ANTIGENES GmbH
Labordiagnostika
Römerstraße 20-22
D-58332 Schwelm

Tel.: +49 2336 9154958
Fax: +49 2336 9154957
Email: info@antigenes.de
Homepage: www.antigenes.de

REF **Art.-Nr. ZR11100**

80 Anwendungen

IVD ***in vitro* Diagnostika**

Gebrauchsanweisung

BITTE SORGFÄLTIG LESEN

SemenMar

(Spermien IgA, IgGTest)

Nur für den professionellen Gebrauch

Anwendung

“Immunologische Infertilität” beschreibt das Ausbleiben einer Konzeption als Folge von Störungen des Immunsystems an den reproduktiven Organen. Die überwiegende Mehrzahl dieser Störungen beruht auf dem Vorliegen von Anti-Spermatozoen-Antikörpern (ASA). ASA kann bei beiden Geschlechtern auftreten.

Immunglobuline (Antikörpern) werden als Abwehrmechanismen des Körpers gegen Fremdkörper oder -substanz betrachtet. Wenn der Körper eine "fremde" Substanz erkennt, versucht er, eine Immunität mittels Antikörper gegen die Substanz aufzubauen. Im Fall von Spermaantikörpern erkennt der Körper das Sperma jedoch als fremd an, baut Antikörper gegen ihn auf und beeinträchtigt so den Fortpflanzungsvorgang. Vom Abwehrsystem der Frau gebildete Antikörper hemmen die Spermien daran, durch den Zervixschleim hindurch zu gelangen und die Eizelle zu erreichen. Bei Männern können auch Antikörper die der Spermatozoen aufgelagert sind, die Passage der Samenzellen durch den Zervixschleim der Frau erschweren.

Ursachen für die Entwicklung dieser Antikörper sind möglicherweise Infektionen und /oder Verletzung im Genitaltrakt, oder eine autoimmune Erkrankung.

Spermienantikörper im Ejakulat gehören fast immer den IgA- und/oder IgG-Klassen an. Daten weisen darauf hin, dass IgA-Antikörper klinisch bedeutsamer als IgG-Antikörper sind, jedoch selten allein auftreten. Bei ASA im Serum handelt es sich vorwiegend um IgG, bei ASA im Ejakulat oder im Zervixmukus um IgA.

Prinzip der Methode

Für Screening-Untersuchungen können kombinierten Anti-Ig-Beads die alle Ig-Typenerkennen können benutzt werden. Mithilfe des Immun Beads Tests (IBT) können verschiedene Arten von Antikörpern gegen Spermien in unterschiedlichen biologischen Proben nachgewiesen werden, unter anderem in Blut, Zervixschleim und Samenzellen. Der Test kann das Vorhandensein von Antikörpern sowie den Schweregrad der Antikörperbildung anzeigen, so wie auch welcher Teil der Samenzellen speziell davon betroffen ist.

Die Art der ASA hat einen Einfluss auf die Spermatozoenfunktion nur dann, wenn komplementbindende Antikörper vorliegen. Eine Umfrage bei den reproduktionsmedizinischen Zentren in Großbritannien ergab, dass am häufigsten der MAR-Test („*Mixed antiglobulin reaction Test*“) oder der IBT (Immunobead-Test) angewendet wurde. Beide Tests sind einfach durchzuführen. Sie arbeiten mit Beads, die mit Antiimmunglobulinen gecoatet sind und sich an auf der Spermatozoenoberfläche gebundene ASA heften.

Die WHO bezeichnet den Mar-Test als einen obligatorischen Screening Test.

Der *in-vitro*-Nachweis von Antigenen oder Antikörpern ist nur möglich, wenn die Antigen–Antikörper-Reaktion sichtbar oder messbar gemacht wird. Die Auswahl der Nachweistechnik ist abhängig von den Eigenschaften des Antigens (Größe, Anzahl und Struktur der Antigendeterminanten), den Eigenschaften des korrespondierenden Antikörpers (Avidität und Spezifizität) und der Konzentration des zu bestimmenden Analyten. Antigen oder Antikörper werden prinzipiell nach folgenden Techniken bestimmt:

- Direkter Nachweis

- Indirekter Nachweis

- Nachweis auf Grund der Markierung eines Reaktionspartners.

Für die Bestimmung von IgG und IgA gegen Spermatozoen wird der direkten Nachweise mit blauen (IgG) und roten (IgA) Mikrosphären eingesetzt.

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

Lagerung und Haltbarkeit

Im Kühlschrank bei 2-8°C aufbewahren (Nicht einfrieren).

18 Monate ab Herstellungsdatum

Inhalt

1 Fläschchen mit 300 µl Latexpartikeln (3 µm Durchmesser) beschichtet mit spez. Anti-IgG und Anti-IgA.

Hinweis: konserviert mit Natriumazid (End-konzentration 0,09%).

Benötigten Utensilien

- Deckgläser (18 x 18 mm)
- Feuchtkammer
- Handschuhe
- Lichtmikroskop, 400-600x Vergrößerung
- Samenejakulat (10 µl)
- Objektträger
- Papiertücher
- Pipetten und Spitzen (0,5-10 µl)

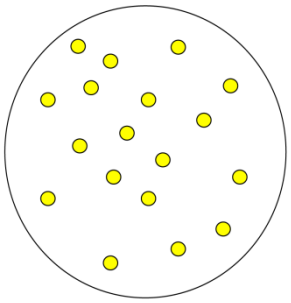
Durchführung des direkten Tests der IgA/gG-Klasse auf humanen Spermatozoen

1. Samenprobe und Reagenzien auf Raumtemperatur erwärmen. Nur unbehandeltes oder ungewaschenes Sperma verwenden.
2. 3,5 µl frisches Sperma und 3,5 µl Latexpartikel werden auf einen Objektträger aufgetragen (Latexpartikel vor Gebrauch gut schütteln).
3. Mischen Sie die Samenprobe mit den Latexpartikeln 5x mit der Pipettenspitze.
4. Legen Sie das Deckglas auf die Mischung und inkubieren in Feuchtkammer.
5. Nach 3 Minuten erfolgt die Auswertung. Untersuchen Sie die Probe unter einem Lichtmikroskop bei 400-600x Vergrößerung. Es ist eventuell von Vorteil, den Objektträger unter Phasenkontrast oder Dunkelfeld auszuwerten Bei positivem Befund lagern sich die Latexpartikel an die motilen Spermien. Diese Reaktion zwischen den Spermien und den Latexpartikeln zeigt an, dass Anti-Spermien-Antikörper vorhanden sind. Zählen Sie 100 Spermien aus, um den Anteil der IgA-positiven Spermien zu ermitteln. Zählen Sie erneut nach 10 Minuten aus.

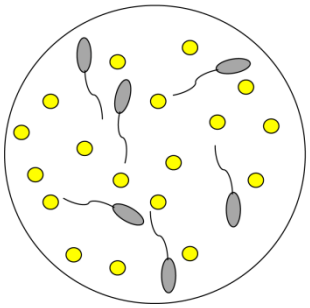
Bewahren Sie die Objektträger während der Wartezeit in feuchter Umgebung auf (z.B. in einer Petrischale mit feuchtem Filterpaper).

Schematische Darstellung der Durchführung des MAR-Tests

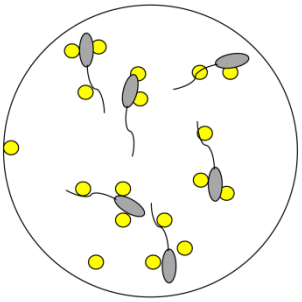
3,5 µl IgG, IgA-Latexpartikel



Zugabe von 3,5 µl frischem nativem Sperma



Latexpartikel und Sperma 5x mischen



Auswertung

Ein Verdacht auf eine immunologische Infertilität liegt vor, wenn 10-39% der motilen Spermien anhaftende Latexpartikel aufweisen. Wenn 40% oder mehr der Spermien anhaftende Latexpartikel besitzen, ist eine immunologische Infertilität sehr wahrscheinlich.

Der direkte IgG-Test kann nur mit motilen Spermien durchgeführt werden. Samenproben mit einer sehr niedrigen Spermienkonzentration oder einer geringen Anzahl an motilen Spermien können zu fehlerhaften Ergebnissen führen. Es wird daher empfohlen, eine größere Anzahl auszuzählen.

Die Entscheidung für eine ART-Therapie sollte nicht hauptsächlich vom Ergebnis des IgG-Tests abhängig gemacht werden, sondern als ein zusätzlicher Faktor neben der Spermienanzahl, -motilität, -morphologie und weiteren Merkmalen bewertet werden.

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

Sicherheitshinweise/ Vorsichtsmaßnahmen

- 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).
- Probeobjektträger und restliche Probe sollten nach der Auswertung inaktiviert und anschließend entsorgt werden
- SemenMar enthält 0,1 % Rinderserumalbumin

Referenzen

1. Ackerman S, Mc Guire G, Fulgham DL and Alexander N (1988). An evaluation of a commercially available assay for the detection of antisperm antibodies. Fertil Steril.,49:732-734
2. Boettcher B, Hjort T, Rumke PH, Shulman S and Vyazov OE (eds) (1977). Auto and isoantibodies 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.
3. Comhaire FH and Kunnen M (1985). Factors affecting the probability of conception after treatment of subfertile men with varicocele by transcatheter embolisation with Bucrylate. Fertil Steril.,43:781-786
4. Comhaire FH, Hinting A, Vermeulen L, Schoonjans F and Goethals I (1987). Evaluation of the direct and indirect mixed antiglobuline reaction with latex particles for the diagnosis of immunological infertility. Int. J. Androl.,11:37-44
5. Friberg J (1980). Immunoglobulin concentration in serum and seminal fluid from men with and without sperm-agglutinating antibodies. Obstet. Gynecol.,136:671-675
6. Golomb J, Vardinon H, Homonnai ZT, Braf Z and Yust I (1986). Demonstration of antispermatozoal antibodies in varicocele-related infertility with an enzymlinked Immunosorbent assay (ELISA). Fertil Steril,45: 397-402
7. Jager S, Kremer J and Van Slochteren-Draaisma T (1987). 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.,23:12-21
8. Jager S, Kremer J, Kuiken J and Van Slochteren-Draaisma T (1980). Immunoglobulin class of antispermatozoal antibodies from infertile men and inhibition of *in vitro* sperm penetration into cervical mucus, Int J Androl.,3:1-14
9. Kay DJ and Boettcher B (1992). Comparison of the SpermMar test with currently accepted procedures for detecting human sperm antibodies. Reprod. Fer. Dev.,4:175-181
10. .Krapez JA, Hayden CJ, Rutherford AJ, Balen AH (1998). Survey of the diagnosis and management of antisperm antibodies. Hum. Reprod,13:3363-3367
11. Krause, Walter (2011) in: Andrologie, Krankheiten der männlichen Geschlechtsorganen, 4. Auflage, Georg Thieme Verlag:205-210
12. Kremer J and Jager S (1992). The significance of antisperm antibodies for sperm cervical mucus interaction. Hum. Reprod.,7:781-784
13. Rumke P (1976).The origin of immunoglobulins in semen. Clin. Exp. Immunol.,17:287-297
14. Santen-Swerdloff (1986) in: Basic and clinical endocrinology, male reproductive dysfunction:439-456
15. Shulman JF and Shulman S (1982). Methylprednisolone treatment of immunologic infertility in the male. Fertil Steril.,38:591-599
16. Stedronska J and Hendry WF (1983).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.,3:89-91
17. Thomas L (2012) in: Thomas L (8.ed) Labor und Diagnose. Bd.2. Th-Books Verlagsgesellschaft GmbH Frankfurt/ Main:2227-2247
18. Vermeulen L and Comhaire FH (1983). 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 11 (suppl.):381-384
19. WHO Press, (2010) Laboratory manual for the examination and processing of human semen. 5th edition

REF Katalognummer

Gebrauchsanweisung zurate ziehen

IVD *in vitro* Diagnostika

Temperaturbegrenzung

LOT Chargencode