

SpermMar Test IgA

Teste qualitativo de partículas de Látex para detecção de anticorpos antiespermatozoide da classe IgA

Doc. referência: FP09 I01 R01 E.5
Atualização: 30.08.2018

Conservante: azida de sódio 0.09%
Armazenar a 2°C a 8°C – Não congelar.
Para uso exclusivo de diagnóstico in vitro.
Reagente exclusivo para uso profissional.

USO PRETENDIDO

O SpermMar Teste IgA é um kit diagnóstico para detecção de anticorpos antiespermatozoides da classe IgA no sêmen humano. A presença de anticorpos anti-espermatozoides podem interferir na função dos espermatozoides, sua ligação a zona pelúcida e reação acrossomal.

INFORMAÇÃO GERAL

A presença de anticorpos espermáticos reagindo com antígeno(s) no espermatozoide é considerado tanto característico quanto específico para infertilidade imunológica. (1,3,22,24). Esses anticorpos são encontrados em aproximadamente 8% dos homens inférteis (13).

Anticorpos anti-espermatozoides pertencem a diferentes classes imunes, mas só os das classes IgA e IgG são clinicamente relevantes (18). O primeiro exibefeitos citotóxicos e são adequadamente detectados no espermatozoide ou no soro com o teste SpermMar IgG. Anticorpos antiesperma quando ligados ao complemento C3 da classe IgA, a qual tem principalmente propriedades de aglutinação (14), raramente ocorrem sem anticorpos da classe IgG. (6), mas seu significado para infertilidade pode ser mais importante. De fato, pacientes que combinam anticorpos espermáticos das classes IgA e IgG ou apresentando anticorpos isolados IgA têm muito pouca chance de fecundar suas parceiras por meios naturais (6,20). Logo, a detecção de anticorpos da classe IgA é de extrema importância tanto diagnóstica quanto prognóstica (21).

A maior parte dos anticorpos antiesperma da classe IgA é secretada por glândulas sexuais acessórias (23). Elas estão presentes no espermatozoide e às vezes no líquido seminal, mas normalmente são inexistentes no soro. Portanto, o teste de anticorpos antiesperma da classe IgA no soro não é recomendado (18). Pode-se considerar a procura por anticorpos espermáticos da classe IgA no líquido seminal nos casos de baixa concentração ou motilidade espermática, apesar de o significado clínico desses anticorpos ser questionável.

O SpermMar teste IgA diretos destina a detecção de anticorpos de superfície espermática e são realizados tanto em espermatozoides frescos ou espermatozoides isolados do líquido seminal por um ciclo de suspensão, centrifugação e ressuspensão em média. Esses espermatozoides são misturados com partículas de Látex revestidos de anti-IgA humana. A formação de aglutinados mistos de espermatozoides móveis com os partículas de Látex indica a presença de anticorpos antiespermáticos IgA no espermatozoide (1,5,9,10,17).

CÓDIGOS DE PEDIDO DO PRODUTO

SPMA_S SpermMar Test IgA individual – 50 testes
SPMA_C SpermMar Test IgA kit complete – 50 testes

MATERIAIS INCLUSOS COM O TESTE

- » 1 flasco contendo 0,7 ml partículas de Látex de SpermMar IgA
- » Lâminas de microscópio 76 x 26 mm*
- » Laminulas 24 x 40 mm*
- » Pipetas microcapilares calibradas a 10 microlitros*
- » Bulbo de borracha*

*somente no kit completo

O certificado de análise e MSDS estão disponíveis sob demanda ou podem ser baixados do nosso website (www.fertipro.com).

MATERIAIS NÃO INCLUSOS NO TESTE

- » Microscópio (com magnificação de 400x a 600x campo claro, escuro ou fase de contraste)
- » Camisinha sem espermicida

INSTRUÇÕES DE USO



Recomendamos ver nosso vídeo de demonstração.
Faça o download através do link em nosso site ou digitalize o código de barras.

COLETA & PREPARO DA AMOSTRA

A coleta do sêmen por masturbação é preferida. Quando circunstâncias particulares desestimulam a coleta por masturbação, camisinhas plásticas específicas da FertiPro estão disponíveis. Camisinhas comuns não devem ser usadas na coleta porque podem interferir na motilidade e viabilidade do espermatozoide. Idealmente o sêmen deve ser examinado até 1 hora após a ejaculação.

PREPARO DO REAGENTE

As partículas de SpermMar Test IgA Látex estão prontas para o uso, embora elas devam ser vigorosamente misturadas antes do uso para prover uma suspensão homogênea.

TESTE DIRETO SPERMAR IGA PARA DETECÇÃO DE ANICORPOS ANTIESPERMA DA CLASSE IGA NO ESPERMATOZOIDE HUMANO

1. Permitir que todos os reagentes e amostras se ajustem a temperatura ambiente.
2. Em microlâmina colocar Plaats op een microscoop slide:
 - 10 microlitros de sêmen fresco
 - 10 microlitros de SpermMar Test IgA partículas de Látex.

Isso pode ser feito por meio de pipetas capilares de 10 microlitros, se fornecidas no kit.

Nota: Para o uso das pipetas microcapilares, inserir o final da pipeta marcado com linha em negrito no bulbo de borracha (aproximadamente 5 mm).

Permitir que a pipeta se encha pela ação do capilar até a primeira marca (10 microlitros). Não escoar o líquido no bulbo. Colocar a ponta do dedo sobre o topo do bulbo. Segurando o bulbo entre o polegar e o dedo médio, apertar gentilmente o bulbo para expelir o líquido da pipeta.

3. Misturar a amostra e o reagente de látex 5 vezes com a borda da lâminula.
4. A laminula é colocada sobre a mistura e a mistura é observada sob luz microscópica utilizando aumento de 400x a 600x. O uso da fase contrastada ou escura na iluminação do campo pode facilitar a leitura da lâmina.
5. Ler o resultado depois de 3 minutos. Atentar para partículas de látex acopladas a espermatozoides móveis. Contar 100 células espermáticas para determinar a porcentagem de espermas reativos. Ler novamente após 10 minutos.
Nota: Manter preparo em uma câmara úmida (ex. Placa de Petri contendo um papel filtro umedecido).
6. O diagnóstico da infertilidade imunológica é suspeitado quando 10-39% dos espermatozoides móveis estão aderidos à partículas de látex; se 40% ou mais dos espermatozoides estiverem aderidos, a infertilidade imunológica é altamente provável.

INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS

Quando o teste é devidamente realizado, a ausência de anticorpos espermáticos será demonstrada por espermatozoides se movimentando livremente, não cobertos de partículas de látex. As partículas de látex, por sua vez, poderão, mas geralmente não formam aglutinados crescentes. Na presença de anticorpos espermáticos, o espermatozoide vai reagir com as

partículas e um, depois várias partículas vão aderir a todos ou a uma porção dos espermatozoides móveis. A porcentagem de espermatozoides móveis mostrando essa aglutinação mista é diretamente relacionada com a severidade da reação imunológica. Geralmente, a proporção de espermatozoides móveis reagindo no teste SpermMar IgA é menor que a reagindo com o teste SpermMar IgG, mas o contrário pode ocorrer ocasionalmente (12). Em casos raros, há uma reação positiva no teste SpermMar IgA na falta de qualquer reação no teste SpermMar IgG, indicando a presença de anticorpos secretores da classe IgA sem anticorpos da classe IgG. A ocorrência de reação de aglutinação mista de 40% ou mais no sêmen indica uma reação positiva ao teste SpermMar IgA.

LIMITAÇÕES DO MÉTODO

O teste direto SpermMar IgA pode ser realizado apenas se espermatozoides móveis estão presentes na amostra de sêmen. Amostras com concentrações ou mobilidade baixíssimas de esperma podem levar a resultados falsos negativos.

CARACTERÍSTICAS DE PERFORMANCE

Algumas centenas de amostras de sêmen foram testadas com reação mista de antiglobulina direta e o teste direto SpermMar para IgG. Os resultados foram similares em 97% dos casos. Em 3% dos casos o teste SpermMar detectou anticorpos enquanto a reação mista de antiglobulina utilizando glóbulos vermelhos revestidos foi negativa. Nesses casos, a proporção dos espermatozoides reagindo no teste SpermMar geralmente era baixa (14). Os resultados do teste SpermMar IgA foram provados precisos depois da comparação com imunofluorescência e nefelometria.

ARMAZENAMENTO DO REAGENTE

Quando armazenado adequadamente, o reagente SpermMar IgA fica estável por 12 meses da data de fabricação. O reagente SpermMar IgA deve ser armazenado entre 2° e 8°C quando não em uso. NÃO CONGELAR O REAGENTE. Adequado para o transporte ou armazenamento de curto prazo a temperaturas elevadas (até 5 dias a 37°C).

AVISOS E PRECAUÇÕES

Lidar com todas as amostras como capazes de transmitir HIV ou hepatites. Sempre usar vestimenta protetora quando manuseando as amostras. O teste SpermMar IgA contém 0.1% albumina do soro bovino de origem norte americana.

BIBLIOGRAFIA

1. BOETTCHER B., HJORT T., RUMKE Ph., SHULMAN S. et VYAZOV O.E. (eds.). Auto and iso-antibodies 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. *Acta Pathol Microbiol Scand*, 1977, vol. 258 (suppl.), p. 1-69.
2. COMHAIRE F.H. et KUNNEN M. Factors affecting the probability of conception after treatment of subfertile men with varicocele by transcatheter embolisation with Bucrylate. *Fertil Steril*, 1985, vol. 43, p. 781-786.
3. FRIBERG J. Immunoglobulin concentration in serum and seminal fluid from men with and without sperm-agglutinating antibodies. *Obstet. Gynecol.*, 1980, vol. 136, p. 671-675.
4. GOLOMB J., VARDINON H., HOMONNAI Z.T., BRAF Z. et YUST I. Demonstration of antispermatozoal antibodies in varicocele-related infertility with an enzymelinked Immunosorbent assay (ELISA). *Fertil Steril*, 1986, vol. 45, p. 397-402.
5. JAGER S., KREMER J. et VAN SLOCHTEREN-DRAAISMA T. 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.*, 1978, vol. 23, p. 12-21.
- JAGER S., KREMER J., KUIKEN J. et VAN SLOCHTEREN-DRAAISMA T. Immunoglobulin class of antispermatozoal antibodies from infertile men and inhibition of in vitro sperm penetration into cervical mucus. *IntJ. Androl.*, 1980, vol. 3, p. 1-14.
 - RUMKE P. The origin of immunoglobulins in semen. *Clin. Exp. Immunol.*, 1976, vol. 17, p. 287-297.
 - SHULMAN J.F. et SHULMAN S. Methylprednisolone treatment of immunologic infertility in the male. *Fertil Steril*, 1982, vol. 38, p. 591-599.
 - STEDRONSKA J. et HENDRY W.F. 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.*, 1983, vol. 3, p. 89-91.
 - VERMEULEN L. et COMHAIRE F.H. Le test <MAR> aux particules de Latex, et le test spermatoxique selon Suominen : simplification et nouveauté dans l'arsenal du diagnostic immunologique. *Contraception, Fertilité, Sexualité*, 1983, vol. 11 (suppl.), p. 381-384.
 - W.H.O. 1984 : Workshop on the standardized investigation of the infertile couple, moderator P. Rowe, coordinator M. Darling. *Fertil Steril* (eds) R.F. HARRISON, J. BONNAR et W. THOMPSON. Publ. M.T.P.-Press Ltd. (Lancaster, Boston, La Haye, Dordrecht), 1984, p. 427-431.
 - W.H.O. Laboratory manual for semen analysis and sperm cervical mucus interaction. Publ. Cambridge University Press, 2010.
 - WORLD HEALTH ORGANISATION. Towards more objectivity in diagnosis and management of male infertility. *Int J Androl*, 1987, Suppl 7.
 - KREMER J. et JAGER S. The significance of antisperm antibodies for sperm-cervical mucus interaction. *Hum. Reprod.*, 1992, vol. 7, p. 781-784.
 - KAY D.J. et BOETTCHER B. Comparison of the SpermMar test with currently accepted procedures for detecting human sperm antibodies. *Reprod. Fer. Dev.*, 1992, vol. 4, p. 175-181.
 - ACKERMAN S., Mc GUIRE G., FULGHAM D.L. et ALEXANDER N. An evaluation of a commercially available assay for the detection of antisperm antibodies. *Fertil Steril*, 1988, vol. 49, p. 732-734.
 - BRONSON R., COOPER G. et ROSENFELD D. Sperm antibodies: their role in infertility. *Fertil Steril*, 1984, vol. 42, p. 171-183.
 - CLARKE GN, STOJANOFF A, CAUCHI MN et JOHNSTON WIH. The immunoglobulin class of antispermatozoal antibodies in serum. *Am J Reprod Immunol Microbiol*, 1985, vol. 7, p. 143-147.
 - HINTING A, VERMEULEN L et COMHAIRE F. The indirect mixed antiglobulin reaction test using a commercially available kit for the detection of antisperm antibodies in serum. *Fertil Steril*, 1988, vol. 49, p. 1039-1044.
 - MEINERTZ H et HJORT T. Detection of autoimmunity to sperm: mixed antiglobulin reaction (MAR) test or sperm agglutination? A study on 537 men from infertile couples. *Fertil Steril*, 1986, vol. 46, p. 86-91.
 - PARSLOW JM, POULTON TA, BESSER GM et HENDRY WF. The clinical relevance of classes of immunoglobulins on spermatozoa from infertile and vasectomized males. *Fertil Steril*, 1985, vol. 43, 621.
 - RUMKE P et HELLINGA. Autoantibodies against spermatozoa in sterile men. *Am J Clin Pathol*, 1959, vol. 32, p. 357-363.
 - UELING DT. Secretory IgA in seminal fluid. *Fertil Steril*, 1971, vol. 22, p. 769-773.
 - WILSON L. Sperm agglutinins in human semen and blood. *Proc Soc Exp Biol Med*, 1954, vol. 85, p. 652-655.

SUPORTE TÉCNICO



Fertipro N.V.
Industriepark Noord 32, 8730 Beernem,
Bélgica
Tel. +32 (0)50 79 18 05
Fax +32 (0)50 79 17 99
URL: www.fertipro.com
E-mail : info@fertipro.com



SpermMar Test IgG

Teste Látex qualitativo para detecção de anticorpos espermáticos.

Doc. referência: FP09 I01 R01 E.5
Atualização: 30.08.2018

Conservante: azida de sódio 0.09%
Armazenar a 2°C a 8°C – Não congelar.
Para uso exclusivo de diagnóstico in vitro.
Reagente exclusivo para uso profissional.

USO PRETENDIDO

O SpermMar Teste IgG é um kit diagnóstico para detecção de anticorpos antiespermatozoides da classe IgG no sêmen ou soro humano. O SpermMar Teste IgG direto pode ser realizado em sêmen humano não tratado por conter espermatozoides móveis, o SpermMar Teste IgG indireto pode ser usado no soro. A presença de anticorpos antiespermatozoide pode interferir com a função, a zona de ligação e reação acrossomal do espermatozoide.

INFORMAÇÕES GERAIS

A presença de anticorpos espermáticos reagindo com antígenos no espermatozoide é considerado tanto típico quanto específico para infertilidade imunológica (2, 4, 11). Esses anticorpos são encontrados em aproximadamente 8% dos homens inférteis (13). Anticorpos espermáticos pertencem a duas classes imunológicas: IgA e IgG. Há alguns dados indicando que anticorpos do tipo IgA são clinicamente mais importantes que IgG. No entanto, raramente a classe IgA aparece sem a classe IgG. Assim, testar para anticorpos IgG é suficiente para rastreamento de rotina (6,7,14).

O teste direto SpermMar IgG é realizado pela mistura de sêmen fresco não tratado com partículas de látex que foram cobertas de IgG humano. A essa mistura é adicionado antissoro anti-IgG humana monoespecífico. A formação de aglutinados entre partículas e espermatozoides móveis indicam a presença de anticorpos IgG no espermatozoide (1,5,9,10). No teste SpermMar IgG indireto, o espermatozoides lavados e móveis do doador são incubados com soro diluído do paciente sem complementos de origem feminina ou masculina. Se o soro contém anticorpos antiesperma, eles irão cobrir o espermatozoide do doador que irá reagir positivamente no teste SpermMar IgG subsequente.

CÓDIGO DE PEDIDO DO PRODUTO

SPMG_S SpermMar Test IgG individual– 50 testes
SPMG_C SpermMar Test IgG kit completo – 50 testes

MATERIAIS INCLUSOS NO TESTE

- » 1 frasco contendo 0,7 ml de partículas de látex SpermMar Test IgG
- » 1 frasco contendo 0,7 ml antissoro SpermMar Test IgG
- » Microlâminas 76 x 26 mm.*
- » Laminulas 24 x 40 mm.*

- » Pipetas microcapilares calibradas a 10 microlitros*
- » Bulbo de borracha*
* somente no kit completo

Um certificado de análise e MSDS estão disponíveis sob demanda ou podem ser baixados do nosso website (www.fertipro.com).

MATERIAIS NÃO INCLUSOS NO TESTE

- » Microscópio (com 400x a 600x de magnificação, campo brilhante, campo escuro ou contraste de fase)
- » Meio EBSS sem proteína adicionada ao teste SpermMar IgG indireto (e.g. Sigma-Aldrich – E2888)
- » Camisinha não espermicida
- » Placa de microtitulação (ex. Kima 650 101)

INSTRUÇÕES DE USO



Recomendamos ver nosso vídeo de demonstração.
Faça o download através do link em nosso site ou digitalize o código de barras.

COLETA & PREPARO DA AMOSTRA

É preferível coleta de sêmen por masturbação. Quando circunstâncias particulares desencorajam a coleta pela masturbação, camisinhas específicas da Fertipro estão disponíveis para a coleta. Camisinhas normais não devem ser usadas porque podem interferir com a mobilidade e viabilidade do espermatozoide. Idealmente o sêmen deve ser examinado 1h após a ejaculação.

PREPARO DO REAGENTE

Teste SpermMar IgG Partículas de Latex está pronto para o uso, no entanto, deve ser agitado vigorosamente antes do uso para formar uma suspensão homogênea. SpermMar IgG Antissoro está pronto para o uso.

TESTE SPERMAR IGG DIRETO

- Permitir que os reagentes e a amostra se ajustem à temperatura ambiente.
- Em uma microlâmina colocar:
 - 10 microlitros de sêmen fresco não tratado
 - 10 microlitros de SpermMar Test IgG Partículas de Látex
 - 10 microlitros de SpermMar Test IgG Antissoro
 Isso pode ser feito por meio das micropipetas capilares de 10 microlitros fornecidas (teste completo).
Nota: Para usar as pipetas microcapilares inserir o final da pipeta com a marcação em negro na ampola de borracha (aproximadamente 5mm). Permitir que a pipeta se encha por ação capilar até a primeira marcação (10 microlitros). Não drenar líquido para o bulbo. Segurar o bulbo entre o polegar e o dedo médio e gentilmente apertar o bulbo para expelir o líquido da pipeta.
- Misturar a amostra com o reagente de Látex 5 vezes com a ponta da laminula.
- Misturar o antissoro com o reagente de Látex e a mistura de amostra.
- A laminula é colocada sobre a mistura e o conjunto é observado em microscópio com magnificação de 400x ou 600x (fase contraste ou iluminação campo escuro podem facilitar a leitura das lâminas).
- Ler a lâmina depois de 2-3 minutos. Observar se há partículas de látex aderidas a espermatozoides móveis. Contar 100 espermatozoides para determinar a porcentagem de espermas reativos. Caso não haja nenhuma adesão de partículas, ler novamente em 10 minutos.

Nota: Manter o preparo em câmara úmida (ex. placa de Petri contendo um pedaço de filtro de papel umedecido).

TESTE SPERMAR IGG INDIRETO

1. Permitir que os reagentes e a amostra se ajustem à temperatura ambiente.
2. Inativar as amostras de soro esquentando-os a 56°C por 30 minutos se usados tubos de ensaio de vidro, e 45 minutos se usados tubos de plástico.
3. Ajustar o pH (adicionando 0.1N NaOH ou HCl) do EBSS para 7.4 - 7.5.
4. Lavar os espermatozoides móveis do doador deixando-os nadar para o meio de pH ajustado (pH = 7.4 - 7.5). O nado deve ser feito em tubo de ensaio de 5mL de vidro ou de plástico estéril com fundo redondo a 37°C por 45 minutos. Ajustar a concentração espermática para 20x10⁶ sp/ml com meio EBSS (pH = 7.4 - 7.5).
5. Diluir em série o soro da amostra inativa até 1/16 com meio EBSS (pH = 7.4 - 7.5) em uma placa de titulação.
6. Misturar 50 microlitros da diluição (1/16), inativated serum specimen (step 5) with 50 microlitros of the washed motile donor sperm (step 4) in a free well on the titre plate. Incubate for 60 minutes at 37°C.
7. Em uma microlamina colocar:
 - 10 microlitros da mistura esperma-soro
 - 10 microlitros de SpermMar Test IgG Partículas de Látex
 - 10 microlitros do SpermMar Test IgG Antissoro
8. Misturar a amostra e o reagente Latex 5 vezes com a ponta da laminula
9. Misturar o Antissoro com o reagente Latex e mistura de amostra
10. A laminula é colocada sobre a mistura e se observa sob microscópio usando magnificação de 400x a 600x (fase de contraste ou campo escuro iluminações podem ser utilizadas para facilitar a leitura).
11. Ler os resultados depois de 2-3 minutos. Procurar partículas de látex ligadas a espermatozoides móveis. Contar 100 espermas para determinar a porcentagem de espermas reativos. Caso não haja nenhuma ligação de partículas, ler novamente em 10 minutos.

Nota: Manter a preparação em câmara úmida (ex. placa de Petri contendo um pedaço de filtro de papel umedecido). Para prevenir evaporação durante a incubação, sempre cobrir com Parafilme.

RESULTADOS

Quando o teste é realizado adequadamente, a ausência de anticorpos espermáticos será mostrada por espermatozoides se movendo livremente não cobertos por partículas de látex. As partículas de látex formarão aglutinados crescente, provando assim a reatividade dos reagentes. Na presença de anticorpos espermáticos, no entanto, os espermatozoides serão parcialmente cobertos de partículas de látex. Em alguns casos os espermatozoides podem até ser imobilizados pela quantidade massiva de partículas de látex aderidas. No teste SpermMar IgG direto o diagnóstico de infertilidade imunológica é suspeitado quando 10-39% dos espermatozoides móveis estão cobertos por partículas de látex; se 40% ou mais dos espermatozoides estiverem cobertos, infertilidade imunológica é altamente provável. Testes adicionais devem confirmar o diagnóstico. Sempre que um resultado positivo for obtido, é recomendável que seja realizado o teste SpermMar IgA. No teste SpermMar IgG indireto, a ocorrência de 40% ou mais de reação entre partículas cobertas de látex e espermatozoides móveis, é geralmente aceitado como limite inferior de atividade significativa.

LIMITAÇÕES DO MÉTODO

O teste SpermMar IgG direto só pode ser realizado se espermatozoides móveis estiverem presentes no sêmen. Amostras com baixa motilidade podem produzir resultados falso negativos, nesses casos é sugerível realizar o teste SpermMar IgG indireto.

CARACTERÍSTICAS DE PERFORMANCE

TESTE SPERMAR IGG DIRETO

Algumas centenas de amostras de sêmen foram testadas com o teste direto MAR-Test (reação mista de antiglobulina em glóbulos vermelhas) e com o teste SpermMar IgG. Os resultados foram similares em 97% dos casos. Em 3% dos casos o teste MAR em glóbulos vermelhos foi negativo enquanto o SpermMar IgG detectou espermatozoides cobertos de anticorpos, apesar de em números relativamente pequenos (<40%), provou a alta sensibilidade do teste SpermMar IgG (10,16).

TESTE SPERMAR IGG INDIRETO

Utilizando o valor de 40% de reação entre espermatozoides móveis e partículas cobertas de látex como o limite inferior de atividade significativa, o teste indireto SpermMar IgG foi positivo em alguns casos com resultados negativos no teste de aglutinação na Bandeja ou outros testes disponíveis. O teste SpermMar provou ser mais fácil de usar e mais sensível (15). Um falso negativo no teste indireto SpermMar IgG em comparação com o teste de aglutinação na Bandeja que aconteceu em casos de IgM no soro, com significado clínico duvidoso. É recomendado confirmação de resultado positivo do teste indireto SpermMar IgG com testes complementares para detecção de atividade de aglutinação (Teste de aglutinação na Bandeja) e de atividade citotóxica, como o teste de citotoxicidade de liberação de ATP. Os testes mais recentes também avaliam o tipo de efeito imunológico exercido pelo anticorpo antiesperma.

ARMAZENAMENTO DO REAGENTE

Os reagentes do teste SpermMar IgG são estáveis por 18 meses da data de fabricação. Reagentes do teste SpermMar IgG devem ser armazenados a 2°C a 8°C quando não utilizados. NÃO CONGELAR. Adequado para o transporte ou armazenamento a curto prazo a temperaturas elevadas (até 5 dias a 37°C).

AVISOS E PRECAUÇÕES

Todo o material humano, orgânico deve ser considerado potencialmente infeccioso. Lidar com todas as amostras como capazes de transmitir HIV ou hepatites. Sempre utilizar vestuário protetor enquanto manejar as amostras.

Teste SpermMar IgG partículas de látex contém 0.1% albumina do soro bovino de origem norte americana. Teste SpermMar IgG partículas de látex são cobertas por IgG humana, todos os materiais utilizados foram testados pelo fabricante original para hepatites B e C e HIV.

SpermMar Test IgG Positive and Negative Controls

Controles para uso com teste indireto para determinação de anticorpos espermáticos (SpermMar IgG)

Doc. referência: FP09 I01 R01 E.5
Atualização: 30.08.2018

Conservante: azida de sódio 0.09%
Armazenar a 2°C a 8°C – Não congelar.
Para uso exclusivo de diagnóstico in vitro.
Reagente exclusivo para uso profissional.

USO PRETENDIDO

Os testes de controle positivo e negativo SpermMar IgG foram desenvolvidos para serem usados como controle de qualidade do SpermMar Teste IgG.

INFORMAÇÕES GERAIS

A presença de anticorpos espermáticos com antígenos no espermatozoide é considerado tão típico quanto específico para infertilidade imunológica (2,4,11). Anticorpos espermáticos pertencem a duas

classes imunes de anticorpos: IgA e IgG. Há dados indicando que anticorpos IgA são mais importantes clinicamente que IgG. No entanto, anticorpos IgA raramente ocorrem sem IgG. Assim, testando para anticorpos (IgG é suficiente como método de rastreio de rotina (6,7,14).

No teste indireto SpermMar IgG o espermatozoide lavado e móveis de doador são incubados com soro diluído do paciente sem complementos de origem feminina ou masculina. Se o soro contém anticorpos antiespermatozoide, os mesmos irão cobrir os espermatozoides do doador, que reagirão positivamente em um teste SpermMar IgG subsequente.

O SpermMar IgG controle positivo contém soro pronto para usar com níveis de anticorpos antiespermatozoides maiores de 80%. O SpermMar IgG controle negativo contém soro do paciente pronto para usar com níveis de anticorpos antiespermatozoides abaixo de 40%.

CÓDIGOS DOS PRODUTOS E CONTEÚDOS DOS KITS

SPMG_P	1 frasco com 2,5 ml desoro de controle positivo para o SpermMar Test IgG.
SPMG_N	1 frasco com 2,5 ml de soro de controle negativo para o de SpermMar Test IgG.

MATERIAL INCLUSO NO TESTE

- » 1 frasco com 2,5 ml de soro decontrolado diluído em meio de lavagem FertiCult Flushing medium sem soro de albúmina humano.

Certificado de análise e MSDS estão disponíveis sob demanda e podem ser baixados de nosso website (www.fertipro.com).

MATERIAIS NÃO INCLUSOS NO TESTE

- » SpermMar Test IgG
- » Lâminas de microscópio
- » Lamínulas
- » Microscópio (com magnificação 400x a 600x, campo claro, campo escuro ou fase de contraste)
- » Meio EBSS (bv., Sigma-Aldrich – E2888).
- » Placa de titulação (bv., Kima 650 101).

INSTRUÇÕES DE USO

PREPARO DO REAGENTE

Os testes SpermMar Test IgG Controle positivo e negativo está prontos para uso. Permitir que se ajuste a temperatura ambiente antes do uso.

COLETA E PREPARAÇÃO DA AMOSTRA

O sêmen do doador deve ser coletado por masturbação ou outros métodos recomendados pelo médico. Preferencialmente, o sêmen deve ser examinado em até 1 hora depois da ejaculação.

PROCEDIMENTO

1. Permitir que todos os reagentes e amostras se ajustem a temperatura ambiente.
2. Lavar os espermatozoides móveis do doador deixando-os nadar para o pH do meio ajustado EBSS (pH = 7.4 - 7.5). O nado deve ser feito em tubos de ensaio de 5 ml de vidro e plástico estéril com fundo redondo a 37°C por 45 minutos. Ajustar a concentração do esperma para 20x10⁶ sp/ml com meio (pH = 7.4 - 7.5).
3. Misturar 50 microlitros de soro controle com 50 microlitros de espermatozoide móvel de doador lavado em uma placa de microtitulação limpa. Deixe incubado por 60 minutos a 37°C
4. Em microlamina, colocar:
 - 10 microlitros de mistura do soro espermático
 - 10 microlitros de SpermMar Teste IgG Partículas de látex
 - 10 microlitros de SpermMar Teste IgG antissoro
5. Misturar a amostra no reagente de látex 5 vezes com a ponta da laminula.
6. Também misturar o antissoro com o reagente de látex e mistura de amostra.
7. A laminula é colocada na mistura e a mesma é observada sob luz microscópica utilizando

magnificação de 400x ou 600x (fase contraste ou campo escuro iluminações também pode ser usado para facilitar leitura).

8. Ler os resultados 2-3 minutos depois. Atentar para partículas de látex aderidas a espermatozoides móveis. Contar 100 espermatozoides para determinar a porcentagem de esperma reativo. Se nenhuma partícula se agrupar no esperma, ler novamente em 10 minutos.

Nota: Manter a preparação em uma câmara úmida (ex. Placa de Petri contendo um papel filtro umedecido). Para prevenir evaporação durante incubação, sempre cobrir com Parafilme.

RESULTADOS

Quando o teste é devidamente realizado, a ausência de anticorpos espermáticos será demonstrada por espermatozoides se movimentando livremente, não cobertos de partículas de látex. As partículas de látex por sua vez formarão aglutinados crescentes, provando a reatividade dos reagentes. Na presença de anticorpos espermáticos, no entanto, os espermatozoides são parcialmente cobertos por partículas de látex. Em alguns casos o espermatozoide pode até ficar imobilizado pela quantidade massiva de partículas de látex aderidas.

- » O SpermMar Test IgG Controle Positivo deve ter 80% ou mais de espermatozoides móveis cobertos com partículas de látex.
- » O SpermMar Test IgG Controle Negativo deve ter 40% ou menos dos espermatozoides cobertos com partículas de látex.

LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

O teste SpermMar IgG indireto pode ser realizado apenas se espermatozoides móveis estiverem presentes no sêmen.

ARMAZENAMENTO DOS REAGENTES

Quando armazenado apropriadamente, o teste controle SpermMar IgG será estável por 18 meses da data de fabricação. O teste deve ser armazenado a 2°C a 8°C quando não utilizado.

AVISOS E PRECAUÇÕES

Todo o material orgânico humano deve ser considerado potencialmente infeccioso. Lidar com todas as amostras como capazes de transmitir HIV ou hepatites. Sempre usar vestimenta protetora quando lidando com as amostras.

Apesar de os testes de controle positivo e negativo SpermMar IgG terem sido testados para HIV e hepatites, o usuário deve sempre utilizar vestimenta protetora quando manejando o soro controle.

BIBLIOGRAFIA

Veja SpermMar Test IgA.

SUPOORTE TÉCNICO



FertiPro N.V.
Industriepark Noord 32, 8730 Beernem,
Belgique
Tél. +32 (0)50 79 18 05
Fax +32 (0)50 79 17 99
URL : www.fertipro.com
E-mail : info@fertipro.com



Importador Brazil:
INTERMEDICAL EQUIPAMENTOS UROLÓGICOS
LTDA
RUA PAISSANDU 288 – LARANJEIRAS
RIO DE JANEIRO- RJ
CEP: 22210-080
01.856.395/0001-91

Se ocorrer problemas usando este produto, favor entrar em contato com nosso Atendimento ao Consumidor – (021) 2196-6100.

REGISTRO ANVISA N.º: 80308320064 (SPMA_S) and 80308320065 (SPMG_S) (Classe II – Anticorpo para espermatozoide)

RESPONSÁVEL TÉCNICO in Brazil:
Ronaldo Reis Fontoura -CRM 5251022-5