

CatFlux

Lösungen für die Durchführung des CatSper-Tests

Häufig gestellte Fragen



Sehr geehrte Kundin, sehr geehrter Kunde,

mit diesem Dokument möchten wir Ihnen unser Produkt "CatFlux" und dessen Anwendung beim CatSper-Test vorstellen sowie den wissenschaftlichen Hintergrund dazu erläutern, um Ihnen die Integration dieser innovativen Diagnostik in Ihre Praxis zu erleichtern.

Bei weiteren Fragen steht Ihnen das Team von Truion gerne zur Verfügung!

Häufig gestellte Fragen

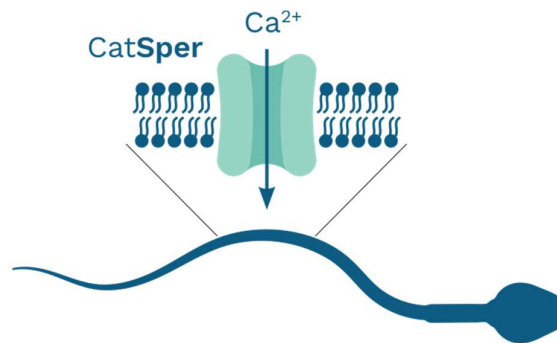
1. Einführung in CatSper und CatSper-bedingte Unfruchtbarkeit.....	3
Was ist CatSper und welche Rolle spielt es bei der Befruchtung?	3
Wie ist CatSper der „Schlüssel zur Eizelle“ und was bedeutet es für Patienten, wenn es nicht funktioniert?.....	4
Wie häufig tritt ein CatSper-Defekt auf?.....	5
Können Spermien mit einem CatSper-Defekt durch eine Spermaanalyse identifiziert werden?	5
Wie hilft der CatSper-Test in diesem Fall?.....	5
2. Integration des CatSper-Tests in Ihrer Klinik oder Praxis.....	6
Was bietet der CatSper-Test?	6
Welche Patienten sind die Zielgruppe für den CatSper-Test?.....	6
Ist es sinnvoll den CatSper-Test durchführen, wenn bereits eine ICSI-Indikation vorliegt?	6
Wie gehe ich vor, wenn ein Testergebnis auf einem CatSper-Defekt hinweist?.....	6
Welche Art von genetischer Analyse wird empfohlen? Werden spezialisierte Genetiker dafür benötigt?	7
Gibt es andere diagnostische Methode zur Identifizierung von CatSper-bedingter männlicher Unfruchtbarkeit?	7
3. Durchführung eines CatSper-Tests mit CatFlux in Ihrem Labor.....	8
Wie funktioniert ein CatSper-Test?	8
Was ist das Testprinzip?	8
Muss der Patient eine zusätzliche Samenprobe für den CatSper-Test abgeben?	9
Kann der Test mit kryokonservierten Spermien durchgeführt werden?	9
Kann der Test mit aufbereitetem Ejakulat durchgeführt werden?.....	9
Wie viele Spermien müssen gezählt werden?	9
Wie lange ist die Haltbarkeit?.....	9
Was sind die Sensitivität und Spezifität des Tests?.....	9
Was tun, wenn der CI unter dem Schwellenwert (weniger als 80) liegt, d. h. wenn noch motile Spermien in der Testlösung vorhanden sind?.....	10
Wo können die CatFlux-Lösungen für die Durchführung eines CatSper-Tests bezogen werden?	10

1. Einführung in CatSper und CatSper-bedingte Unfruchtbarkeit

Was ist CatSper und welche Rolle spielt es bei der Befruchtung?

Spermien müssen lange Distanzen zurücklegen und verschiedene Barrieren im weiblichen Fortpflanzungstrakt überwinden, um die Eizelle zu erreichen und zu befruchten. Verschiedene physikalische und chemische Signale unterstützen die Befruchtung, indem sie das Schwimmverhalten der Spermien beeinflussen. Auf molekularer Ebene wird dieses Verhalten durch die intrazelluläre Konzentration von Kalziumionen reguliert.

Der wichtigste Zugang für Kalziumionen ist ein spermien-spezifischer Ionenkanal im Flagellum, der sogenannte CatSper-Kanal (Cation channel of Sperm). Dieser Kanal spielt eine zentrale Rolle bei der Steuerung des Spermienverhaltens. CatSper wird durch Hormone im Eileiter, insbesondere Progesteron, aktiviert, das von den Cumuluszellen um die Eizelle herum freigesetzt wird.



In der Nähe der Eizelle löst die Aktivierung von CatSper einen hyperaktiven Schlag des Flagellums aus. Die Hyperaktivierung ist durch eine kräftige, peitschenartige Bewegung des Flagellums gekennzeichnet, die notwendig ist, um die schützende Eihülle (Zona pellucida) zu durchdringen.

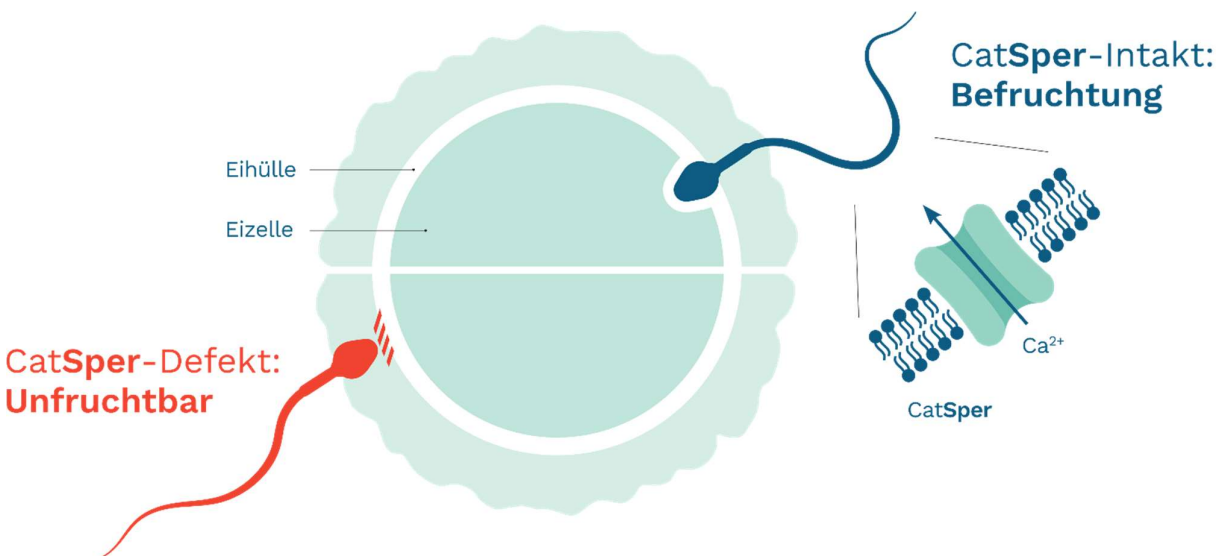


Überlagerte Bildserie von zwei Schlagzyklen des Flagellums einer einzelnen Spermienzelle vor (links) und nach der Stimulation mit Progesteron (rechts). Im Gegensatz zum symmetrischen, niederamplitudigen Flagellumschlag (links) ist der hyperaktivierte Schlag (rechts) asymmetrisch und weist eine hohe Amplitude auf.

Der CatSper-Kanal-Komplex besteht aus mehr als 15 Untereinheiten, die in Genen auf verschiedenen Chromosomen verteilt sind. Obwohl Frauen ebenfalls CatSper-Gene besitzen, werden diese ausschließlich in Spermien exprimiert. Daher beeinflussen Defekte in CatSper-Genen nicht die weibliche Fruchtbarkeit. Dennoch können sie von der Mutter an die nächste Generation weitergegeben werden – was möglicherweise zu einer CatSper-bedingten Unfruchtbarkeit bei männlichen Nachkommen führt.

Wie ist CatSper der „Schlüssel zur Eizelle“ und was bedeutet es für Patienten, wenn es nicht funktioniert?

CatSper löst die Spermien-Hyperaktivierung aus und fungiert als „Schlüssel zur Eizelle“: Spermien mit CatSper-Defekten können sich zwar an die Hülle der Eizelle binden, aber nicht in sie eindringen (Young & Schiffer et al., 2024). Männer mit einem CatSper-Defekt können daher auf natürlichem Weg nicht zeugen, und die meisten reproduktiven Behandlungen bleiben wirkungslos. Hormonelle Ovulationsinduktion (OI), intrauterine Insemination (IUI) und konventionelle In-vitro-Fertilisation (IVF) setzen voraus, dass die Spermien die Eihülle durchdringen, was bei einem CatSper-Defekt nicht möglich ist. Nur die intrazytoplasmatische Spermieninjektion (ICSI), bei der Spermien direkt in die Eizelle injiziert werden, umgeht dieses Problem und ist daher die einzige wirksame Behandlung für CatSper-bedingte Infertilität.



Die Herausforderung besteht darin, dass ein CatSper-Defekt zwar verhindert, dass Spermien eine Eizelle befruchten, aber die Ergebnisse einer Standard-Samenanalyse oft unauffällig bleiben (siehe Tabelle unten). Das liegt daran, dass solche Analysen sich nur auf einfache Parameter wie Morphologie, Spermienzahl und Beweglichkeit fokussieren, ohne tiefere funktionelle Aspekte zu prüfen, bei denen CatSper eine wichtige Rolle spielt.

Patient	Samenanalyse	OI	IUI	IVF	ICSI
1	normal	frustran		frustran	erfolgreich
2	normal	frustran		frustran	erfolgreich
3	normal	frustran		frustran	erfolgreich
4	normal		frustran		erfolgreich
5	normal		frustran	frustran	erfolgreich
6	normal	frustran			erfolgreich
7	normal				
8	Teratozoospermie	frustran			erfolgreich

Abkürzungen: OI – Ovulationsinduktion; IUI – intrauterine Insemination; IVF – In-vitro-Fertilisation; ICSI – intrazytoplasmatische Spermieninjektion. Leere Felder: Behandlung nicht durchgeführt. Frustran: Alle Zyklen der jeweiligen Behandlung sind gescheitert. Erfolgreich: Mindestens ein Zyklus der jeweiligen Behandlung führte zur Befruchtung mindestens einer Eizelle. Quelle: Young & Schiffer et al., 2024.

Wie häufig tritt ein CatSper-Defekt auf?

Patienten mit CatSper-Defekten häufen sich verständlicherweise in Fertilitätskliniken. Unter unfruchtbaren Männern mit Normozoospermie, wie in der Studie von Young & Schiffer et al. (2024) beschrieben, lag die Prävalenz bei 1,2 %. Eine detaillierte Aufschlüsselung der Studiendaten ist dort verfügbar, jedoch sind weitere klinische Studien erforderlich, um die tatsächliche Prävalenz genauer zu schätzen. Diese hohe Prävalenz unter unfruchtbaren Patienten mit Normozoospermie macht den CatSper-Defekt zur häufigsten bekannten Ursache für unerklärte männliche Unfruchtbarkeit.

Können Spermien mit einem CatSper-Defekt durch eine Spermaanalyse identifiziert werden?

Nein. Männer mit einem CatSper-Defekt weisen oft vollständig normale Samenparameter in der Standard-Spermaanalyse auf: CatSper-Defekte beeinflussen weder die Spermienzahl, die Morphologie noch die Basalmotilität. Nach den WHO-Kriterien werden diese Patienten in der Regel mit Normozoospermie eingestuft, was zu einer Diagnose von „unerklärter Infertilität“ führt. Ein CatSper-Defekt schließt jedoch andere Begleitprobleme wie Teratozoospermie nicht aus..

Wie hilft der CatSper-Test in diesem Fall?

Am Centrum für Reproduktionsmedizin und Andrologie (CeRA) des Universitätsklinikums Münster wurde ein einfacher und effektiver Test zur Beurteilung der CatSper-Funktion entwickelt. Dieser „CatSper-Test“ kann routinemäßig als Teil einer Samenanalyse durchgeführt werden. Der Test wurde erstmals in einer wissenschaftlichen Studie beschrieben, die über 2300 andrologische Patienten untersuchte.

Young & Schiffer et al., **Human fertilization in vivo and in vitro requires the CatSper channel to initiate sperm hyperactivation.** The Journal of Clinical Investigation 2024;134(1): e173564. www.jci.org/articles/view/173564



2. Integration des CatSper-Tests in Ihrer Klinik oder Praxis

Was bietet der CatSper-Test?

Da alle Methoden zur Untersuchung der CatSper-Funktion (z. B. Elektrophysiologie oder Fluorometrie) aufgrund ihrer Komplexität im Wesentlichen auf wissenschaftliche Forschungseinrichtungen beschränkt sind, stellt der CatSper-Test der allererste routinediagnostische Test dar, um Patienten auf diese CatSper-bedingte Unfruchtbarkeit zu testen.

Als häufigste bekannte Ursache für unerklärte männliche Infertilität wird der CatSper-Test neben der ersten oder zweiten Samenanalyse bei unfruchtbaren Paaren empfohlen. Dies ermöglicht eine frühzeitige Erkennung von CatSper-bedingter Unfruchtbarkeit und verhindert langwierige Versuche natürlicher Empfängnis oder ineffektive Inseminations- oder IVF-Zyklen. Ein positives Testergebnis kann Paare frühzeitig zu einer ICSI als gezielte Behandlung führen.

Welche Patienten sind die Zielgruppe für den CatSper-Test?

Der CatSper-Test richtet sich an unfruchtbare männliche Patienten, die bisher keine eigenen Kinder gezeugt haben. Bei Patienten mit einer ICSI-Indikation oder solchen, die nur durch ICSI eine Schwangerschaft erreichten, kann der Test Aufschluss darüber geben, warum die Befruchtung auf natürlichem Weg oder durch andere Therapieoptionen scheiterte.

Ist es sinnvoll den CatSper-Test durchführen, wenn bereits eine ICSI-Indikation vorliegt?

In bestimmten Fällen, ja. Einerseits können eine ICSI-Indikation und ein CatSper-Defekt gleichzeitig vorliegen. Andererseits bietet der Test frühzeitig Einblicke in ein erbliches Infertilitätsrisiko, das männliche Nachkommen betreffen könnte. Wenn der Vater einen CatSper-Defekt hat, besteht eine hohe Wahrscheinlichkeit, dass der Sohn ihn erbt, was seine zukünftige Fruchtbarkeit beeinträchtigen kann.

Wie gehe ich vor, wenn ein Testergebnis auf einem CatSper-Defekt hinweist?

Der CatSper-Test mit CatFlux weist eine bemerkenswerte Sensitivität und Spezifität auf (siehe unten), ist jedoch allein kein endgültiger Beweis für einen CatSper-Defekt und sollte auch nicht als alleinige Entscheidungsgrundlage für Therapien verwendet werden. Vielmehr liefert der Test wertvolle Informationen zur Unterstützung von ärztlichen Entscheidungen im Kontext des individuellen Patienten. Wie bei den meisten diagnostischen Tests ist eine Bestätigung erforderlich, um eine fundierte Diagnose oder Therapieempfehlung abzugeben. Bei einem Testergebnis, das auf einen Defekt hinweist, wird eine weiterführende Diagnostik wie eine genetische Analyse empfohlen.

Welche Art von genetischer Analyse wird empfohlen? Werden spezialisierte Genetiker dafür benötigt?

In den meisten Fällen von CatSper-Defekten ist das CATSPER2-Gen auf Chromosom 15 betroffen. Die erste genetische Untersuchung erfolgt daher typischerweise mittels PCR-basierter Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification (MLPA). Diese molekulare Technik wird häufig verwendet, um Kopienzahlvariationen wie Deletionen oder Duplikationen in spezifischen DNA-Regionen zu identifizieren. Ein MLPA-Test zur Erkennung einer CATSPER2-Deletion kann problemlos mit einem kommerziellen Kit durchgeführt werden¹, was die genetische Untersuchung für Genetiker einfach gestaltet. Falls der MLPA-Test keine Deletion feststellt, können weitergehende Tests notwendig sein. In solchen Fällen empfehlen wir eine Konsultation mit einer Institut, die auf reproduktive Genetik spezialisiert ist².

Gibt es andere diagnostische Methode zur Identifizierung von CatSper-bedingter männlicher Unfruchtbarkeit?

Kurz gesagt: Nein. In Bezug auf die Funktionalität des CatSper-Kanals bleibt der CatSper-Test derzeit konkurrenzlos.

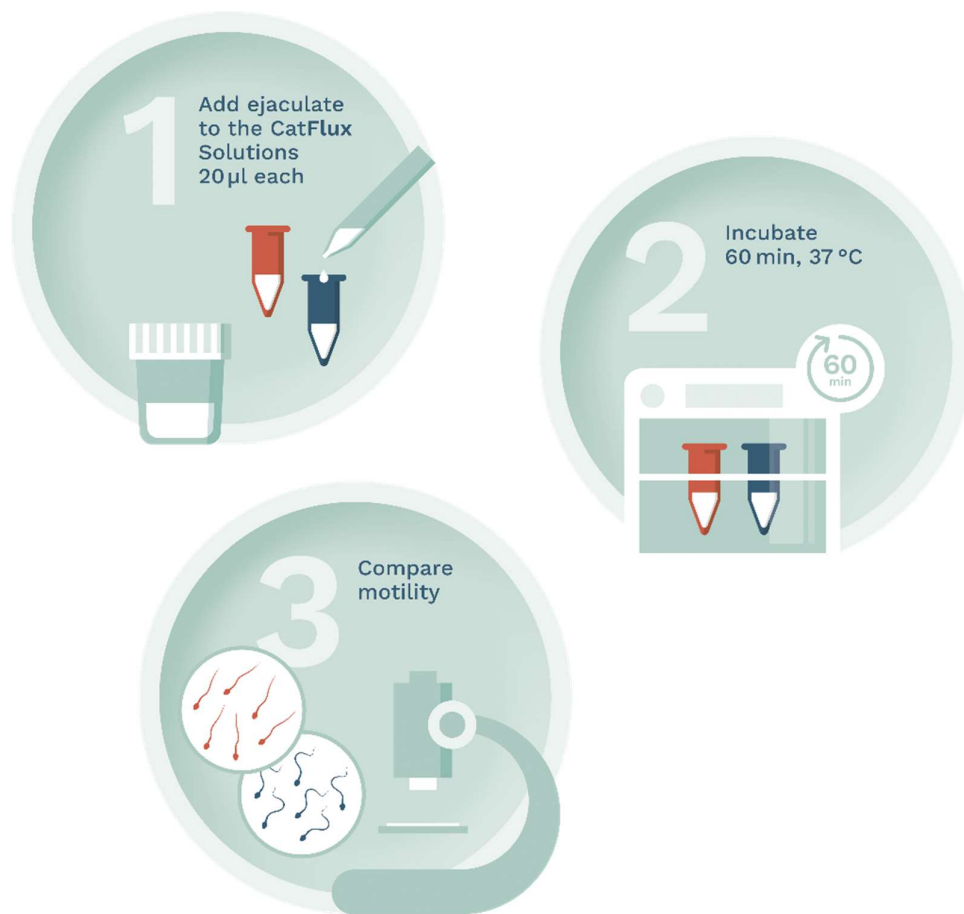
¹ Verfügbar von MRC Holland: <https://www.mrcholland.com/product/P461>

² Zum Beispiel, der Institut für Reproduktionsgenetik der Universität Münster <https://www.medizin.uni-muenster.de/en/reprogenetik/the-institute.html>

3. Durchführung eines CatSper-Tests mit CatFlux in Ihrem Labor

Wie funktioniert ein CatSper-Test?

Der Test lässt sich nahtlos in den Workflow einer standardmäßigen Samenanalyse integrieren und erfordert nur wenige Minuten an Arbeitszeit. Neben der üblichen Laborausstattung – wie einem Lichtmikroskop zur Beurteilung der Spermienmotilität, Pipetten und einem 37 °C-Inkubator – sind lediglich die speziell formulierten CatFlux-Lösungen notwendig. Eine detaillierte Gebrauchsanweisung bietet eine schrittweise Anleitung für Fachkräfte..



(1) Jeweils 20 µl einer Samenprobe wird zu den CatFlux Kontroll- und Testlösung hinzugegeben und bei 37 °C inkubiert. (2) Nach 60 Minuten werden die Mischungen auf einen Objektträger pipettiert und (3) der Anteil motiler Spermien unter dem Mikroskop beurteilt. Eine Konsultation der detaillierten Gebrauchsanweisung, die mit CatFlux bereitgestellt wird, ist unbedingt erforderlich.

Was ist das Testprinzip?

Der CatSper-Test übersetzt die komplexe molekulare Funktion des Kalziumionenkanals CatSper – der normalerweise nur mit hochentwickelten Methoden wie der Elektrophysiologie gemessen werden kann – in eine einfache, leicht ablesbare zelluläre Reaktion: den Verlust der Spermienmotilität. Mit CatFlux wird die Ionenhaushalt der

Spermien massiv gestört. Diese Störung tritt jedoch nur dann auf, wenn funktionelle CatSper-Kanäle im Flagellum der Spermien vorhanden sind. Fehlt CatSper oder ist es nicht funktionsfähig, bleiben die Spermien unempfindlich gegenüber der Wirkung der CatFlux-Testlösung und behalten ihre Motilität. Um den Motilitätsverlust aufgrund des natürlichen Alterungsprozesses der Samenprobe während der Inkubationszeit auszugleichen, wird parallel eine Probe in der CatFlux-Kontrolllösung inkubiert. Beide Lösungen sind in Mikroröhrchen vorgefüllt und in einem Set von Truion GmbH enthalten.

Muss der Patient eine zusätzliche Samenprobe für den CatSper-Test abgeben?

Nein, der Test erfordert lediglich 40 Mikroliter Ejakulat, was in der Regel die Durchführung einer parallelen standardmäßigen Samenanalyse nicht beeinträchtigt.

Kann der Test mit kryokonservierten Spermien durchgeführt werden?

Nein, derzeit kann ein CatSper-Test mit CatFlux aus diagnostischen Gründen nicht mit kryokonservierten Spermien durchgeführt werden, da bisher keine ausreichenden wissenschaftlichen Daten vorliegen.

Kann der Test mit aufbereitetem Ejakulat durchgeführt werden?

Nein, derzeit kann der CatSper-Test mit CatFlux nicht mit aufbereiteten Spermien (z. B. aus einem Swim-up oder einer Dichtegradientenzentrifugation) durchgeführt werden, da auch hierfür noch keine Validierungsstudien vorliegen.

Wie viele Spermien müssen gezählt werden?

Mindestens 200 Spermien müssen gezählt werden (jeweils in der Kontroll- und Testlösung), um zuverlässig den Prozentsatz der motilen Spermien zu bestimmen, der für die Berechnung des CatSper-Indexes (CI) erforderlich ist.

Wie lange ist die Haltbarkeit?

Die Haltbarkeit beträgt 18 Monate ab Herstellungsdatum. Truion GmbH garantiert bei Lieferung eine verbleibende Haltbarkeit von mindestens einem Jahr. Das Etikett auf der Verpackung gibt das offizielle Ablaufdatum der jeweiligen CatFlux-Charge an. Nach diesem Datum dürfen die CatFlux-Lösungen nicht mehr für diagnostische Zwecke verwendet werden.

Was sind die Sensitivität und Spezifität des Tests?

Die Leistungsdaten für den CatSper-Test mit CatFlux sind in der Gebrauchsanweisung des Produkts zu finden. Die darin enthaltenen Studien zur Leistung für die CE-Zertifizierung berichten eine Sensitivität von 100 % (zuverlässige Identifizierung aller CatSper-Defekte) und eine Spezifität von 98,3 % (1,7 % der CatSper-intakten Patienten wurden fälschlicherweise als CatSper-defekt diagnostiziert). Der positive prädiktive Wert (PPV), der die Wahrscheinlichkeit angibt, dass ein als CatSper-defekt eingestuft Patient tatsächlich einen Defekt hat, wurde auf 42 % geschätzt, basierend auf einer Prävalenz

von 1,2 % (Young & Schiffer et al., 2024). Der negative prädiktive Wert (NPV), der angibt, dass ein Patient ohne CatSper-Defekt korrekt diagnostiziert wurde, lag bei 100 %

Was tun, wenn der CI unter dem Schwellenwert (weniger als 80) liegt, d. h. wenn noch motile Spermien in der Testlösung vorhanden sind?

In diesem Fall sollten die Pufferlösungen erneut gründlich gemischt, für mindestens 15 Minuten (aber nicht länger als 60 Minuten) inkubiert und die Motilität erneut bewertet werden.

CI < 80: Spermien bleiben in der Testlösung motil – Hinweis auf einen CatSper-Defekt. Eine genetische Analyse wird empfohlen.

CI > 80: Spermien werden in der Testlösung immotil – deutet oft auf unzureichendes Mischen hin. Samenproben mit Hohe Viskosität oder Tropfen an den Wänden oder dem Deckel des Röhrchens können das Testergebnis beeinflussen.

Wo können die CatFlux-Lösungen für die Durchführung eines CatSper-Tests bezogen werden?

Die CatFlux-Lösungen werden von Truion GmbH, einem Spin-off der Universität Münster, hergestellt und über länderspezifische Händler vertrieben. Sie sind als gebrauchsfertige Sets erhältlich, die für die Durchführung von zehn Tests geeignet sind. Die CatFlux-Lösungen sind ein CE-zertifiziertes Medizinprodukt gemäß der EU-Verordnung über In-vitro-Diagnostika (Verordnung (EU) 2017/746 IVDR). Eine Gebrauchsanweisung ist im Lieferumfang enthalten.

Finden Sie Ihren lokalen Händler auf www.truion.de!

Truion GmbH

Hüfferstr. 62
48149 Münster
Deutschland

+49 251 83 54858
info@truion.de

Rev. 09_11/2024