr. ZR106020**

≥ 20 Anwendungen

IVD *in vitro* **Diagnostika**

Gebrauchsanweisung

BITTE SORGFÄLTIG LESEN

SemenHos

(Spermien Hypo-Osmose Test)

Nur für den professionellen Gebrauch

Anwendung

Der SemenHos-Test wird zur Vitalitätsprüfung der Spermien eingesetzt. Die hypoosmotische Schwellung beruht auf der Semipermeabilität der intakten Zellmembran und deren Fähigkeit des aktiven Wassertransportes, um nicht zu platzen. Bei Spermien mit intakten Membranen schwillt das Flagellum innerhalb von 5 min stark an, wobei diese Veränderung bis zu 30 min lang stabil bleibt.

Prinzip der Methode

Bei dem hypoosmotischen Schwelltest kommt es nur bei vitalen Zellen mit einer intakten Membran zum Anschwellen der Zellen in hypotoner Lösung.

Lagerung und Haltbarkeit

2-8°C (Kühlschrank). Sterile Entnahme, enthält kein Antibiotikum.

24 Monate ab Herstellungsdatum verwendbar. Nach dem Öffnen innerhalb von 7 Tagen aufbrauchen.

Inhalt

SemenHos-Lösung 20x 900 µl

Benötigte Utensilien

- Deckgläser (18 x 18 mm)
- Handschuhe
- Mikroskop mit Phasenkontrasteinrichtung
- Nativejakulat oder gewaschene Spermien
- (105-110 µl)
- Objektträger
- Papiertücher
- Pipetten und Spitzen (10-100 µl)
- Wasserbad oder Wärmeschrank 37°C

Vorbereitung der SemenHos-Lösung

Fläschchen auf 37°C vorwärmen.

Durchführung

1. Gelegentlich enthält Nativejakulat ohne Zusatz hypoosmotische Spermienformen. 5-10 µl verflüssigtes Ejakulat - möglichst ohne Luftblasen - werden als 0-Wert auf einen Objektträger aufgetragen. Anschließend ein Deckglas auflegen und bei 400x Vergrößerung mikroskopieren.
2. Von je 100 Spermien den Prozentsatz der Spermien mit geschwollenem Flagellum in Doppelbestimmung berechnen. Diesen Wert notieren*(a_0 %).
3. 100 µl Ejakulat möglichst ohne Luftblasen zu den 900 µl der erwärmten SemenHos-Lösung zufügen und vermischen.
4. Dieses Gemisch für 10 min bei 37°C inkubieren.
5. 10 µl des Gemisches auf einen Objektträger auftragen und ein Deckglas auflegen.
6. Mikroskopieren Sie bei Vergrößerung 200x oder 400x
7. Erneut zweimal bei je 100 Spermien den Prozentsatz der Spermien mit geschwollenem Flagellum ermitteln. Diesen Wert notieren*(a_1 %).

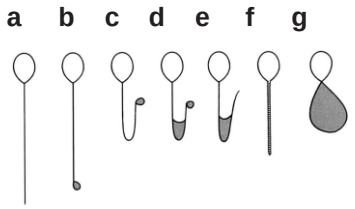

Abb.1: Schematische Darstellung typischer morphologischer Veränderungen menschlicher Spermatozoen nach Kontakt mit hypo-osmotischer Lösung (Auszug WHO 2010).
a keine Veränderungen.
b–g unterschiedliche Schwanzveränderungen. Die Schwellung im Schwanzbereich ist in grau gekennzeichnet.

© ANTIGENES all rights reserved – www.antigenes.de – Ver. 01/2016

Auswertungsziel

Prozentuale Vitalität der Spermatozoen

Berechnen Sie die Differenz zwischen dem prozentualen Anteil der Spermien mit geschwollenem Flagellum nach Inkubation ohne bzw. mit SemenHos-Lösung.

Beispiel:

ohne Inkubation:

1. Zählung 2/100
2. Zählung 3/100

Mittelwert: 2,5 /100= 2,5% =*(a_0 %).

Nach Inkubation mit SemenHos-Lösung:

1. Zählung 88/100
2. Zählung 97/100

Mittelwert: 92,5/100= 92,5% =*(a_1 %).

Testergebnis: (a_1 %)-(a_0 %)=92,5%-2,5%=90%

90% der Spermien sind vital

Der SemenHos-Test wird als normal betrachtet, wenn nach Inkubation mehr als 60% der Spermien ein geschwollenes Flagellum aufweisen. Die Probe ist nicht normal wenn das Ergebnis bei weniger als 50% liegt (WHO 2010).

Sicherheitshinweise / Vorsichtsmaßnahmen
(Bitte lesen sie auch die Sicherheitsdatenblätter)

- Alle Samenproben sollten als potentiell infektiös betrachtet werden. Behandeln Sie alle Proben so, als ob sie HIV oder Hepatitis übertragen könnten.
- Tragen Sie immer Sicherheitskleidung, wenn Sie mit Proben und Reagenzien arbeiten (Handschuhe, Kittel, Augen-/Gesichtsschutz).
- Alle Inhaltsstoffe der Reagenzien werden als nicht toxisch eingestuft.

Referenzen

1. **Drevius L, Eriksson H, (1966)** Osmotic swelling of mammalian spermatozoa, Experimental *Cell Research*, 42: 136-56
2. **Jeyendran RS, et al, (1984)** Development of an assay to assess the functional integrity of the human sperm membrane and its relationship to the other sperm characteristics, *Journal of Reproduction and Fertility*, 70: 219-28
3. **WHO Press**, **(2010)** Laboratory manual for the examination and processing of human semen, 5th edition
4. **Zaneveld LJD, (1984)** *Journal of Reproduction and Fertility*, 70:219-228. © Society for Reproduction and Fertility