

Anticorps anti-spermatozoïdes : techniques de dépistage et interprétation des résultats

Marta DE ALMEIDA

Service d'Histologie Embryologie - Biologie de la Reproduction Groupe Hospitalier Cochin, Paris

RESUME

Le diagnostic d'une immunisation anti-spermatozoïdes implique la mise en évidence d'anticorps spécifiquement dirigés contre des antigènes spermatiques par des techniques diverses, dont les plus utilisées permettent la détection des anticorps fixés, spontanément ou passivement, à la surface des spermatozoïdes. Ces anticorps ont été recherchés dans le sang et dans les sécrétions génitales (liquide séminal, mucus cervical) par leurs effets directs, agglutinant, immobilisant ou cytotoxique, sur des spermatozoïdes témoins, ou indirectement par la fixation secondaire d'anticorps anti-immunoglobulines humaines couplés à des billes. Ces dernières techniques ont permis aussi la recherche directe des anticorps présents à la surface des spermatozoïdes éjaculés, étape essentielle dans l'évaluation d'une infertilité auto-immune.

La réaction d'agglutination mixte (MAR) et le test de fixation des Immunobilles (IBT) sont couramment utilisés dans la recherche des anticorps fixés sur les spermatozoïdes. Les deux tests permettent d'évaluer le pourcentage de spermatozoïdes mobiles porteurs d'anticorps et leur localisation à la surface du gamète mâle. Quand ce pourcentage est supérieur à 20, le test est considéré positif, mais ce n'est qu'au delà de 50% qu'il faut envisager la responsabilité des anticorps dans l'infertilité masculine. Une bonne concordance des résultats a été observée dans les séries dans lesquelles les deux tests ont été utilisés en parallèle sur les mêmes spermatozoïdes. Ceci justifie l'utilisation du MAR test, de réalisation plus facile, dans le dépistage d'une auto-immunisation anti-spermatozoïdes. Face à un résultat positif au MAR test, il est conseillé d'effectuer secondairement l'IBT qui permet d'analyser

spécifiquement la classe des anticorps détectés.

Si la recherche directe des anticorps fixés sur les spermatozoïdes nous fournit les renseignements nécessaires à l'établissement d'un pronostic de l'infertilité masculine, la recherche des anticorps présents dans le sang et dans le liquide séminal, en utilisant les Immunobilles en technique indirecte, nous permet de mieux cerner l'importance du processus immunitaire. Cette technique permet aussi de rechercher les anticorps dans le sérum et dans le mucus cervical de femmes infertiles suspectes d'immunisation anti-spermatozoïdes. Pour pouvoir définir la responsabilité de ces anticorps dans l'état d'infertilité du couple, les résultats obtenus avec l'IBT doivent être exprimés en titres et validés par rapport à des populations témoins fertiles, ce qui est rarement fait dans les laboratoires spécialisés.

Mots clés : infertilité, spermatozoïdes, anticorps, MAR, immunobilles

Correspondance :

Dr Marta De Almeida - Service de Biologie de la Reproduction. 123, Bd Port Royale, 75679 Paris Cedex 14 - Tel 01.44.41.23.13 - Fax 01 58 41 15 58 - Email marta.de-almeida@cch.ap-hop-paris.fr

I. INTRODUCTION

La réalité de l'immunisation anti-spermatozoïdes et la répercussion défavorable des anticorps produits contre des antigènes spermatiques (ASA) sur la fertilité des sujets atteints sont amplement démontrées à travers la littérature. En effet, des taux élevés d'anticorps sériques associés à la présence d'anticorps dans l'éjaculat (auto-immunisation) ou dans le mucus cervical (allo-immunisation) sont trouvés dans 3 à 20% des couples consultant pour infertilité [10]. Chez ces couples, le délai nécessaire pour concevoir est augmenté et le taux cumulatif de grossesses est abaissé par rapport à des couples infertiles appariés ne présentant pas d'immunisation anti-spermatozoïdes. Il existe, en outre, une corrélation négative entre le taux des ASA et les chances de concevoir [2, 24 25]. Par ailleurs, la responsabilité des ASA dans l'infertilité est démontrée *in vitro* par leur impact négatif sur plusieurs étapes de la fécondation [26]. Ces anticorps, qui peuvent appartenir à différentes classes d'immunoglobulines (Igs), sont souvent dirigés contre plusieurs molécules antigéniques [1], d'où la pluralité des effets observés sur les fonctions spermatiques. L'étendue et l'importance de ces effets varieront en fonction du taux, de la classe et surtout de la spécificité moléculaire des ASA. Actuellement, nous ne disposons pas de techniques faciles et reproductibles permettant de définir, parmi les molécules cibles des ASA, celles pouvant être impliquées dans les fonctions spermatiques. A défaut, les techniques permettant de préciser le taux et la classe des ASA ainsi que leur localisation à la surface des spermatozoïdes, nous semblent des indicateurs valables de la répercussion de ces anticorps sur la fertilité.

Depuis les premières publications mettant en évidence la présence d'anticorps spermagglutinants dans le sérum et dans le liquide séminal d'hommes infertiles [23, 29], plusieurs techniques ont été proposées dans le dépistage des ASA, dont les plus couramment utilisées détectent les anticorps dirigés contre des molécules situées à la surface des spermatozoïdes par leurs effets agglutinant, immobilisant ou cytotoxique directes, ou indirectement par la fixation secondaire d'anticorps anti-Igs humaines couplés soit à des billes, soit à des fluorochromes. Si les premières techniques ne permettent que la recherche des ASA dans les liquides biologiques (sang, liquide séminal, mucus cervical), l'utilisation d'anticorps secondaires marqués permet aussi la recherche directe des anticorps fixés *in vivo* sur les spermatozoïdes (auto-immunisation).

II. RECHERCHE DIRECTE DES ANTI-CORPS FIXES SUR LES SPERMATOZOÏDES EJACULES

Cette recherche est essentielle pour le dépistage d'une

infertilité auto-immune car ce sont ces anticorps qui peuvent empêcher les fonctions du gamète mâle. Elle doit être réalisée systématiquement, le facteur limitant pour sa réalisation étant le nombre de spermatozoïdes mobiles dans l'éjaculat. Des techniques permettant cette recherche directe, nous ne discuterons que de celles couramment utilisées.

1. Réaction d'agglutination mixte (MAR test)

Des globules rouges Rhésus positifs sensibilisés avec des anticorps anti-Rh [17], ou bien des billes de latex couplées à des Igs humaines [9], sont mélangés avec le sperme à étudier. L'addition d'un sérum anti-Igs humaines provoquera l'agglutination des spermatozoïdes porteurs d'anticorps avec les globules rouges ou les billes recouvertes d'Igs. On évalue alors le pourcentage de spermatozoïdes agglutinés avec les globules rouges ou les billes : au-dessus de 20% la réaction est considérée positive. La réalisation de ce test est simple et rapide, mais la grande taille des agglutinats mixtes limite l'analyse de la proportion des spermatozoïdes porteurs d'anticorps ainsi que la topographie de ces anticorps.

L'utilisation du MAR test dans l'étude des spermatozoïdes d'hommes consultant pour infertilité a permis de détecter des anticorps sur les spermatozoïdes chez 9 à 27% des sujets étudiés [3, 9, 15, 17, 19, 21, 28]. Dans notre laboratoire, le MAR test appliqué en routine dans l'analyse des spermatozoïdes de 1205 sujets infertiles nous a permis de dépister 7,9% de cas d'auto-immunisation anti-spermatozoïdes. Ce test, tel qu'il est pratiqué couramment, ne permet pas de détecter spécifiquement les ASA de classe IgA et donc de les différencier de ceux de classe IgG auxquels ils sont souvent associés.

2. Test de fixation des Immunobilles (IBT)

Cette technique utilise des billes de polyacrylamide couplées à des anticorps dirigés contre les différentes classes d'Igs humaines. Ces Immunobilles spécifiques de classe (IgA, IgG et IgM) doivent être incubées avec des suspensions de spermatozoïdes lavés afin d'éliminer les Igs présentes dans le liquide séminal. De réalisation plus complexe que le MAR test, cette technique permet d'analyser, pour chaque classe d'anticorps, le pourcentage de spermatozoïdes porteurs d'anticorps et leur localisation à la surface du gamète mâle.

La fréquence d'IBT positifs (plus de 20% de spermatozoïdes mobiles porteurs de billes) dans les populations d'hommes infertiles non sélectionnés varie entre 7 et 10% [7, 18, 20]. Dans une population de 120 hommes infertiles suspects d'auto-immunisation, nous avons trouvé 44% de spermatozoïdes positifs en IBT [14].

Dans les séries où les deux techniques, MAR et IBT, ont été utilisées en parallèle sur les mêmes spermatozoïdes [15, 21],

les résultats étaient concordants pour 81 et 94% des spermatozoïdes analysés. Dans une série de 156 éjaculats sélectionnés sur la présence d'auto-agglutinats, nous avons détecté des anticorps fixés sur les spermatozoïdes chez 69% (IBT) et 72% (MAR) des sujets (Tableau 1). Les résultats du MAR test et de l'IBT étaient concordants dans 96,8% des spermatozoïdes analysés, avec une bonne corrélation du premier avec les deux classes d'anticorps, IgA et IgG, détectés par les Immunobilles spécifiques (Figure 1 et Figure 2). La corrélation positive des résultats du MAR, supposé détecter essentiellement des IgGs, avec les résultats des Immunobilles-IgA peut s'expliquer par le fait que cette classe d'anticorps est souvent associée aux IgGs, et aussi par l'existence de réactions croisées des anticorps anti-Igs avec les IgA. Dans les 5 spermatozoïdes avec des résultats discordants, seul le MAR était positif avec des pourcentages de spermatozoïdes porteurs de billes allant de 29 à 90%. Ceci peut traduire une plus grande sensibilité du MAR, dans la mesure où quatre de ces sujets présentaient des titres faibles d'ASA dans le sérum et/ou dans le liquide séminal. Par contre, un résultat négatif en MAR permet d'écarter l'hypothèse d'une auto-immunisation anti-spermatozoïdes car, dans cette situation, nous n'avons jamais trouvé d'ASA détectables par les Immunobilles. Ceci justifie l'utilisation du MAR comme un premier geste dans la recherche des ASA, complété, s'il est positif, par la réalisation de l'IBT.

La détection d'anticorps sur plus de 20% des spermatozoïdes mobiles est le critère de positivité retenue par l'OMS, mais ce n'est qu'au delà de 50% qu'il faut envisager la responsabilité des ASA dans l'infertilité masculine [2]. Par ailleurs, les résultats obtenus en fécondation *in vitro* avec les spermatozoïdes de ces hommes démontrent bien le faible pouvoir fécondant des populations contenant plus de 70% de spermatozoïdes présentant des anticorps de classe IgA et IgG au niveau de la tête [8, 12].

Si la recherche directe des anticorps fixés sur les spermatozoïdes fournit les renseignements nécessaires à l'établissement d'un pronostic de l'infertilité masculine, la recherche des ASA dans le sang et dans le liquide séminal permet de mieux cerner l'importance du processus immunitaire.

III. RECHERCHE DES ANTICORPS ANTI-SPERMATOZOÏDES DANS LES LIQUIDES BIOLOGIQUES

La recherche des ASA dans le sérum, dans le liquide séminal et dans le mucus cervical de sujets infertiles se fait après transfert passif de ces anticorps sur des spermatozoïdes mobiles provenant de donneurs fertiles. La fixation des ASA peut être révélée par leur effet spermagglutinant ou spermimmobilisant (en présence de complément) ou par la fixation, dans un deuxième temps, des Immunobilles

(décrites plus haut) sur les anticorps portés par les spermatozoïdes.

Les techniques de spermagglutination et de spermimmobilisation, les plus anciennes et les plus couramment utilisées jusqu'à l'adaptation des Immunobilles à la recherche des ASA, ont été assez bien standardisées par l'OMS [22] ce qui permet une interprétation aisée des résultats publiés. Par contre, l'utilisation des Immunobilles en technique indirecte n'a pas été l'objet d'une standardisation valable. Dans la plupart des études publiées, les dilutions limites des liquides biologiques donnant une fixation des billes sur environ 50% des spermatozoïdes témoins (titre) n'ont pas été déterminées et, pour les faibles dilutions utilisées (1:2 à 1:10), la spécificité des résultats positifs en IBT n'a pas été validée par rapport à des populations témoins fertiles. Malgré ces insuffisances, l'IBT est largement utilisé dans la recherche des ASA circulants car il permet la détection et l'analyse de toutes les classes d'ASA contrairement aux techniques précédentes, notamment la spermimmobilisation qui ne détecte que les Igs capables de fixer le complément.

Dans une étude préliminaire à la mise en route de l'IBT dans notre laboratoire [11], nous avons comparé cette technique à la spermagglutination dans la recherche des ASA dans 103 sérums et 73 liquides séminaux : les résultats étaient concordants dans 90% des sérums et 82% des liquides séminaux. Par ailleurs, le type d'agglutination observé (tête, flagelle ou mixte) correspondait bien à la localisation prédominante des Immunobilles à la surface des spermatozoïdes. A sensibilité égale, les avantages liés à l'utilisation des Immunobilles nous ont conduit à adopter cette technique dont nous discuterons ici l'application à l'étude des sujets infertiles suspects d'immunisation anti-spermatozoïdes.

1. Chez l'homme.

Dans des populations d'hommes infertiles non sélectionnées, la fréquence des résultats positifs en IBT serait de 23% dans le sérum [4] et de 9,7% dans le liquide séminal [7]. Dans une population de 416 hommes sélectionnés en fonction des antécédents uro-génitaux et/ou d'une auto-agglutination des spermatozoïdes, nous avons détectés 49% de réactions positives dans le sérum et 54% dans le liquide séminal. Les classes des ASA observées étaient, dans la plupart des sérums, des IgG, avec des titres pouvant aller jusqu'à 5000, et dans les liquides séminaux, des IgA et des IgG, souvent associées, avec des titres ne dépassant que rarement 50 pour les deux classes d'anticorps.

Dans la mesure où des ASA sont détectés dans le sérum et dans le liquide séminal de la plupart des hommes présentant des anticorps fixés sur les spermatozoïdes, la recherche des ASA dans des prélèvements de sérum, plus faciles

Tableau 1 : Résultats comparatifs du MAR test et du test aux Immunobilles dans la recherche des anticorps fixés sur les spermatozoïdes.

Immunobilles	MAR Test (Billes de latex)		Total
	Négatif	Positif (> 20 %)	
Positif (> 20 %)	0	108	108
Négatif	43	5	48
Total	43	113	156

Concordance = 96.8 % ; Valeur prédictive du MAR test : Positive = 95.6 % ; Négative = 100 %.

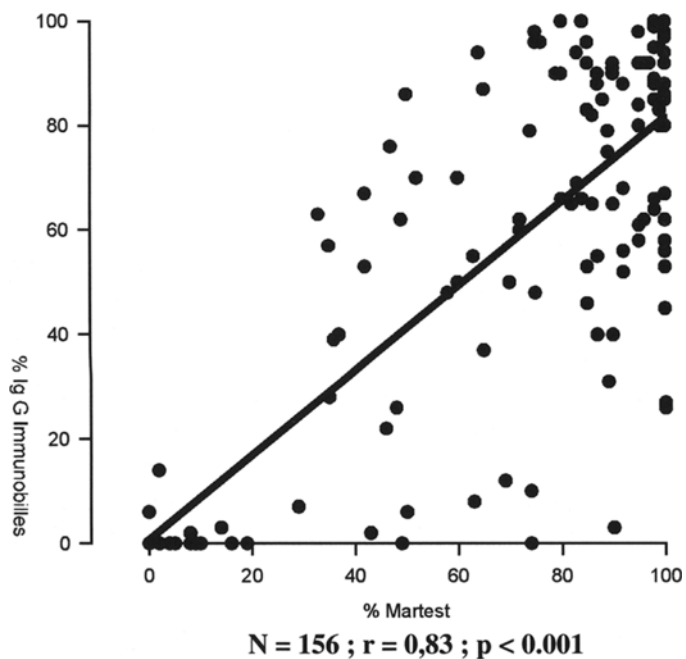


Figure 1 : Corrélation des résultats du Mar et de l'IBT (IgG).

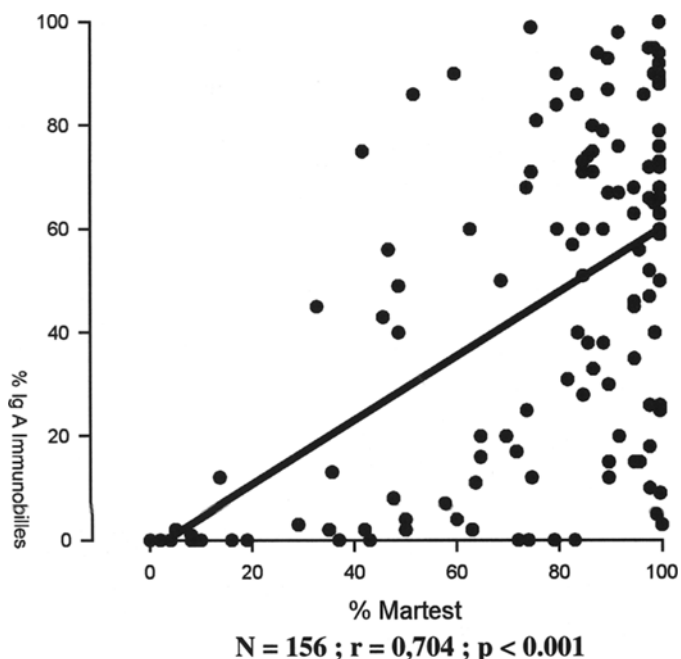


Figure 2 : Corrélation des résultats du Mar et de l'IBT (IgA)

à obtenir et à envoyer au laboratoire, ne suffirait-elle pas à dépister une auto-immunisation anti-spermatozoïdes ? Pour répondre à cette question, souvent posée par les cliniciens, nous avons comparé les résultats de la recherche directe et indirecte des ASA par les Immunobilles dans 104 prélèvements de sperme et de sérum provenant d'hommes suspects d'auto-immunisation (Tableau 2). Les résultats étaient concordants chez 97% des sujets. Mais, si un IBT positif dans le sérum s'accompagnait toujours de la présence d'anticorps sur les spermatozoïdes éjaculés, un résultat sérique négatif ne permettait pas d'écarter les réponses immunes limitées à l'appareil génital mâle, comme c'était le cas pour trois des sujets étudiés. A notre avis, l'utilisation du sérum comme un premier geste dans le dépistage d'une infertilité auto-immune n'est pas suffisant ; il doit être complété ultérieurement par la recherche des anticorps fixés sur les spermatozoïdes.

2. Chez la femme.

La recherche des ASA sériques par l'IBT a donné des résultats positifs chez 7,4 à 9,8% des femmes infertiles non sélectionnées [6, 27]. Dans ces mêmes populations, la même technique appliquée aux mucus cervicaux permettait de détecter 8,9 et 10,9% de réactions positives [5, 27]. Ces pourcentages sont sensiblement proches des 3 à 20% rapportés dans la littérature en utilisant les techniques de spermagglutination et de spermimmobilisation. Dans une série de 181 sérums et 162 mucus cervical testés par l'IBT dans notre laboratoire, nous avons observé respectivement 5,5 et 7,4% de réactions positives. Les anticorps sériques étaient soit des IgG, avec des titres allant jusqu'à 2000, soit des IgA, seules ou associées à des IgG, avec des titres au-dessous de 100. Dans le mucus cervical seuls des titres faibles d'IgA ont été détectés. Dans les populations sélectionnées en fonction de tests d'interaction sperme-glaire défectueux, l'IBT était positif dans le sérum de 35 et 37,8% de ces femmes [4, 30].

Comment interpréter les résultats positifs obtenus avec les Immunobilles appliquées au sérum ou mucus cervical de

femmes infertiles ? Dans la mesure où, dans la plupart des études, le titrage des anticorps n'est pas précisé et comme les séries étudiées comportent rarement des contrôles fertiles, il est difficile d'établir la responsabilité de ces anticorps dans l'infertilité du couple. Si on extrapole les données publiées sur la répercussion des anticorps spermagglutinants ou spermimmobilisants sur la fertilité des femmes, la probabilité de grossesse chez ces femmes serait fonction des titres sériques [24]. En effet, des titres élevés d'ASA circulants s'accompagnent de la présence d'anticorps dans les liquides folliculaires [13, 16] pouvant agir au moment de la rencontre des spermatozoïdes avec l'ovocyte, en empêchant la fécondation [26]. De plus, la présence parallèle d'ASA dans le mucus cervical peut empêcher à des degrés divers, selon le taux et la classe des anticorps, la montée des spermatozoïdes dans les voies génitales.

IV. CONCLUSION

Nous disposons aujourd'hui de techniques fiables et sensibles permettant la recherche directe des anticorps fixés sur les spermatozoïdes. Dans le dépistage de cette auto-immunisation, le MAR test nous semble le plus indiqué par la facilité de sa réalisation. En cas de MAR positif, le résultat doit être confirmé par l'IBT qui permet de mieux définir la classe des anticorps et leur localisation à la surface des spermatozoïdes, données importantes pour l'évaluation de la responsabilité des anticorps dans l'infertilité du sujet.

La recherche des ASA dans le sérum et dans le liquide séminal des hommes infertiles peut être faite, en complément de la recherche directe dans le sperme, en utilisant les Immunobilles en technique indirecte. Cette technique permet aussi de rechercher les ASA dans le sérum et dans le mucus cervical de femmes infertiles suspectes d'immunisation anti-spermatozoïdes. Pour pouvoir définir la responsabilité de ces anticorps dans l'état d'infertilité du couple, les résultats doivent être exprimés en titres et validés par rapport à des populations contrôles fertiles.

Tableau 2 : Résultats comparatifs des Immunobilles dans la recherche des anticorps fixés sur les spermatozoïdes et des anticorps dans le sérum.

Immunobilles (Spz)	Immunobilles (Sérum)		Total
	Négatif	Positif	
Positif	3	73	76
Négatif	28	0	28
Total	31	73	104

Concordance = 97 % ; Valeur prédictive de l'IBT dans le sérum : Positive = 100 % ; Négative = 90.3 %.

REFERENCES

1. AUER J., SENECHAL H., DE ALMEIDA M. : Sperm-associated and circulating IgA and IgG classes of antibodies recognise different antigens on the human sperm plasma membrane. *J. Reprod. Immunol.*, 1997, 34 : 121-136.
2. AYVALIOTIS B., BRONSON R., ROSENFELD D. et al. : Conception rates in couples where autoimmunity to sperm is detected. *Fertil. Steril.*, 1985, 43 : 739-742.
3. BARTHELEMY C., LECOMTE P., LECOMTE C. et al. : Utilisation du MAR test au latex pour le dépistage en routine des anticorps antispermatozoïdes chez des sujets présentant une auto-agglutination spontanée. *J. Gynecol. Obstet. Biol. Reprod.*, 1986, 15 : 287-291.
4. BRONSON R.A., COOPER G.W., ROSENFELD D.L. : Sperm antibodies : their role in infertility. *Fertil. Steril.*, 1984, 42 : 171-183.
5. CLARKE G.N. : Detection of antispermatozoal antibodies of IgG, IgA, and IgM immunoglobulin classes in cervical mucus. *Am. J. Reprod. Immunol.*, 1984, 6 : 195-197.
6. CLARKE G.N. : Lack of association between sperm antibodies and recurrent spontaneous abortion. *Fertil. Steril.*, 1993, 59 : 463-464.
7. CLARKE G.N., ELLIOT P.J., SMAILA C. : Detection of sperm antibodies in semen using the Immunobead test : a survey of 813 consecutive patients. *Am. J. Reprod. Immunol.*, 1985, 7 : 118-123.
8. CLARKE G.N., LOPATA A., McBAIN J.C. et al. : Effect of sperm antibodies in males on human *in vitro* fertilization. *Am. J. Reprod. Immunol.*, 1985, 8 : 62-66.
9. COMMHAIRE F.H., HINTING A., VERMEULEN L. et al. : Evaluation of the direct and indirect mixed antiglobuline reaction with latex particles for the diagnosis of immunological infertility. *Int. J. Androl.*, 1987, 11 : 37-44.
10. DE ALMEIDA M. : Anticorps antispermatozoïdes et infertilité. *In Voisin G.A. et al. : Immunologie de la Reproduction*. Paris, Flammarion Médecine-Sciences, 1990 : 151-166.
11. DE ALMEIDA M. : Détection des anticorps antispermatozoïdes : choix d'une technique et interprétation des résultats. *Feuillets de Biologie*, 1993, 34 : 59-63.
12. DE ALMEIDA M., GAZAGNE I., JEULIN C. et al. : *In vitro* processing of sperm with autoantibodies and *in vitro* fertilization results. *Hum. Reprod.*, 1989, 4 : 49-53.
13. DE ALMEIDA M., HERRY M., TESTART J.T. et al. : *In vitro* fertilization results from women with antisperm antibodies. *Hum. Reprod.*, 1987, 2 : 599-602.
14. DE ALMEIDA M., SOUMAH A., JOUANNET P. : Incidence of sperm-associated immunoglobulins in infertile men suspected of antisperm autoimmunity. *Int. J. Androl.*, 1986, 9 : 321-330.
15. DONDERO F., LENZI A., GANDINI L. et al. : A comparison of the direct immunobead test and other tests for sperm antibodies detection. *J. Endocrinol. Invest.*, 1991, 14 : 443-449.
16. KAY D.J., BOETTCHER B., YOVICH J.L., STANGER J.D. : Antispermatozoal antibodies in human follicular fluid. *Am. J. Reprod. Immunol.*, 1985, 7 : 113-117.
17. JAGER S., KREMER J., 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, 23 : 12-21.
18. JENNINGS M.G., MCGOWAN M.P., BAKER H.W.G. : Immunoglobulins on human sperm : validation of a screening test for sperm autoimmunity. *Clin. Reprod. Fertil.*, 1985, 3 : 335-342.
19. MEINERTZ H., 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, 46 : 86-91.
20. PATTINSON H.A., MORTIMER D. : Prevalence of sperm surface antibodies in the male partners of infertile couples as determined by Immunobead screening. *Fertil. Steril.*, 1987, 48 : 466-469.
21. RAJAH S., PARSLAW J.M., HOWELL R.J., HENDRY W.F. : Comparison of mixed antiglobulin reaction and direct immunobead test for detection of sperm-bound antibodies in subfertile males. *Fertil. Steril.*, 1992, 57 : 1300-1303.
22. ROSE N.R., HJORT T., RUMKE P. et al. : Techniques for the detection of iso- and autoantibodies to human spermatozoa. *Clin. Exp. Immunol.*, 1976, 23 : 175-181.
23. RUMKE P., HELLINGA G. : Autoantibodies against spermatozoa in sterile men. *Am. J. Clin. Pathol.*, 1959, 32 : 357-363.
24. RUMKE P., RENCKENS C.N., BEZEMER P.D. et al. : Prognosis of fertility in women with unexplained infertility and sperm agglutinins in the serum. *Fertil. Steril.*, 1984, 42 : 561-567.
25. RUMKE P., VAN AMSTEL N., MESSER E.N. et al. : Prognosis of fertility of men with sperm-agglutinins in the serum. *Fertil. Steril.*, 1974, 25 : 393-398.
26. SHIBAHARA H., SHIGETA M., INOUE M. et al. : Diversity of the blocking effects of antisperm antibodies on fertilization in human and mouse. *Hum. Reprod.*, 1996, 11 : 2595-2599.
27. SHULMAN S., HU C. : A study of the detection of sperm antibody in cervical mucus with a modified immunobead method. *Fertil. Steril.*, 1992, 58 : 387-391.
28. SINISI A.A., DI FINIZIO B., PASQUALI D. et al. : Prevalence of antisperm antibodies by sperm MAR test in subjects undergoing a routine sperm analysis for infertility. *Int. J. Androl.*, 1993, 16 : 311-314.
29. WILSON L. : Spermagglutinins in human semen and blood. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1954, 85 : 652-655.
30. WITKIN S.S., CHAUDRY A. : Association between recurrent spontaneous abortions and circulating IgG antibodies to sperm tails in women. *J. Reprod. Immunol.*, 1989, 15 : 151-158.

ABSTRACT

Antisperm antibodies: critical evaluation of detection assays and clinical significance of antibodies to sperm surface antigens in infertile couples.

Marta de Almeida

of infertility. At present, and in the absence of standardized assays able to identify the antigens involved in each individual immune reaction, antibody assays, as detected by the IBT assay, in the serum and/or genital secretions of infertile subjects might provide useful clinical guidance.

Key-words: infertility, spermatozoa, antibodies, MAR, immunobeads

Since the first publication on the detection of sperm-agglutinating antibodies in infertile men, multiple assays have been described. The most useful tests are able to detect antibodies bound to the sperm membrane of motile spermatozoa. The immunobeads test (IBT) is considered to be the most advantageous in terms of its sensitivity, the low incidence of false-positive results, and its ability to localize antibodies of different immunoglobulin classes on the sperm surface.

The IBT assay can be used in parallel with the mixed antiglobulin reaction (MAR), to detect sperm-associated antibodies in the ejaculates of infertile men, the most rational way to test for antisperm antibodies (ASA) in males. In view of the high level of agreement between the two assays, MAR, the easier of the two, may be used as a first step in the detection of these antibodies. A positive MAR must be confirmed by IBT, as this assay is more specific for the detection of IgA antibodies. The clinical significance of sperm-associated antibodies is usually established according to the proportion of motile spermatozoa coated with immunobeads, its class and its localization on the sperm surface. However, binding of immunobeads does not provide any information about the antigens against which the antibodies are directed. As the functional effects of sperm-associated antibodies may vary as a function of their antigenic specificities, other assays, using purified fertilization related antigens, are necessary to establish, for each individual, the specific impact of the antibodies on the fertilization process.

The indirect IBT assay has recently become the most widely used test to detect the various classes of ASA in serum and cervical mucus of infertile women and in the serum and seminal fluid of infertile men, in combination with the direct assay described above. However, in most laboratories, it is performed with only one dilution of the biological fluid tested, usually a low dilution, so that antibody levels of no significance for fertility could be detected. This may explain a recent debate (Human Reprod, 1999) on the significance of ASA as a cause