SpermMar Test IgG



INTRODUÇÃO

Como o espermatozoide não entra em contato com a circulação sanguínea, o sistema reprodutor masculino normalmente não contém anticorpos antiespermatozoides. No entanto, quando a barreira hematotesticular é rompida, o sistema imunológico pode detectar espermatozoides maduros com antigênicos e formar anticorpos antiespermatozoides que causam subfertilidade ou infertilidade. Esses anticorpos pertencem às classes imunológicas IgA e IgG e podem estar presentes na amostra de sêmen e no soro sanguíneo masculino. Às vezes, também são encontrados no soro sanguíneo de mulheres. Os anticorpos antiespermatozoides IgG estão clinicamente associados à infertilidade imunológica, e o exame pode ajudar na avaliação da fertilidade do casal.

OBJETIVO PRETENDIDO

O SpermMar Test IgG é um kit diagnóstico semiquantitativo e não automatizado para detectar anticorpos antiespermatozoides da classe IgG em espermatozoides presentes no sêmen humano ou no soro. É um teste microscópico rápido e fácil de usar, destinado à avaliação de casais inférteis.

O teste pode ser realizado em amostra fresca e não tratada de sêmen humano, usando o SpermMar Test IgG direto, ou em soro sanguíneo humano (de homens e mulheres), usando o SpermMar Test IgG indireto. Pode auxiliar na avaliação do diagnóstico e do tratamento da infertilidade do casal.

MATERIAL INCLUSO

Número do catálogo:

- SPMG_S: SpermMar Test IgG Single kit – 50 testes.
- SPMG_C: SpermMar Test IgG Complete kit – 50 testes.
- SPMG_P: 1 frasco com 2,5 mL de soro de controle positivo para o SpermMar Test IgG.
- SPMG_N: 1 frasco com 2,5 mL de soro de controle negativo para o SpermMar Test IgG.

PRINCÍPIO DO TESTE

O SpermMar Test IgG direto é realizado misturando sêmen fresco e não tratado com partículas de látex revestidas com IgG humana e antissoro IgG anti-humano. A aglutinação entre as partículas de látex e os espermatozoides móveis indica a presença de anticorpos IgG nos espermatozoides.

No SpermMar Test IgG indireto, espermatozoides móveis lavados de doadores são incubados com soro do paciente. Se o soro contiver anticorpos antiespermatozoides, eles cobrirão os espermatozoides doadores, que reagirão positivamente em um teste SpermMar Test IgG subsequente.

MATERIAIS NECESSÁRIOS, MAS NÃO FORNECIDOS

- Microscópio óptico (ampliação de 400× a 600×), campo claro, campo escuro ou contraste de fase.
- Para o teste direto: solução salina tamponada de pH isotônico sem suplemento proteico (por exemplo, PBS, EBSS, HTF Hepes ou Ham’s F10).

- Para o teste indireto: espermatozoides móveis de doador com resultado negativo para IgG (preservativo não espermicida, se necessário).
- Placa de microtitulação (por exemplo, 650101) ou tubos Eppendorf.
- Se adquirir o kit SpermMar Test IgG Single: microlâminas, lamínulas e pipetas capilares.

Um certificado de análise e uma FISPQ estão disponíveis mediante solicitação ao fabricante ou podem ser baixados em www.fertipro.com.

INSTRUÇÕES DE USO

Coleta de sêmen: use recipientes padrão, tipicamente de polipropileno, com compatibilidade com a sobrevivência/motilidade espermática testada. Quando a coleta por masturbação não for possível, use recipientes plásticos não tóxicos para espermatozoides. Mantenha o recipiente em temperatura ambiente antes de adicionar a amostra. Idealmente, examine o sêmen dentro de 1 hora após a ejaculação.

Coleta de soro: colete sangue em tubos padrão para soro e siga as instruções do fabricante. Inverta cada tubo 10 vezes após a coleta. Aguarde 30 minutos para a coagulação e centrifugue (por exemplo, 10 minutos a 1000 g) para separar o soro. O soro pode ser armazenado a 2–8 °C por no máximo 7 dias.

Preparação dos reagentes: as partículas de látex estão prontas para uso, mas devem ser bem misturadas até formar uma suspensão homogênea. O antissoro está pronto para uso.

SPERMMAR TEST IGG DIRETO

1. Reagentes e amostras precisam estar à temperatura ambiente.
2. Agite ou misture bem as partículas de látex SpermMar Test IgG.
3. Em uma lâmina, coloque 10 µL de sêmen fresco não tratado, 10 µL de partículas de látex SpermMar Test IgG e 10 µL de antissoro SpermMar Test IgG. Podem ser usadas as pipetas capilares de 10 µL fornecidas no kit completo.
4. Misture a amostra e as partículas de látex com a borda de uma lamínula; em seguida, misture o antissoro à mistura.
5. Coloque a lamínula sobre a mistura e observe ao microscópio óptico com ampliação de 400× ou 600×. Contraste de fase ou iluminação de campo escuro podem facilitar a leitura.
6. Leia o resultado após 2–3 minutos. Observe se há partículas de látex ligadas a espermatozoides móveis. Conte 100 espermatozoides para determinar a porcentagem de espermatozoides reativos. Se não houver ligação, leia novamente após 10 minutos.

Nota: mantenha a preparação em câmara úmida (por exemplo, placa de Petri com papel-filtro umedecido).

SPERMMAR TEST IGG INDIRETO

1. Reagentes e amostras precisam estar à temperatura ambiente.
2. Inative as amostras de soro a 56 °C por 30 minutos em tubos de vidro ou por 45 minutos em tubos de plástico.
3. Ajuste o pH da solução salina tamponada isotônica para 7,4–7,5 usando NaOH ou HCl 0,1 N.
4. Lave os espermatozoides móveis do doador por migração ascendente no meio com pH ajustado. O procedimento descrito no original usa tubos de ensaio de 5 mL com fundo redondo, a 37 °C por 1 hora. Ajuste a concentração para 20 × 10^6 espermatozoides/mL.
5. Dilua em série a amostra de soro inativado a 1/16 com solução salina tamponada isotônica (pH 7,4–7,5).
6. Misture 50 µL de soro diluído (1/16) com 50 µL de espermatozoides móveis lavados do doador. Incube por 60 minutos a 37 °C.
7. Agite ou misture bem as partículas de látex SpermMar Test IgG.
8. Em uma lâmina, coloque 10 µL da mistura de espermatozoides e soro, 10 µL de partículas de látex e 10 µL de antissoro.
9. Misture a amostra e as partículas de látex com a borda de uma lamínula e, em seguida, misture o antissoro à mistura.
10. Coloque a lamínula sobre a mistura e observe ao microscópio óptico com ampliação de 400× ou 600×.
11. Leia o resultado após 2–3 minutos. Conte 100 espermatozoides móveis para determinar a porcentagem de espermatozoides reativos. Se não houver ligação, leia novamente após 10 minutos.

Nota: mantenha a preparação em câmara úmida (por exemplo, placa de Petri com papel-filtro umedecido).

INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS

Quando o teste é realizado corretamente, a ausência de anticorpos espermáticos é indicada por espermatozoides em movimento livre, não cobertos por partículas de látex. As partículas de látex podem formar aglutinação entre si,

indicando a reatividade dos reagentes. Na presença de anticorpos antiespermatozoides, os espermatozoides serão parcialmente cobertos por partículas de látex e, em alguns casos, podem ser imobilizados pela grande quantidade de partículas aderentes.

No teste direto, há suspeita de infertilidade imunológica quando 10–39% dos espermatozoides móveis estão cobertos por partículas de látex; se 40% ou mais estiverem cobertos, a infertilidade imunológica é altamente provável. Testes adicionais devem confirmar o diagnóstico. Quando o resultado for positivo, recomenda-se também realizar o SpermMar Test IgA.

No teste indireto, 40% ou mais de reação entre as partículas de látex revestidas e os espermatozoides móveis é geralmente aceito como limite inferior de ligação significativa de anticorpos.

LIMITAÇÕES DO MÉTODO

O teste só pode ser realizado se houver espermatozoides móveis na amostra. Amostras com concentração muito baixa ou baixa motilidade não podem ser avaliadas, pois devem ser contados 100 espermatozoides móveis após a incubação. As células imóveis não devem ser contadas. Quando isso não for possível, sugere-se realizar o teste indireto no soro sanguíneo.

Os controles positivos e negativos só podem ser usados no SpermMar Test IgG indireto, e o sêmen do doador deve conter espermatozoides móveis negativos para IgG.

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO

Teste direto: comparações com o Immunobead Test direto demonstraram boa correlação (4–7), assim como com a citometria de fluxo (8–10).

Teste indireto: foi observada boa correlação com o Immunobead Test indireto (4, 5, 11) e com o Tray Agglutination Test (4, 12, 13).

Repetibilidade e reprodutibilidade: os coeficientes de variação intra e interensaio são 3,5% e 3,23%, respectivamente, abaixo de 15%.

ARMAZENAMENTO/DESCARTE

- O kit é destinado a 50 testes individuais (diretos ou indiretos). Após cada teste, descarte todos os reagentes e materiais usados. Feche bem os frascos após o uso e armazene entre 2–8 °C. Mesmo após a abertura, os reagentes permanecem estáveis por 18 meses a partir da data de fabricação.
- Não use após a data de validade.
- Não congelar.
- Descarte os reagentes de acordo com os regulamentos locais para dispositivos médicos, considerando que o dispositivo contém substâncias derivadas de humanos e/ou animais.

AVISOS E PRECAUÇÕES

Todo material orgânico humano deve ser considerado potencialmente infeccioso. Manuseie as amostras como se fossem capazes de transmitir HIV ou hepatite. Use sempre roupas de proteção.

Os controles positivos e negativos contêm soro humano testado para HIV e hepatites B e C. Ainda assim, use roupas de proteção ao manusear o soro de controle.

Qualquer incidente grave, conforme definido no Regulamento Europeu sobre Dispositivos Médicos 2017/745, ocorrido durante o uso do produto deve ser comunicado à Intermedical e, se aplicável, à autoridade competente do país em que o usuário e/ou paciente está estabelecido.

BIBLIOGRAFIA

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. Front Biosci. 2007;12:2890–911.
4. Andréou E, Mahmoud A, Vermeulen L, Schoonjans F, Comhaire F. Comparison of different methods for investigation of antisperm antibodies. 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. Ellishton WJ, Samuels SJ, Waits AB, Overstreet JW. A comparison of the usefulness of SpermMar and immunobead tests. 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. Andrologia. 2008;40(4):227–34.
8. Rasanen M, Agrawal YP, Saarikoski S. Seminal fluid antisperm antibodies measured by direct flow cytometry. 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. Fertil Steril. 1994;61(1):143–50.
10. Niikolaeva MA, Kulakov VI, Ter-Avanesov GV, Terekhina LN, Pshechnikova TJ, Sukhinikh GT. Detection of antisperm antibodies using flow cytometry. Fertil Steril. 1993;59(3):639–44.
11. Kay DJ, Boettcher B. Comparison of the SpermMar test with procedures for detecting human sperm antibodies. Reprod Fertil Dev. 1992;4(2):175–81.
12. Hing A, Vermeulen L, Comhaire F. Indirect mixed antiglobulin reaction test for 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 direct and indirect mixed antiglobulin reaction with latex particles. Int J Androl. 1988;11(1):37–44.

ANVISA

Importador Brasil:
INTERMEDICAL EQUIPAMENTOS UROLÓGICOS LTDA
Rua Paissandu, 288 – Laranjeiras
Rio de Janeiro – RJ
CEP: 22210-080
CNPJ: 01.856.395/0001-91

Se ocorrerem problemas usando este produto, entre em contato com o Atendimento ao Consumidor: (021) 2196-6100.

Responsável técnico no Brasil: Ronaldo Reis Fontoura – CRM 5251022-5
Registro: 80308320065