

SpermMar Test IgA

Тест на латексных частицах для определения антиспермальных антител класса IgA

Документ №: FP09 I01 R01 E.5

Дата издания: 30.08.2018 г.

КОНСЕРВАНТ: АЗИД НАТРИЯ 0,09%

ХРАНИТЬ ПРИ ТЕМПЕРАТУРЕ ОТ 2 °С ДО 8 °С. НЕ ЗАМОРАЖИВАТЬ!

ДИАГНОСТИЧЕСКИЙ НАБОР ТОЛЬКО ДЛЯ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ.

РЕАГЕНТЫ ТОЛЬКО ДЛЯ ПРОФЕССИОНАЛЬНОГО ИСПОЛЬЗОВАНИЯ.

СФЕРА ИСПОЛЬЗОВАНИЯ

Тест SpermMar Test IgA представляет собой диагностический тест для определения антиспермальных антител класса IgA в сперме человека. Присутствие антиспермальных антител может препятствовать функционированию сперматозоидов, связыванию с оболочкой и акросомной реакции.

ОБЩАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Наличие антиспермальных антител (АСАТ), взаимодействующих с антигеном (антигенами) на сперматозоидах, считается типичным и специфическим для иммунологического бесплодия (1, 3, 22, 24). Эти антитела обнаруживаются приблизительно у 8 % бесплодных мужчин (13).

АСАТ принадлежат к различным иммунологическим классам, но только АСАТ класса IgA и IgG являются клинически значимыми (18). АСАТ класса IgG проявляют цитотоксические эффекты, и в достаточной степени обнаруживаются на сперматозоидах или в сыворотке крови с помощью теста SpermMar Test IgG. АСАТ, будучи связанными с комплементом С3 класса IgA, в основном проявляющие свойства агглютинации (14), редко присутствуют без антител класса IgG (6), но их значение для мужского бесплодия может быть более важным. Действительно, пациенты, у которых присутствуют АСАТ класса IgA и IgG, или только антитела класса IgA, имеют очень маленький шанс зачатия естественным способом (6, 20). Таким образом, определение АСАТ класса IgA имеет важнейшее значение как для диагноза, так и для прогноза (21).

Основная часть АСАТ класса IgA вырабатываются придаточными половыми железами (23). Они присутствуют на сперматозоидах и иногда в семенной плазме, но обычно отсутствуют в сыворотке крови. Вследствие этого исследование антиспермальных антител класса IgA в сыворотке крови не рекомендуется (18). Возможно рассматривать вопрос о поиске АСАТ класса IgA в семенной плазме в случаях низкой концентрации или низкой подвижности сперматозоидов, однако потенциальное клиническое значение этих антител является спорным.

Прямой тест SpermMar Test IgA предназначен для обнаружения покрывающих сперматозоиды антител; тест проводится либо со свежими сперматозоидами, либо со сперматозоидами, отделёнными от семенной плазмы одним циклом суспендирования, центрифугирования и ресуспендирования в питательной среде. Эти сперматозоиды смешивают с латексными частицами, покрытыми анти-человеческими анти-IgA. Образование смешанных агглютинатов подвижных сперматозоидов с латексными частицами указывает на наличие антиспермальных антител класса IgA на сперматозоидах (1, 5, 9, 10, 17).

КАТАЛОЖНЫЕ НОМЕРА ПРОДУКТА

SPMA_S SpermMar IgA single kit, 50 тестов

SPMA_C SpermMar IgA complete kit, 50 тестов

МАТЕРИАЛЫ, ВКЛЮЧЁННЫЕ В НАБОР

- 1 флакон, содержащий 0,7 мл латексных частиц SpermMar Test IgA
- Предметные стекла для микроскопа 76 x 26 мм*
- Покровные стекла 24 x 40 мм*
- Микрокапиллярные пипетки, калиброванные на 10 мкл*
- Резиновая груша*

* только в полном наборе (complete kit)

Сертификат анализа и паспорт безопасности на набор доступны по запросу.

МАТЕРИАЛЫ, НЕ ВКЛЮЧЁННЫЕ В НАБОР

- Световой микроскоп (с увеличением от 400x до 600x, светлопольный, темнопольный или фазо-контрастный)
- Неспермицидный презерватив

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

Сбор образца и подготовка

Сбор спермы производится предпочтительно мастурбацией. При наличии обстоятельств, препятствующих сбору с помощью мастурбации, используются специальные пластиковые презервативы для сбора спермы. Запрещается использовать обычные презервативы для сбора спермы, поскольку они влияют на подвижность и жизнеспособность сперматозоидов. В идеале сперма должна быть проанализирована в течение 1 часа после эякуляции.

Подготовка реагента

Латексные частицы SpermMar Test IgA готовы к использованию, тем не менее, они должны быть тщательно перемешаны перед использованием для получения гомогенной суспензии.

Прямой тест SpermMar Test IgA для выявления антиспермальных антител класса IgA на сперматозоидах человека

1. Подождите, пока реагенты и образцы не примут комнатную температуру.
2. На покровное стекло поместите*:
 - 10 мкл свежей спермы
 - 10 мкл латексных частиц SpermMar Test IgA Latex Particles.

*Для этого можно использовать 10-мкл капиллярные пипетки, входящие в полный набор.

ПАмятка: Для использования микрокапиллярной пипетки, вставьте конец пипетки, отмеченный жирной черной отметкой, внутрь в резиновую микрогрушу (приблизительно на 5 мм). Наполните пипетку до первой отметки (10 мкл) с помощью капиллярного эффекта. Не позволяйте жидкость попасть в грушу. Поместите кончик пальца НАВЕРХ груши. Медленно, сдавливая грушу большим и указательным пальцами, выдавите жидкость из пипетки.

3. Перемешайте образец и латексные частицы 5 раз краем покровного стекла.
4. Накройте смесь покровным стеклом и поместите под микроскоп с 400 – 600-кратным увеличением. Использование фазо-контрастного или темнопольного микроскопа может облегчить анализ образца.
5. Посчитайте результат через 3 минуты: Сосчитайте 100 подвижных сперматозоидов; из их числа найдите и сосчитайте сперматозоиды, связанные с латексными частицами. После

этого рассчитайте процент связанных с латексными частицами сперматозоидов. Посчитайте результат снова через 10 минут.

ОБРАТИТЕ ВНИМАНИЕ: ХРАНИТЬ ПРЕДМЕТНОЕ СТЕКЛО С ПРЕПАРАТОМ СЛЕДУЕТ ВО ВЛАЖНОЙ СРЕДЕ (НАПР., В ЧАШКЕ ПЕТРИ С УВЛАЖНЕННЫМ КУСОЧКОМ ФИЛЬТРОВАЛЬНОЙ БУМАГИ).

6. Диагноз иммунологического бесплодия предполагается в том случае, если 10-39 % подвижных сперматозоидов связаны с латексными частицами. Если 40 % и более подвижных сперматозоидов связаны с латексными частицами, то вероятность иммунологического бесплодия весьма высока.

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Если тест выполнен правильно, отсутствие антиспермальных антител (АСАТ) будет показано свободно двигающимися сперматозоидами, не связанными с латексными частицами. Латексные частицы могут, но обычно не агглютинируют между собой. В присутствии АСАТ сперматозоиды вступают в реакцию с частицами, и одна, а затем несколько латексных частиц соединятся со всеми или с частью подвижных сперматозоидов. Процент подвижных сперматозоидов, показывающий эту смешанную агглютинацию, напрямую связан со степенью тяжести иммунологической реакции.

В основном доля подвижных сперматозоидов, вступивших во взаимодействие с латексными частицами, в тесте SpermMar Test IgA меньше, чем в тесте SpermMar Test IgG, но обратное также иногда наблюдается (12). В редких случаях существует положительная реакция в тесте SpermMar Test IgA при отсутствии какой-либо реакции в тесте SpermMar Test IgG, указывающая на присутствие секреторных антител класса IgA без антител класса IgG. Наличие реакции смешанной агглютинации в 40 % или более в сперме указывает на положительную реакцию в тесте SpermMar Test IgA.

ОГРАНИЧЕНИЯ МЕТОДА

Прямой тест SpermMar Test IgA может проводиться только в случае, если в образце спермы присутствуют подвижные сперматозоиды. Образцы с очень низкой концентрацией или низкой подвижностью спермы могут показать ложноотрицательный результат.

ХАРАКТЕРИСТИКИ ПРИГОДНОСТИ ТЕСТА

Несколько сотен образцов спермы были исследованы с использованием прямого теста на реакцию смешивания иммуноглобулинов на эритроцитах и прямого теста SpermMar Test IgG. Результаты были идентичны в 97 % случаев. В 3% случаев тест SpermMar выявил антитела, тест на реакцию смешивания иммуноглобулинов на эритроцитах был отрицательным. В этих случаях доля сперматозоидов, проявляющих реакцию в тесте SpermMar, обычно была низкой (14). Точность результатов теста SpermMar IgA была доказана после сравнения с иммунофлуоресцентным и нефелометрическим методами.

ХРАНЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

При правильном хранении реагент SpermMar IgA стабилен в течение 12 месяцев от даты производства. Реагент SpermMar Test IgA должен храниться при температуре 2 °C – 8 °C. **НЕ ЗАМОРАЖИВАТЬ!** Реагент пригоден к транспортировке или кратковременному хранению при повышенных температурах (до 5 суток при температуре до 37 °C).

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ

Работайте со всеми образцами так, как если бы они являлись возможными переносчиками ВИЧ или гепатита. При обращении с образцами всегда используйте защитную одежду и перчатки. SpermMar IgA содержит 0,1 % бычьего сывороточного альбумина, происхождения США.

ПРОИЗВОДИТЕЛЬ:

FertiPro N.V., Бельгия

www.fertipro.com

ЭКСКЛЮЗИВНЫЙ ДИСТРИБЬЮТОР В РЕСПУБЛИКЕ БЕЛАРУСЬ:

ООО «Селл Диагностик»

Адрес для почтовых отправлений: 220020 Минск, а/я 5

Тел.: +375 29 391 16 90

Факс: +375 17 395 88 09

E-mail: cell.diagnost@gmail.com

www.celldiagnostic.by



СПИСОК ЛИТЕРАТУРНЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. BOETTCHER B., HJORT T., RUMKE Ph., SHULMAN S. and 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, 258 (suppl.) : 1-69
2. COMHAIRE F.H. and KUNNEN M.: Factors affecting the probability of conception after treatment of subfertile men with varicocele by transcatheter embolisation with Bucrylate. Fertil Steril, 1985, 43: 781-786.
3. FRIBERG J.: Immunoglobulin concentration in serum and seminal fluid from men with and without sperm-agglutinating antibodies. Obstet. Gynecol., 1980, 136 : 671-675.
4. GOLOMB J., VARDINON H., HOMONNAI Z.T., BRAF Z. and YUST I.: Demonstration of antispermatozoal antibodies in varicocele-related infertility with an enzymelinked Immunosorbent assay (ELISA). Fertil Steril, 1986, 45 : 397-402.
5. JAGER S., KREMER J. and 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.
6. JAGER S., KREMER J., KUIKEN J. and 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, 3: 1-14.
7. RUMKE P.: The origin of immunoglobulins in semen. Clin. Exp. Immunol., 1976, 17 : 287-297.
8. SHULMAN J.F. and SHULMAN S.: Methylprednisolone treatment of immunologic infertility in the male. Fertil Steril, 1982, 38 : 591-599.
9. STEDRONSKA J. and 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, 3 : 89-91.
10. VERMEULEN L. and COMHAIRE F.H.: Le test <MAR> aux particules de Latex, et le test spermatoxique selon Suominen : simplification et nouveauté dans l'arsenal du diagnostique immunologique. Contraception-Fertilite-Sexualite, 1983, 11 (suppl.) : 381-384.
11. 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 and W. THOMPSON. Publ. M.T.P.-Press Ltd. (Lancaster, Boston, The Hague, Dordrecht), 1984, 427-431.
12. W.H.O.: Laboratory manual for the examination and processing of human semen. W.H.O., 5th Edition, 2010.
13. WORLD HEALTH ORGANIZATION: Towards more objectivity in diagnosis and management of male infertility. Int J Androl, 1987, Suppl 7.14. KREMER J. and JAGER S.: The significance of antisperm antibodies for sperm-cervical mucus interaction. Hum. Reprod., 1992, 7 : 781-784.

14. KAY D.J. and BOETTCHER B.: Comparison of the SpermMar test with currently accepted procedures for detecting human sperm antibodies. *Reprod. Fer. Dev.*, 1992, 4, 175-181.
15. ACKERMAN S., Mc GUIRE G., FULGHAM D.L. and ALEXANDER N.: An evaluation of a commercially available assay for the detection of antisperm antibodies. *Fertil Steril* 1988, 49 : 732-734.
16. BRONSON R, COOPER G and ROSENFELD D: Sperm antibodies: their role in infertility. *Fertil Steril*, 1984, 42: 171-183.
17. CLARKE GN, STOJANOFF A, CAUCHI MN and JOHNSTON WIH: The immunoglobulin class of antispermatozoal antibodies in serum. *Am J Reprod Immunol Microbiol*, 1985, 7: 143-147.
18. HINTING A, VERMEULEN L and COMHAIRE F: The indirect mixed antiglobulin reaction test using a commercially available kit for the detection of antisperm antibodies in serum. *Fertil Steril*, 1988, 49 :1039-1044.
19. MEINERTZ H and 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. PARSLOW JM, POULTON TA, BESSER GM and HENDRY WF: The clinical relevance of classes of immunoglobulins on spermatozoa from infertile and vasectomized males. *Fertil Steril*, 1985, 43 : 621.
21. RUMKE P and HELLINGA: Autoantibodies against spermatozoa in sterile men. *Am J Clin Pathol*, 1959, 32 : 357-363.
22. UELING DT: Secretory IgA in seminal fluid. *Fertil Steril*, 1971, 22 : 769-773.
23. WILSON L: Sperm agglutinins in human semen and blood. *Proc Soc Exp Biol Med*, 1954, 85 : 652-655.