

# **XVIIème Congrès de la Société d'Andrologie de Langue Française**

**Bordeaux 7 - 9 décembre 2000**

**RÉSUMÉS DES COMMUNICATIONS ORALES ET AFFICHÉES.**

À l'occasion de son congrès annuel la Société d'Andrologie de Langue Française décerne plusieurs prix et subventions destinés à soutenir et récompenser les auteurs de travaux de recherche en Andrologie : cette année, ont été décernés deux prix de DEA, un prix de DESS. Six communications orales et une communication affichée ont été subventionnés.

Ces travaux feront l'objet de publications dans ANDROLOGIE au cours de l'année 2001.

## Prix de DEA

Fertilité après tumeur du testicule. 79  
*E. HUYGHE, T. MATSUDA, P. PLANTE, F. PONTONNIER, L. BUJAN, R. MIEUSSET, M. SOULIE, P. THONNEAU.*

Mise en évidence d'ARN messager spécifique de l'aromatase dans le spermatozoïde humain. 79  
*S. LAMBARD, I. GALERAUD-DENIS, A. CHOCAT, S. CARREAU.*

## Prix de DESS

Utilisation des spermatozoïdes testiculaires en ICSI. Intérêt de la culture *in vitro*. 80  
*B. SCHUBERT, D. GRIZARD, D. BOUCHER.*

## Communications Orales Subventionnées

Apport de l'embolisation de la varicocèle chez 51 patients infertiles. 81  
*L. ZINI, J.M. RIGOT, C. BALLEREAU, J.L. DEHAENE, L. LEMAITRE, E. MAZEMAN.*

Absence de corrélation génotype-phénotype dans les absences de canaux déférents 82  
*F. ROBERT, F. BEY-OMAR, J. ROLLET, J.F. LAPRAY, Y. MOREL.*

Azoospermies et ICSI. 83  
*D. LE LANNOU, J.F. GRIVEAU, B. LOBEL.*

Stress psychologique, dépression et anxiété des hommes infertiles Slovenes. 83  
*B. ZORNE, I. VIRANT-KLUN, V. VELIKONJA.*

Anomalies d'expression de la connexine 43 dans le cancer du testicule humain et dans une lignée séminomateuse. 84  
*C. ROGER, H. TANAKA, D. CHEVALLIER, J.F. MICHEL, G. POINTIS, P. FENICHEL.*

Effets sur le spermatozoïde humain du diuron (3-(3,4-dichlorophenyl) 1,1-diméthylurée) et de l'un de ses produits de transformation, le dichloroaniline. 84  
*C. MALPUEEH-BRUGÈRE, G. GRIZARD, P. BOULE, D. BOUCHER.*

## Prix de Communication Affichée

Analyse des résultats de 250 spermocultures recueillies au laboratoire de spermiologie du CHRU de Lille de décembre 1999 à mai 2000. Conduite à tenir. 85  
*F. VIRECOULON, A. FRUCHART-FLAMENBAUM, F. WALLET, A. DEFOSSEZ, M. C. PEERS, V. MITCHELL*

## Azoospermie et AMP

Biopsie testiculaire chez 4 patients présentant un syndrome de Klinefelter homogène : analyse par FISH des cellules obtenues et résultats des ICSI. 86  
*M. BERGÈRE, B. WAINER, M. BAILLY, B. GUTHAUSER, R. LOMBROSO, M. ALBERT, P. CAUVELET, J. SELVA.*

Grossesses obtenues après congélation de spermatozoïdes testiculaires chez des sujets azoospermiques 47 XXY non mosaïques. <i>B. WAINER, M. BERGÈRE, M. ALBERT, M. BAILLY, R. LOMBROSO, J. SELVA.</i>	88
Les biopsies testiculaires répétées pour ICSI sont-elles bénéfiques ou calamiteuses ? <i>Y. SOFFER, D. STRASSBURGER, A. RAZIEL, M. SCHACHTER, R. RON-EL, S. FRIEDLER.</i>	88
Bilan de trois ans de prise en charge des azoospermies en ICSI. <i>J. PERRIN, J. SAIAS-MAGNANT, O. PAULMYER-LACROIX, M. MOLLAR-FABBRICELLI, C. METZLER-GUILLEMAIN, L. LACROIX-SERTHELON, G. PROCU-BUISSON, G. SERMENT, M. GAMERRE, J.M. GRILLOT.</i>	89

### **Spermiologie et AMP**

Apport de l'examen ultrastructural des spermatozoïdes dans le cadre de l'assistance médicale à la procréation (AMP). <i>M. ALBERT, C. ROUSSELI, B. DECROSSAS, C. CARPENTIER, C. POIROT, J. SELVA.</i>	89
Intérêt et limites du hamster test dans les bilans d'infertilité : étude de 190 cas. <i>M. ALBERT, P.Y. PRIMA, N. PARSEGHIAN, F. CARPENTIER, C. POIROT, J. SELVA.</i>	90
Test de fixation à la zone pellucide et corrélation avec la mobilité pour une orientation à l'AMP. <i>T. SASPORTES, B. MARTIN-PONT, P. DARABI, J.X. HUGUES, J.P. WOLF.</i>	91
Les métamorphoses du gamète mâle lors de la spermatogenèse et de la pénétration dans l'ovocyte en microscopie confocale. <i>Y. SOFFER, M. VIGODNE, L. MITTELMAN, D. STRASSBURGER, A. RAZIEL, L.M. LEWIN, R. GOLAN.</i>	92
Effets du fluide d'hydrosalpinx sur les gamètes et la fécondation. <i>C. de VANTERY ARRIGHI, D. CHARDONNENS, D. EL-MOWAFI, A. CAMPANA, H. LUCAS.</i>	93
Le dosage des marqueurs séminaux a-t-il un intérêt pour le clinicien dans le bilan d'une infertilité avec hypovolemie spermatique ? Etude chez 259 patients. <i>J.P. GRAZIANA, J.M. RIGOT, J.M. MAHE, C. GERARD, E. MAZEMAN.</i>	

### **Spermatogenèse**

La connexine 33, une connexine spécifiquement testiculaire ? <i>N. DEFAMIE, C. FIORINI, C. BATIAS, P. FENICHEL, D. SEGRETAI, G. POINTIS.</i>	93
Régulation opposées des connexines 33 et 43 testiculaires par l'interleukine 1 $\alpha$ . <i>C. FIORINI, X. DECROUY, N. DEFAMIE, P. FENICHEL, D. SEGRETAI, G. POINTIS.</i>	94

## **Endocrinologie**

Apport diagnostique du dosage combiné de la FSH et de l'inhibine B avant ICSI. 94  
*B. ZORN, I. VIRANT-KLUN, H. MEDEN-VRTOVEC, J. SINKOVEC.*

Détection immunohistochimique des sous unités  $\alpha$  et  $\beta$ A  
des inhibines-activines dans le testicule humain fœtal et adulte. 95  
*C. MARCHETTI-ANDRE, L. DEWISME, E. HERMAND, J.M. RIGOT,  
V. MITCHELL, A. DEFOSSEZ.*

Analyse de 3 cas de syndrome de Kallman. 96  
*R. SCHOYSMAN, E. VAN ROOZENDAEL, M. VAN DER VORST,  
A. SCHOYSMAN-DEBOECK.*

## **Infection - inflammation**

Evaluation de la présence d'inhibiteurs dans le sperme et le premier jet  
urinaire lors de la recherche de *chlamydia trachomatis* par le kit 96  
amplicor (Roche Diagnostics).  
*F. VIRECOULON, F. WALLET, A. DEFOSSEZ, V. MITCHELL, R. COURCOL.*

Analyse de la leucospermie par cytométrie en flux. Intérêt dans l'exploration  
de l'infection et du syndrome inflammatoire de l'appareil genital masculin. 97  
*T. LEMKECHER, J. FEUILLARD J, B. MARTIN-PONT, P. BISSIÈRES,  
J.N. HUGUES, J.P. WOLF.*

## **Sexualité**

Mise en évidence des propriétés virilisantes de Piper Guineense  
(PG) et Aframomum Melegueta (AM), deux plantes médicinales, chez le rat. 98  
*P. KAMTCHOUING, Y.M. FANDIO, T. DIMO.*

## **Psychologie**

Vécu de l'assistance médicale à la procréation par l'homme. 98  
*C. FORIAZ-GALLEZE, J. ROLLET, M. CHEVRET-MEASSON.*

## **Traumatisme**

Les accidents de la circoncision. 99  
*BENHATCHI, BENATTA, KAZI, ATTAR*

## Prix de DEA

### FERTILITE APRES TUMEUR DU TESTICULE

E. HUYGHE, T. MATSUDA, P. PLANTE,  
F. PONTONNIER, L. BUJAN, R. MIEUSSET,  
M. SOULIE, P. THONNEAU.

*Groupe de Recherche sur la Fertilité Humaine,  
Service d'Urologie et d'Andrologie, Hôpital La  
Grave, 31052 TOULOUSE Cedex.*

#### OBJECTIFS

Etudier la fertilité après traitement des patients ayant présenté une tumeur du testicule au cours de ces 20 dernières années.

#### POPULATION ET METHODES

314 hommes porteurs d'une tumeur du testicule et venus au CECOS Midi-Pyrénées afin de réaliser une conservation de sperme entre 1978 et 1998, ont fait l'objet d'une analyse rétrospective à partir de leurs dossiers chirurgical, oncologique et andrologique, et ont été explorés du point de vue de la fertilité grâce à un questionnaire par courrier. Deux relances par courrier, suivies d'un entretien téléphonique ont été réalisées. Le taux de participation a été de 92%.

#### RESULTATS

La fertilité après traitement de 277 hommes était connue : 138 d'entre eux avaient cherché à avoir une grossesse. 91 (66%) ont eu une grossesse naturellement et 47 (34%) n'y sont pas parvenus.

Les facteurs pronostiques de la fertilité après traitement étaient : avoir un âge supérieur à 25 ans ( $p < 0,004$ ), un antécédent de cryptorchidie ( $p < 0,01$ ), une numération de spermatozoïdes au moment de la conservation inférieure à 10 millions/ml ( $p < 0,0001$ ), une chirurgie des masses résiduelles ( $p < 0,02$ ). Par contre, il n'existait aucune relation significative entre la fertilité et le fait d'être traité par chimiothérapie ( $p < 0,6$ ) ou radiothérapie ( $p < 0,6$ ). Le délai nécessaire pour concevoir (DNC), défini comme le temps écoulé entre le moment de l'arrêt volontaire de la contraception et la date de début de la grossesse, était en moyenne de 3 mois. 60% des couples qui ont eu un enfant l'avaient conçu dans l'année suivant l'arrêt de la contraception. Cependant pour ceux qui avaient arrêté la contraception dans l'année où ils finissaient les traitements, le DNC était allongé (6 mois).

#### CONCLUSION

Dans cette étude réalisée chez plus de 300 patients

atteints de tumeur du testicule, le fait d'être traité par radiothérapie ou chimiothérapie ne paraît pas diminuer la fertilité. Ceci est la première étude prenant en compte le DNC des couples dans lesquels l'homme a une tumeur du testicule.

---

### MISE EN ÉVIDENCE D'ARN MESSAGER SPECIFIQUE DE L'AROMATASE

#### DANS LE SPERMATOZOÏDE HUMAIN

S. LAMBARD, I. GALERAUD-DENIS,  
A. CHOCAT, S. CARREAU

*Laboratoire de Biologie et Biochimie - UPRES EA  
2608, Esplanade de la paix 14032 CAEN*

La présence intracellulaire d'estrogènes (1) et la mise en évidence d'un récepteur non typé ( $\alpha$  ou  $\beta$ ) pour ces hormones (2) sont autant de données permettant d'envisager les spermatozoïdes humains comme des cellules cibles et/ou des cellules source d'estrogènes. Le but de ce travail est d'étudier la possibilité pour les spermatozoïdes humains de synthétiser des estrogènes en recherchant d'une part, la présence de transcrits codant pour l'aromatase et d'autre part, en mesurant l'activité de cet enzyme. En effet, la conversion irréversible des androgènes en estrogènes est liée à l'existence d'un complexe enzymatique le cytochrome P450 aromatase codé par le gène CYP 19, et associé à une réductase ubiquiste.

L'étude porte sur 14 échantillons de sperme éjaculé provenant de patients normospermes (âge moyen, =  $33,6 \pm 1,7$  ans). A partir d'ARN totaux de spermatozoïdes extraits par la technique au thiocyanate de guanidium, l'expression du gène CYP19 a été étudiée par RT-PCR en utilisant des amorces spécifiques. Des cellules de granulosa humaine obtenues à partir de ponctions ovariennes en FIV et une lignée de cellules de rein embryonnaire humain (E293) ont été utilisées respectivement comme témoins positif et négatif. L'activité enzymatique de l'aromatase a été mesurée par la technique à l'eau tritiée après extraction des microsomes. La concentration en estradiol dans les spermatozoïdes a été évaluée par RIA après extraction des stéroïdes par le diéthyléther.

Nous rapportons les résultats suivants :

1) la présence des ARN ribosomiaux 18S et 28S a pu être détectée dans 10 échantillons, sur 14. Il est à noter que le signal observé est plus faible pour la bande 28S par rapport à la bande 18S.

2) une bande de 293 pb, correspondant au signal attendu pour l'ARNm de l'aromatase, a été mise en évidence par RT-PCR dans certains échantillons. Elle est homologue à celle obtenue pour les cellules de la granulosa. Par contre, tous les échantillons expriment l'ARNm codant pour l'enzyme constitutive, la glyceraldéhyde-3-phosphodéshydrogénase (GAPDH).

3) l'étude des ARNm codant pour l'aromatase montre trois types de réponse :

- présence de la bande de 293 pb chez 3 patients (+)
- détection d'un faible signal sous UV chez 6 patients (+/-)
- absence de détection chez les 5 derniers (-)

Les premiers résultats obtenus en « nested-PCR » sur des échantillons (+/- ou -) confirment la présence d'un ARNm codant pour le cytochrome P450aromatase.

Après séquençage des produits de PCR de deux sujets présentant un signal positif pour l'aromatase, l'alignement de leurs séquences sur celle de l'ADNc du cytochrome P450 aromatase humain montre plus de 94% d'identité.

4) l'activité aromatase reste difficile à mesurer pour le suivi individuel des patients (n = 4), compte tenu de la faible quantité de protéines microsomiales ( $317 \pm 65$  pg/ $10^6$  spermatozoïdes vs  $19100 \pm 350$  pg/ $10^6$  cellules de la granulosa).

5) les premiers résultats de mesure du taux intracellulaire d'estradiol dans le spermatozoïde humain ( $47-222$  fmol/éjaculat, n=7) sont en accord avec ceux de Chew et coll ( $33-678$  fmol/éjaculat).

En conclusion, nous avons pu mettre en évidence la présence d'ARN ribosomiaux 18S et 28S dans le spermatozoïde humain éjaculé, contrairement à Goodwin (3) et Miller (4).

Nous rapportons pour la première fois l'existence de messagers codant probablement pour une aromatase biologiquement active dans les spermatozoïdes humains. Il reste à connaître la signification biologique et fonctionnelle de ces transcrits.

1) Chew 1993, Arch. Androl., 30 : 165-70 ; 2) Durkee et coll. 1998; Am.J. Obstet. Gynecol., 178 : 1288-97 ; 3) Goodwin et coll. 2000 ; Mol. Hum. Reprod., 6 : 127-36 et 487-97 ; 4) Miller et coll. 2000 ; F10 - XIth European Workshop on Molecular and Cellular Endocrinology of the Testis, St-Malo, 13-17 Mai

## Prix de DESS

### UTILISATION DES SPERMATOZOÏDES TESTICULAIRES EN ICSI. INTÉRÊT DE LA CULTURE *IN VITRO*

B. SCHUBERT, D. GRIZARD, D. BOUCHER

*Laboratoire de Biologie du Développement et de la Reproduction, Hôtel-Dieu, 63000 Clermont-Ferrand*

Nous présentons la revue de la littérature sur un aspect particulier de l'utilisation des spermatozoïdes testiculaires : la culture *in vitro*. Il est classiquement admis que les spermatozoïdes testiculaires sont immobiles. Cependant depuis les travaux de Craft et ceux de Nagy *et al.* (1995), on sait qu'après quelques heures d'incubation des prélèvements testiculaires *in vitro*, la mobilité des spermatozoïdes peut se développer. Les fragments testiculaires sont dilacérés et une suspension de cellules testiculaires est gardée dans un milieu chimiquement défini de type Earle avec un apport protéique à base d'albumine ou de sérum humain, à 37°C et sous atmosphère contrôlée à 5% de CO<sub>2</sub> et 95% d'air.

Dans les azoospermies obstructives, la culture *in vitro* des spermatozoïdes testiculaires frais permet d'augmenter le pourcentage moyen de spermatozoïdes mobiles. Mais le plus souvent, dès le jour du prélèvement, une proportion appréciable d'entre eux est déjà mobile, la culture perd alors un peu de son intérêt, sauf si une maturation devait exister.

Dans les azoospermies non obstructives, on ne retrouve pas toujours des spermatozoïdes à la ponction testiculaire (jusqu'à 40% de ponction négative selon Palermo *et al.*, 1999) et s'ils sont présents, leur mobilité est toujours faible. Ainsi dans ces cas, l'intérêt de la culture *in vitro* apparaît justifié. Cependant, la plupart des auteurs s'accordent à reconnaître que les résultats restent aléatoires dans ces azoospermies non obstructives. En effet, il n'est pas possible actuellement de savoir si l'on pourra obtenir un gain de mobilité ou se retrouver avec la plupart des spermatozoïdes morts après 2-3 jours de culture, les deux situations ayant été observées.

La nature des milieux nous semble être un facteur important quant au succès de la culture et certaines améliorations peuvent être envisagées. Nous noterons ainsi l'intérêt de la FSH recombinante (Balaban *et al.*, 1999).

Trois à quatre jours de culture permettent d'obtenir les meilleurs résultats en terme d'acquisition de mobilité. Mais, pour la réalisation courante de l'ICSI, la programmation, avec ces délais de temps, reste difficile pour synchroniser la ponction testiculaire et la ponction ovocytaire. Pour pallier en partie à cet inconvénient et éviter une ponction ovocytaire inutile, la cryoconservation des spermatozoïdes a été développée. La culture *in vitro* a été associée à la congélation des spermatozoïdes et il semblerait que sa réalisation préalable à la congélation soit plus efficace que si elle est réalisée après décongélation.

Il n'existe que peu de travaux avec de tels spermatozoïdes utilisés en ICSI. Seuls les résultats avec des spermatozoïdes frais ont été publiés et après 1 à 2 jours de culture de ces spermatozoïdes les résultats sont satisfaisants. Aussi, pour améliorer les résultats de l'ICSI, la culture *in vitro* de spermatozoïdes testiculaires peut constituer une voie de recherche intéressante dans le cas où la quantité de spermatozoïdes retrouvée et/ou leur mobilité sont très faibles.

### Communications orales sélectionnées

#### APPORT DE L'EMBOLISATION DE LA VARICOCELE CHEZ 51 PATIENTS INFERTILES

L. ZINI<sup>1</sup>, J.M. RIGOT<sup>1</sup>, C. BALLEREAU<sup>1</sup>, J.L. DEHAENE<sup>2</sup>, L. LEMAITRE<sup>1</sup>, E. MAZEMAN<sup>1</sup>

<sup>1</sup>CHU Lille, <sup>2</sup>EPARP Polyclinique du bois, Lille.

#### BUTS

Etude des modifications engendrées par la scléro-embolisation de la varicocèle sur la qualité du spermogramme de contrôle à 4 mois.

	Oligo/Azoospermie < 20.10 <sup>6</sup> /ml 36 cas	Oligospermie 1.10 <sup>6</sup> < Spz < 20.10 <sup>6</sup> /ml 22 cas	Oligospermie 0 < Spz < 1.10 <sup>6</sup> /ml 10 cas	Azoospermie 4 cas	Total Embolisés 50 cas
Pré-embolisation	3.10 <sup>6</sup> /ml	<b>5,32.10<sup>6</sup>/ml</b>	<b>0,188.10<sup>6</sup>/m</b>	0	19,6.10 <sup>6</sup> /ml
Post-embolisation	14,6.10 <sup>6</sup> /ml	<b>23,32.10<sup>6</sup>/ml</b> <b>p&lt;0,01</b>	<b>3,5.10<sup>6</sup>/ml</b> <b>p&lt;0,01</b>	1 amélioré	26,7.10 <sup>6</sup> /ml

### PATIENTS ET METHODES

De février 93 à février 2000, 51 patients infertiles avec hypotrophie testiculaire ou oligospermie ont eu une embolisation de varicocèle. Tous ont bénéficié d'une échographie-doppler avec manœuvre de Valsalva et d'un spermogramme. L'indication d'embolisation a été portée devant une oligo-asthénospermie ou une asymétrie testiculaire > 2 ml. Tous ont été revus quatre mois plus tard avec un spermogramme.

### RÉSULTATS

L'âge moyen était de 31 ans (24 à 42 ans) et le délai d'infertilité de 30,4 mois en moyenne (10 à 96 mois). Il s'agissait de 41 infertilités primaires et 10 secondaires. La varicocèle était de grade 1 dans 9 cas, de grade 2 dans 31 cas et de grade 3 dans 8 cas. Dans 3 cas la varicocèle était infra-clinique. Dans 92% des cas (47 patients) une hypotrophie bilatérale (< à 16 ml en échographie) était présente, associée dans 57% des cas (29 patients) à une hypotrophie testiculaire gauche (supérieure à 2 ml) par rapport au testicule droit. 94 % (48 cas) des scléro-embolisations ont eu un bon résultat clinique. La varicocèle persistait cliniquement ou échographiquement dans 2 cas. Dans 2% des cas (1 patient), il n'a pas été possible de cathétériser la veine spermatique gauche. L'évolution du spermogramme (valeurs moyennes) est la suivante :

### CONCLUSION

Dans cette population d'hommes infertiles porteurs d'une varicocèle avec hypotrophie testiculaire, la scléro-embolisation permet d'améliorer l'oligospermie. Elle permet ainsi de proposer des inséminations intra-utérines ou des FIV en lieu et place de l'ICSI.

**ABSENCE DE CORRELATION  
GENOTYPE-PHENOTYPE DANS LES  
ABSENCES DE CANAUX DEFERENTS**

F. ROBERT<sup>1</sup>, F. BEY-OMAR<sup>2</sup>, J. ROLLET<sup>1</sup>, J.F.  
LAPRAY<sup>3</sup>, Y. MOREL<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Institut Rhônalpin, 1, rue Laborde 69500 BRON ;

<sup>2</sup>Hôpital Debrousse, 29, rue Sœur Bouvier 69322

LYON Cedex 05 ; <sup>3</sup>151, avenue de Saxe 69003  
LYON

**INTRODUCTION**

Les absences de canaux déférents sans agénésie rénale sont associées à une mutation du gène de la mucoviscidose dans 65 à 85% des cas. Ce gène code pour la protéine CFTR (cystic fibrosis transmembrane conductance regulator). Les anomalies des épидидymes et des vésicules séminales sont variables et parfois asymétriques. Nous avons étudié les phénotypes des voies excrétrices du sperme en fonction du génotype des mutations de la mucoviscidose.

**PATIENTS ET MÉTHODES**

47 patients présentant une absence uni ou bilatérale des canaux déférents diagnostiquée cliniquement ont bénéficié d'une échographie scrotale, endorectale et rénale, de la recherche des 13 mutations les plus courantes de la mucoviscidose et du variant 5T de l'intron 8 du gène CFTR.

**RÉSULTATS**

Quarante patients ont une absence bilatérale des canaux déférents dont 2 ont une agénésie rénale unilatérale (ARU). Sept patients présentent une absence unilatérale d'un canal déférent dont un a une agénésie rénale. 30 patients (64%) sont porteurs d'une anomalie du gène CFTR. 17 patients n'ont aucune des mutations recherchées dont les 3 porteurs d'une agénésie rénale unilatérale. Les anomalies des vésicules séminales regroupent l'absence, l'hypotrophie ou la dilatation. Les anomalies épидидymaires sont l'absence de queue ou de l'épididyme entier.

On constate qu'il n'existe aucune différence significative entre les différents groupes de patients selon leur génotype et le phénotype des voies génitales en dehors du volume testiculaire moyen plus bas dans les groupes 5T/- et sans mutation par rapport au groupes avec une mutation CFTR (test de Student,  $p < 0,05$ ).

Ceci suggère un même mécanisme physiopathologique concernant les anomalies des voies excrétrices dont une partie seulement est imputable aux mutations du gène CFTR.

**CONCLUSION**

Dans les absences de canaux déférents, les phénotypes des voies excrétrices du sperme sont multiples et ne sont pas corrélés au génotype du gène de la mucoviscidose quel qu'il soit (absence de mutation, une ou deux mutations, présence du variant 5T).

	CFTR/CFTR	CFTR/5T	CFTR/-	5T/5T	5T/ -	-/-	+ ARU
	n=3	n=8	n=8	n = 1	n= 10	n= 14	n=3
VS présente mais anormale	33%	31%	25%	50%	25%	36%	33%
Au moins 1 VS absente	100%	87,5%	87,5%	100%	90%	86%	100%
Au moins une anomalie épидидymaire	67%	25%	50%	0	40%	57%	67%
Volume testiculaire (ml)	16,2 ± 2,9	13,8 ± 3,5	15,9 ± 5,5	9	11,2 ± 4,9*	10,4 ± 3,5*	12,3 ± 6,1



## AZOOSPERMIES ET ICSI

D. LE LANNOU, J.F. GRIVEAU, B. LOBEL

*Unité de Biologie de la, Reproduction ; CECOS de l'OUEST, I, bis rue de la Cochardière, 35000 RENNES*

Dans les azoospermies, le prélèvement chirurgical de spermatozoïdes testiculaires, associé à la congélation, permet la mise en œuvre de l'ICSI dans de bonnes conditions. Nous présentons ici notre expérience dans ces azoospermies en insistant sur trois aspects :

1- Prélèvement chirurgical ou à l'aiguille : nos premiers prélèvements étaient réalisés par voie chirurgicale sous anesthésie générale. Depuis tous les prélèvements ont été réalisés à l'aiguille sous anesthésie locale. Sur les 123 dernières biopsies à l'aiguille réalisées en cas d'azoospermie non-obstructives, 46 ont permis de retrouver des spermatozoïdes mobiles qui ont pu être congelés. La survenue d'incidents à type d'hématome n'a pas été augmentée, et le vécu de la biopsie à l'aiguille pour les patients s'est considérablement amélioré.

2- La congélation est réalisée avec un milieu sans jaune d'œuf, après dilacération des biopsies testiculaires à l'aide de lames de verre. Les résultats des ICSI avec ou sans congélation préalable sont rapportés et ne montrent pas de différence significative : Sans congélation 52 cycles (Tx Féc: 65%) ont permis l'obtention de 15 grossesses (29%) et avec congélation préalable 62 cycles (Tx fec : 60%) ont permis l'obtention de 20 grossesses (32%)

3- Après décongélation, le pourcentage de spermatozoïdes testiculaires dits mobiles est très faible, de l'ordre de 50%, et de plus cette mobilité est très diminuée (spermatozoïdes frémissants) ce qui rend la recherche de ces spermatozoïdes difficile et longue. L'adjonction de pentoxifylline (3mM) augmente en 15 mn la mobilité qui passe à 32%, dont presque 1/3 de progressifs, la recherche de spermatozoïdes mobiles devient plus aisée et rapide, les taux de fécondations et de grossesses étant par ailleurs équivalents.

4- Enfin bien que les séries soient faibles, il ne semble pas y avoir de différence entre les azoospermies obstructives et non-obstructives : dans les obstructives (n = 55 cycles) le taux de fécondation est de 63% et le taux de grossesses de 30%, alors que dans les non-obstructives (n = 58 cycles) le taux de fécondation est de 60% et le taux de grossesses de 27%. Aucune malformation n'a été observée sur les 26 enfants nés vivants.

## STRESS PSYCHOLOGIQUE, DEPRESSION ET ANXIÉTÉ DES HOMMES INFERTILES SLOVÈNES

B. ZORN, I. VIRANT-KLUN, V. VELIKONJA

*Centre d'Andrologie, Service de Gynécologie-Obstétrique Centre clinique universitaire, Ljubljana, Sloveie*

### INTRODUCTION

Certaines études font intervenir le stress psychologique, en particulier celui lié aux catastrophes, au décès de parent proche ou encore en rapport avec le milieu professionnel comme facteur d'influence négative sur la qualité du sperme. Le but de l'étude est d'appréhender si le stress psychologique est présent dans une population d'hommes infertiles et s'il a une quelconque influence sur le sperme.

### MATÉRIEL ET MÉTHODES

De décembre 1999 à septembre 2000, 370 hommes qui consultent pour stérilité ont été sollicités pour participer à l'étude. Chaque patient était examiné, donnait son sperme pour spermogramme et remplissait un questionnaire. Celui-ci avait trait à son style de vie et à la fréquence de l'exposition au stress ; il appréciait le degré de dépression (WHO Euro Five Well Being Questionnaire) et l'anxiété (Anxiety Scale Inventory de Zung).

### RÉSULTATS

Les hommes sont âgés de 33 ans (entre 23 et 51 ans). La durée de l'infertilité est de 3,6 années  $\pm$  3,1. 50% ont un niveau d'études secondaires, 38% vivent en ville et 93% ont un emploi. 42% disent être exposés à des toxiques, radiations, et à des températures inappropriées au travail. 40% fument, 25% plus de 10 cigarettes par jour. Ils ont en moyenne 2,8 rapports sexuels par semaine. 12,7% avouent des difficultés d'ordre sexuel.

*Les résultats obtenus avec le Questionnaire WHO Euro Five Well Being* montrent que la dépression est présente dans 11,2% des cas (la prévalence dans une population générale étant de 3-4%). La mesure de l'état anxieux à l'aide de l'échelle de Zung montre que 16,5% des hommes sont confrontés à une symptomatologie anxieuse au moins transitoire. La fréquence de l'exposition au stress est fortement corrélée à l'anxiété et à la symptomatologie dépressive. L'anxiété est positivement corrélée à la durée de l'infertilité, aux difficultés sexuelles, à l'excès d'absorption d'alcool et nombre de situations stressantes telles que un déménagement, un accident de la circulation et les désagréments sur le lieu de travail (bruit, vibrations). La dépression est plus présente chez les plus

âgés, chez ceux qui rapportent une maladie personnelle, les fumeurs et narcomanes. Une dépression supérieure est encore en rapport avec des rapports sexuels moins fréquents.

### **Effets négatifs du stress psychologique sur la qualité de sperme**

Le stress en général affecte négativement la mobilité des spermatozoïdes. Celle-ci est encore détériorée en cas de conflit à l'intérieur du couple. Le stress en rapport avec une maladie chez l'homme est responsable de baisse de la vitalité. On observe plus d'anomalies de la pièce intermédiaire chez l'homme qui se plaint que sa femme ne tombe enceinte. Chez les patients plus déprimés, il y a plus d'anomalies de la queue du flagelle.

### **CONCLUSION**

Notre population d'hommes infertiles souffre anormalement de dépression et d'anxiété. L'état de stress s'y rapportant retentit négativement sur les paramètres spermatiques. L'analyse ultérieure montrera si ces particularités sont liées avec quelque structure de personnalité primaire et s'il y a tendance à convertir cette pression psychique au niveau physique, ce qui pourrait donner lieu à des difficultés psychosomatiques avec pour conséquence des difficultés au niveau de la fertilité.

---

### **ANOMALIES D'EXPRESSION DE LA CONNEXINE 43 DANS LE CANCER DU TESTICULE HUMAIN ET DANS UNE LIGNEE SEMINOMATEUSE.**

C. ROGER<sup>1</sup>, H. TANAKA<sup>1</sup>, D.CHEVALLIER<sup>1</sup>,  
J.F. MICHEL<sup>2</sup>, G. POINTIS<sup>1</sup>, P.FENICHEL<sup>1</sup>

<sup>1</sup>GRER,EMI 00-09, Faculté de Médecine de Nice,  
28, Avenue de Valombrose, 06000 NICE CEDEX 2

<sup>2</sup>Laboratoire d'Anatomie Pathologie CHU  
PASTEUR NICE

La spermatogenèse est un modèle contrôlé de prolifération et de différenciation cellulaires. Ce contrôle est assuré essentiellement via la cellule de Sertoli par des facteurs endocrines et paracrines. Des jonctions communicantes ont également été décrites au niveau des tubes séminifères ainsi que leurs protéines constitutives, les connexines. Nous avons localisée la connexine 43 (Cx43) à l'interface cellule de Sertoli/cellules germinales basales, sug-

gérant l'implication des gap junctions dans la prolifération des cellules germinales (Batias et coll, 2000). L'altération de la communication jonctionnelle a été souvent associée au processus de prolifération malin, donc nous avons étudié l'expression de la Cx43 (ARN et protéine) dans une banque de séminomes humains purs, congelés à l'état frais, ainsi que dans une lignée séminomateuse humaine.

Par RT-PCR, nous avons observé la présence d'un transcrite de la Cx43 à la taille attendue (1157pb) dans toutes les biopsies de séminome humain (n=4). En revanche, trois bandes supplémentaires, aux tailles respectives de 600, 400, et 200 pb ont été détectées dans la lignée séminomateuse. L'analyse par Western Blot, révèle la présence de la protéine (43kDa) dans nos deux modèles. Par contre, l'analyse par immunofluorescence indirecte, indique une absence de marquage membranaire et une localisation intracytoplasmique de la protéine, excluant la possibilité de former des plaques jonctionnelles fonctionnelles composées de Cx43.

Ces observations révèlent que les ARNm de la Cx43 et la protéine sont exprimés dans les séminomes purs et dans la lignée séminomateuse humaine. Elles suggèrent l'hypothèse qu'une altération de la communication jonctionnelle, liée soit à un défaut dans la transcription du gène de la Cx43, soit à des troubles du trafic intracellulaire de la protéine, pourrait être un facteur favorisant la prolifération séminomateuse.

---

### **EFFETS SUR LE SPERMATOZOÏDE HUMAIN DU DIURON (3-(3,4-DICHLOROPHÉNYL)-1,1-DIMÉTHYL-URÉE) ET DE L'UN DE SES PRODUITS DE TRANSFORMATION, LE DICHLOROANILINE**

C. MALPUECH-BRUGÈRE<sup>1</sup>, G. GRIZARD<sup>1</sup>,  
P. BOULE<sup>2</sup>, D. BOUCHER<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratoire de Biologie de la Reproduction-  
CECOS Hôtel Dieu Clermont-Ferrand

<sup>2</sup>Laboratoire de Photochimie Moléculaire et  
Macromoléculaire-UFR Blaise Pascal  
Clermont-Ferrand

Le Diuron est un herbicide appartenant à la famille des halogénophénylurées. Un test biologique utilisant la bactérie *Vibrio fischeri* a montré que les produits de biotransformation ou phototransforma-

tion sont plus toxiques que le Diuron lui-même (Tixier et coll. 2000). Tous ces composés sont des molécules très lipophiles et une membrane cellulaire riche en lipides comme celle du spermatozoïde pourrait être une cible privilégiée pour leur interaction avec la cellule.

Des études sont actuellement en cours dans notre laboratoire afin d'évaluer les effets *in vitro* du Diuron et de l'un de ces produits de transformation, le dichloroaniline (obtenu par déméthylation de la fonction urée) sur les propriétés structurales et fonctionnelles du spermatozoïde humain.

Les études sont réalisées à partir de spermatozoïdes présentant des caractéristiques normales d'après les critères de l'OMS. Les spermatozoïdes sont purifiés sur gradient discontinu de Percoll (47,5%/95%), et le culot est lavé dans un milieu T6 dépourvu de rouge de phénol, supplémenté par 7,5 % de sérum humain décomplémenté puis remis en suspension dans ce milieu.  $3 \times 10^6$  spermatozoïdes sont incubés en présence de concentrations croissantes de composés (de 0,1 à 5 mM) dans un volume final de 250  $\mu$ l. L'incubation est réalisée dans des microplaques de 96 puits, pendant 24 heures, à température ambiante. Des témoins sont réalisés dans les mêmes conditions en utilisant le solvant de ces composés. Des prélèvements sont effectués après 0,4 et 24 heures d'exposition et différents paramètres sont mesurés : la vitalité, évaluée par la coloration éosine/négrosine, la mobilité, appréciée au microscope optique, la fluidité membranaire appréciée par mesure de l'anisotropie par polarisation de fluorescence en utilisant une sonde lipophile, le 1,6-Diphényl-1,3,5-Hexatriène.

Nos premiers résultats mettent en évidence, après 4 heures d'exposition, à la forte concentration de Diuron, une diminution de la mobilité des spermatozoïdes sans atteinte significative de leur vitalité ; après 24 heures, la vitalité est très abaissée. L'anisotropie (inversement proportionnelle à la fluidité membranaire) est diminuée dès 4 heures.

Après 4 heures d'incubation, en présence de 5 mM de dichloroaniline, tous les spermatozoïdes sont morts. Au niveau membranaire, ceci se traduit par une augmentation de l'anisotropie.

D'après ces résultats, la toxicité des molécules testées *in vitro* sur le spermatozoïde serait liée, en partie à une atteinte membranaire. Cette étude préliminaire suggère que les spermatozoïdes humains pourraient être utilisés comme indicateur pour évaluer la toxicité des pesticides.

## Prix de Communication Affichée

### ANALYSE DES RÉSULTATS DE 250 SPERMOCULTURES RECUEILLIES AU LABORATOIRE DE SPERMIOLOGIE DU CHRU DE LILLE

DE DÉCEMBRE 1999 À MAI 2000.  
CONDUITE À TENIR.

F. VIRECOULON, A. FRUCHART-FLAMENBAUM, F. WALLET, A. DEFOSSEZ, M. C. PEERS, V. MITCHELL

*Laboratoire de Spermologie, Hôpital Calmette, Biologie de la Reproduction, CHRU, Bd du Pr J. Leclercq 59037 Lille Cedex.*

## INTRODUCTION-BUT

La spermoculture (Spc) est obligatoire avant toute tentative d'Assistance Médicale à la Procréation (AMP). Il n'y a cependant pas de consensus pour interpréter la présence de bactéries banales dans le sperme : il peut être contaminé par la flore de l'urètre antérieur lors de l'éjaculation, et la signification clinique d'une colonisation du tractus génital chez un homme asymptomatique reste mal comprise.

Nous avons tenté de définir des lignes de conduite en analysant les résultats de 250 Spc.

## MÉTHODES

Recueil du 1<sup>er</sup> jet urinaire (UI) et du sperme, et mise en culture en parallèle sur milieux standards et sur milieux spéciaux pour mycoplasmes (seul *Ureaplasma urealyticum* (UU) est considéré ici).

## RÉSULTATS

- Spc stérile (absence de germes banaux ou de UU) : 30,8%.
- Spc avec germes à taux non spécifiques (flore banale polymicrobienne et/ou UU à taux faible ou nul) : 40%.
- Spc avec germes à taux significatifs (1 à 3 germes banaux  $\geq 10^3$  UFC/ml et/ou UU à taux fort) : 29,2%.

Pour ces dernières :

- **l'application des seuils de pathogénicité adaptés de de Barbeyrac et al.<sup>1</sup>** (taux  $\geq 10^4$  UFC/ml pour les entérobactéries, les entérocoques et les streptocoques  $\beta$ -hémolytiques, taux  $\geq 10^5$  UFC/ml pour les autres germes banaux) permet de considérer un nombre final de **spermocultures positives** de : **16,4%**.

- 2/3 des germes banaux à seuil pathogène sont en quantité dans le sperme au moins 10 fois supérieure à celle dans UI (origine haute, prostatique, vraisemblable).

- UU, présent à **taux fort dans 8,8%** des Spc, se retrouve à un taux fort dans UI dans 73% des cas ; un taux fort uniquement dans le sperme est associé à une absence de germes banaux en quantité significative dans le sperme ( $P < 0,02$ ), alors que UU est associé dans 60% des cas à un germe banal (essentiellement *Gardnerella vaginalis*).

## CONCLUSION

Si un germe banal à seuil pathogène de type E. coli, qui contamine les milieux d'AMP, doit être traité, un germe banal isolé seul, sans mycoplasme, à un seuil pathogène, et dont on ne connaît pas le retentissement, doit être traité selon le contexte (asthénozoospermie). Par contre, un taux fort d'UU isolé, ou l'association d'un germe banal à seuil pathogène à un taux fort d'UU sont probablement le reflet d'une contamination basse réciproque homme/femme, et on peut simplement proposer l'évaluation d'un traitement du couple en vue d'améliorer l'implantation embryonnaire.

1 B. de Barbeyrac, C. Bébéar & C. Mathieu. Inflammation de l'appareil génital masculin et reproduction : le point de vue du bactériologiste. *Andrologie*, 1998, 8 (3) : 245-253.

## Azoospermie et AMP

### BIOPSIE TESTICULAIRE CHEZ 4 PATIENTS PRÉSENTANT UN SYNDROME DE KLINEFELTER HOMOGÈNE : ANALYSE PAR FISH DES CELLULES OBTENUES ET RÉSULTAT DES ICSI.

M. BERGÈRE, B. WAINER, M. BAILLY, B. GUTHAUSER, R. LOMBROSO, M. ALBERT, P. CAUVELET, J. SELVA

CHIPS, Service Histologie Embryologie, Cytogénétique, Biologie de la Reproduction, 10, rue du Champ Gaillard - BP 3082 - 78303 POISSY.

**LE BUT DE L'ÉTUDE** est d'évaluer les possibilités de spermatogenèse des gonies 47,XXY et 46,XY chez 4 patients Klinefelter homogènes dans le sang et d'estimer le taux d'aneusomies des cellules haploïdes trouvées chez les mêmes patients pour les trois chromosomes étudiés X, Y, 18.

### PATIENTS - MATÉRIEL ET MÉTHODES

Les quatre patients étaient azoospermes d'âge compris entre 33 et 47 ans et présentaient un caryotype sanguin 47,XXY homogène (50 mitoses comptées et FISH sur 200 noyaux lymphocytaires).

Après biopsie testiculaire sous anesthésie locale les fragments ont été dilacérés et les cellules isolées observées au microscope inversé. Pour chaque patient, deux frottis de ces cellules isolées ont été réservés pour la FISH faite à l'aide de 3 sondes Chromoprobe directement marquées et spécifiques de X, Y, 18 (Amplitech-Cytocell®). Les lames marquées ont ensuite été lues sur microscope Olympus BX60, connecté à un système PSI. Lorsque des spermatozoïdes testiculaires ont été trouvés à l'examen direct (3 patients) ils ont été congelés en vue d'ICSI.

## RESULTATS

Patient	Cellules Hybridées	Cellules diploïdes	Pachytène	Spermatocytes II	Spermatides	Spermatozoïdes
1	54	47,XXY = 54	0	0	0	0
2	26	46,XY = 7 47,XXY = 1		XX1818 = 1	X18 = 8 Y18 = 5 XY18 = 1	X18 = 3
3	68	46,XY = 17 47,XXY = 12	46,XY = 7	XX1818 = 2	X18 = 5 Y18 = 9	X18 = 6 Y18 = 8 X1818 = 2
4	93	46,XY = 37 47,XXY = 15	46,XY = 13	XX1818 = 1	X18 = 11 Y18 = 12	X18 = 1 Y18 = 1 YY18 = 1 Y1818 = 1
Total	243	124	20	4	51	23

Pour le seul patient qui ne présentait que des cellules de Sertoli, tous les noyaux hybridés étaient XXY. Les trois patients Klinefelter et présentant des spermatozoïdes testiculaires étaient en fait mosaïques au niveau testiculaire avec des cellules diploïdes (soit préméiotiques soit somatiques) XY et XXY. Les 20 cellules observées au stade pachytène étaient XY. Le taux d'aneusomie post méiotique pour les chromosomes testés s'élevait à 6,7% et concernait à la fois la paire XY, l'autosome 18 et l'Y seul. Quatre tentatives d'ICSI ont été réalisées avec un taux de fécondation de 43 %. Les 4 transferts ont abouti une grossesse biochimique et une grossesse évolutive (enfant né à terme normal).

## CONCLUSION

Ces différents résultats soutiennent l'hypothèse de l'entrée en méiose des seules cellules souches XY : toutes les cellules au stade pachytène étaient XY et les aneuploïdies post méiotiques concernaient aussi fréquemment l'autosome 18 que la paire XY. Ceci est en faveur d'une altération de la méiose de

gonies de caryotype normal XY soumises à un environnement testiculaire délétère. Les conditions du suivi prénatal seront discutées.

## GROSSESSES OBTENUES APRES CONGELATION DE SPERMATOZOIDES TESTICULAIRES CHEZ DES SUJETS AZOOSPERMIQUES 47,XXY NON MOSAÏQUES.

B. WAINER, M. BERGERE, M. ALBERT, M. BAILLY, R. LOMBROSO, J. SELVA.

Centre d'AMP du CH Poissy-Saint-Germain, 10, rue du Champ Gaillard, 78300 Poissy

**BUT DE L'ÉTUDE :** Evaluer l'efficacité, chez les azoospermiques 47XXY non mosaïques, de l'ICSI différée utilisant des spermatozoïdes testiculaires congelés après biopsie testiculaire première.

Matériel et méthodes	Patient N°1	Patient N°2	Patient N°3
Age/Taille/Poids	32ans/176cm/85Kg	32ans/170cm/65Kg	36ans/184cm/80Kg
Gynécomastie	Légère	Absente	Absente
Volume testiculaire	D : 6ml ; G : 6ml	D : 4ml ; G : 5ml	D : 6ml ; G : 6ml
Spermogramme	Azoospermie	Azoospermie	Azoospermie
Caryotype (sang)	47 XXY	47 XXY	47XXY
FISH (nbre de cell étudiées)	241	220	225
Gène DAZ	Non délété	Non délété	Non délété
FSH (male < 12 ui/l)	30,6 ui/l	33,7 ui/l	26 ui/l
Testo (2.8 à 8 ng/ml)	3,2 ng /ml	4,7 ng / ml	4,18 ng/ml
Inhibine B	22 pg/ml	< 5 pg/ml	15pg/ml

## RESULTATS

Biopsies testiculaires (BT)	Droite : 3 BT (-) Gauche : 3BT dont 1 BT(+) Qqs spz dont certains mobiles	Droite : 2 BT (-) Gauche : 2 BT dont 1 BT (+) Qqs spz dont certains mobiles	Droite : 4 BT dont 2 BT(+) Gauche : 4 BT (-) Qqs spz tous immobiles
ICSI n°1	1 paill sperm. décongelée 1 embryon type I transféré	2 paill sperm. décongelées 2 embryons type II transférés	1 paill sperm décongelée 2 embryons type I, II transférés
Grossesse	Evolution normale Conseil génétique, mais refus de diagnostic prénatal	(-)	Grossesse biochimique
Naissance	Au terme de 41 SA Garçon sans anomalie P = 3800 g T=52cm	/	/
ICSI n°2	/	1 paill sperm. décongelée 3 embryons type I,II,III trans	En cours
Grossesse	/	(-)	

**CONCLUSION :** La multiplication de mini-biopsies testiculaires permet l'obtention de quelques spermatozoïdes utilisables après décongélation lors d'une « ICSI différée » et cela même chez les azoospermiques 47 XXY, Klinefelter dit homogène. Sur les 18 biopsies testiculaires réalisées chez ces 3 patients, 4 biopsies seulement étaient positives (22%). 8 embryons ont été transférés à l'occasion de ces 4 cycles, permettant d'obtenir une grossesse biochimique et une grossesse clinique avec la naissance d'un garçon bien portant.

---

### **LES BIOPSIES TESTICULAIRES RÉPÉTÉES POUR ICSI SONT-ELLES BÉNÉFIQUES OU CALAMITEUSES ?**

Y. SOFFER, D. STRASSBURGER, A. RAZIEL,  
M. SCHACHTER, R. RON-EL, S. FRIEDLER

*Centre d'infertilité masculine et Unité de FIV,  
C.H.U. Assaf Harofé, Faculté de médecine Sackler,  
Université de Tel Aviv. Tel Aviv, Israël.*

La biopsie testiculaire (TESE) est la méthode de choix pour prélever les spermatozoïdes testiculaires indispensables à l'ICSI chez les couples infertiles avec azoospermie non obstructive. En cas de TESE infructueuse en première tentative ou après épuisement des spermatozoïdes cryopréservés, on ne peut que répéter la TESE, si le couple s'oppose au don de sperme. La littérature dans ce domaine étant parcimonieuse, notre but est d'établir un bilan valide de ces interventions répétées.

#### **MATÉRIEL ET MÉTHODES**

Cette étude porte sur 92 sujets azoospermiques (d'origine non obstructive) ayant subi des TESE à répétition à des intervalles de plus de six mois. L'âge moyen des maris et des femmes était de 33,8 ± 6,4 et 30 ± 5,5 ans respectivement. Les taux masculins du FSH et de la testostérone étaient de 23,3 ± 13,4 mIU/mL et 11,6 ± 6,1 ng/mL respectivement. 12% des cas étaient Klinefelter. Chez les autres, l'examen histologique témoignait d'une aplasie germinale dans 50% des cas, d'arrêt de maturation dans 21% des cas, et d'hypospermatogénèse dans 17%. A chaque intervention, deux à trois biopsies étaient prélevées de chaque testicule. Chez 20 sujets, la TESE a été répétée au moins une fois, et 2, 3 et 4 fois dans 8, 6 et 3 cas respectivement. Le bilan des TESE-ICSI répétées, avec sperme frais a été comparé à celui des premières procédures.

### **RÉSULTATS**

Dans les premières TESE, aucun spermatozoïde mature n'a été trouvé dans 57 cas ("Spz-" ; 62%). Chez 35 sujets ("Spz+" : 38 %) la TESE avait permis de pratiquer l'ICSI. A la seconde intervention, des spermatozoïdes ont été trouvés dans un cas sur quatre "Spz-" et dans tous les 16 cas "Spz+" Les tentatives ultérieures de prélèvement ne furent faites que sur les sujets "Spz+". Du sperme testiculaire a pu être prélevé à la troisième tentative chez tous les huit sujets, au quatrième essai dans quatre cas sur six, et au cinquième dans tous les trois cas. L'absence totale de fécondation n'a été observée que dans 3/35 ; 0/17 ; 1/8 ; 0/4 ; 0/3 dans l'ordre au 1er, 2ème, 3ème, 4ème et 5ème prélèvement. Dans cet ordre, le taux de fécondation était de 56 ± 25 ; 47 ± 25 ; 25 ± 22 ; 64 ± 20 ; 53 ± 14 %. Après transfert d'embryons, les taux d'implantation correspondants étaient de 11,4 ; 7,9 ; 8 ; 7,7 et 0 % donnant des taux de grossesses par cycle d'ICSI de 24,2 ; 17,6 ; 12,5 ; 25 et 0 %, respectivement. Comparés au bilan des premières TESE-ICSI, les résultats des ICSI avec biopsies répétées ne montrent aucune différence significative. Des grossesses ont été obtenues indifféremment du diagnostic clinique ou histologique de l'azoospermie, à l'exception de l'arrêt de maturation. Quant aux complications, nous n'avons relevé que 4 hématomes péri-testiculaires résorbés spontanément, tous consécutifs au premier prélèvement.

#### **CONCLUSION**

Les prélèvements testiculaires peuvent, s'il le faut, être répétés sans risque ajouté ni baisse de chances de grossesse. Ils sont donc bénéfiques, à l'exception des cas d'arrêt de maturation des spermatozoïdes. De plus larges études sont néanmoins nécessaires pour corroborer ces résultats.

---

### **BILAN DE TROIS ANS DE PRISE EN CHARGE DES AZOOSPERMIES EN ICSI**

J. PERRIN, J. SAIAS-MAGNANT, O. PAUL-MYER-LACROIX, M. MOLLAR-FABBRICELLI, C. METZLER-GUILLEMAIN, L. LACROIX-SERTHELON, G. PROCU-BUISSON, G. SERMENT, M. GAMERRE, J.M. GRILLOT

*Hôpital de la Conception 13385 MARSEILLE  
Cedex 05*

Le but de cette étude est d'analyser l'ensemble des tentatives d'ICSI réalisées dans notre centre entre 1997 et 1999 avec des spermatozoïdes prélevés chirurgicalement, pour des azoospermies sécrétoires et excrétoires. 94 tentatives d'ICSI ont été analysées :

43 provenaient de biopsies testiculaires (BT), et 51 de prélèvements épидидymo-déférentiels (PED). Parmi les ponctions issues de B.T., 19 correspondaient à des azoospermies sécrétoires (FSH > 8). Les prélèvements chirurgicaux étaient tous synchrones de la ponction ovocytaire. Une auto-conservation de spermatozoïdes a pu être réalisée au cours de 35 cycles (11 en BT et 24 en PED). Dans un premier temps sont analysés les résultats globaux en BT et en PED, puis est envisagée l'influence éventuelle de la FSH sur les résultats des ponctions et le bilan des auto-conservations réalisées.

Le bilan global des 3 années confondues nous montre un plus grand pourcentage de ponctions positives dans le groupe des prélèvements épидидymo-déférentiels (PED: 72,5%) par rapport à celui des biopsies testiculaires (BT: 60,4%). L'âge moyen des femmes est comparable mais on note un rajeunissement de la population (féminine et masculine) dans le groupe des BT de 1997 à 1999. 265 ovocytes ont été recueillis en BT, 213 étaient fécondables et 97,6% ont pu être injectés avec un taux de fécondation diploïde de 36,6%. Dans le groupe des PED, 446 ovocytes ont pu être recueillis, 332 étaient fécondables et 100% ont été injectés avec un taux de fécondation diploïde plus important (51,5%). Le nombre moyen d'embryons transférés est semblable dans les deux groupes. Les taux globaux de grossesses par ponction positive sont comparables (26,9 et 27%) mais l'analyse année par année montre une augmentation importante de ces valeurs de 1997 à 1999 dans le groupe des BT uniquement (11,1% en 1997 vs 50% en 1999).

Les pourcentages de fausses-couches spontanées sont plus importants dans le groupe des BT (28,5% vs 20% en PED). Au total, 11 enfants sont nés en bonne santé et 3 grossesses sont en cours.

Nous avons pu congeler des spermatozoïdes surnuméraires après l'ICSI dans 23% des BT et 54,5% des PED. 3 grossesses cliniques ont été obtenues sur 6 ICSI avec spermatozoïdes testiculaires autoconservés et 2 grossesses cliniques sur 14 ICSI avec spermatozoïdes épидидymaires autoconservés.

Le taux moyen de FSH est de 13,1 UI en BT vs 6,17 UI en PED. Dans le groupe des BT, les taux de FSH sont significativement plus importants en cas d'échec de ponction spermatique ou de ponction insuffisante (16,9 UI et 23,3 UI) comparés aux ponctions pour lesquelles le nombre de spermatozoïdes prélevés était suffisant pour réaliser l'injection de tous les ovocytes fécondables (8,8 UI).

Notre attitude qui consiste à réaliser le prélèvement chirurgical masculin de façon synchrone de l'ICSI expose la femme à un recueil masculin néga-

tif dans environ 40 % des BT. Mais cela nous permet de nous garantir dans les cas extrêmes en obtenant des embryons puis des grossesses là où la congélation de spermatozoïdes aurait été difficile voir impossible. Il semblerait dans notre étude qu'un taux élevé de FSH soit un facteur de mauvais pronostic en terme de recueil spermatique, mais pas en terme de grossesses (28.6% de grossesses dans les B.T. à FSH élevée versus 23.52% dans celles avec FSH. normale).

---

## Spermiologie et AMP

### APPORT DE L'EXAMEN ULTRASTRUCTURAL DES SPERMATOZOÏDES DANS LE CADRE DE L'ASSISTANCE MEDICALE A LA PROCREATION (AMP)

M. ALBERT, C. ROUSSEL, B. DECROSSAS, C. CARPENTIER, C. POIROT, J. SELVA

*CHIPS, Service Histologie Embryologie,  
Cytogénétique, Biologie de la Reproduction  
10, rue du Champ, Gaillard, BP 3082 - 78303  
POISSY CEDEX*

Le but de l'étude est de préciser les indications à retenir pour l'analyse ultrastructurale dans les bilans d'infertilité ou après un échec de Fécondation *In Vitro* (FIV). Au delà de la mise en évidence de certaines anomalies ultrastructurales, l'objectif est aussi de contribuer au choix de l'AMP appropriée et d'orienter le conseil génétique éventuel.

### MATÉRIELS ET MÉTHODES

**Patients** : Groupe 1 : 52 patients avec un échec complet de clivage lors d'une tentative de FIV.

Groupe 2 : 62 patients avec des altérations spermatiques et/ou un échec d'IIU. Les sujets présentant une dyskinésie majeure (< 5 % de mobilité progressive) ou une oligospermie notable (< 5 millions/ml) ont été exclus de cette étude.

**Méthodes** : L'étude a été réalisée au microscope électronique à transmission (MET). Nous rapportons l'analyse plus particulièrement des composants suivants :

\* Au niveau céphalique : morphologie de l'acrosome, présence de restes périacrosomiques et aspect des capes post acrosomiques.

\* Au niveau flagellaire : anomalies du complexe axonémal et périaxonémales.

## RÉSULTATS

Quand les paramètres spermatiques sont normaux, qu'il s'agisse d'échec de FIV ou d'IU, l'étude ultrastructurale montre certes des anomalies notables des composants céphaliques dans plus de 50% des cas, mais les anomalies flagellaires sont rares. Par contre, dans 90% des cas d'asthénospermie à mobilité progressive comprise entre 5 et 20%, les taux d'anomalies ultrastructurales céphaliques et flagellaires sont très élevés. Il s'agit donc d'une indication majeure à l'étude en microscopie électronique. Il en est de même pour 80% des patients présentant une tératospermie (formes typiques <20%) décelée au spermocytogramme. On notera enfin que dans notre série d'asthénospermies (37 sujets), nous avons diagnostiqué 5 cas d'absence totale des bras externes de dynéine, ce qui oriente vers l'ICSI.

## DISCUSSION - CONCLUSION

L'étude ultrastructurale garde tout son intérêt avant AMP, surtout dans tous les cas d'asthénospermie. Elle permet dans cette indication de repérer des anomalies justifiant la pratique de l'ICSI. Au delà de l'orientation thérapeutique, le recours à cette analyse est tout à fait fondé compte tenu du risque génétique de transmission d'anomalies, l'absence de dynéine en étant l'exemple le plus typique.

## INTERET ET LIMITES DU HAMSTER TEST DANS LES BILANS D'INFERTILITE : ETUDE DE 190 CAS.

M. ALBERT, P.Y. PRIMA, N. PARSEGHIAN, F.  
CARPENTIER, C. POIROT, J SELVA

*CHIPS, Service Histologie Embryologie,  
Cytogénétique, Biologie de la Reproduction  
10, rue du Champ Gaillard - BP 3082 - 78303  
POISSY CEDEX*

**BUT DE L'ÉTUDE** Afin de mieux préciser l'intérêt et les indications du hamster test dans les bilans d'infertilité, nous rapportons les résultats de tests pratiqués dans différentes situations, avant Assistance Médicale à la Procréation (AMP) ou après échec de Fécondation *In Vitro* (FIV). Nous avons analysé ces résultats dans les différents groupes de patients.

## MATÉRIELS ET MÉTHODES

**Patients** : 190 sujets ont été testés dans le cadre de

l'AMP. soit après un échec de clivage en FIV (n=99), soit en raison d'altérations des paramètres spermatiques ou d'échecs d'IU (n=91).

**Méthodes** : tous les tests ont été réalisés dans des conditions standardisées : migration des spermatozoïdes mobiles, capacitation overnight, induction de la réaction acrosomique par le ionophore A23187 et ajustement de la concentration des spermatozoïdes mobiles inséminés (CSMI). 30 à 50 ovocytes dépelucidés de hamster ont été testés par patient. Le sperme d'un témoin fertile a été testé dans les mêmes conditions à chaque expérience.

## RÉSULTATS

Les taux de pénétration (TP) des ovocytes de hamster sont corrélés significativement aux principaux paramètres spermatiques examinés. L'association de plusieurs altérations contribue à la négativité du test. Toutefois, il n'a pas été établi de valeur seuil de chacun de ces paramètres en dessous de laquelle tous les tests seraient négatifs.

La répartition des résultats est très variable selon les groupes patients :

	0<TP< 15%	TP > 15 %	TP = 0%
Altérations spermatiques n=58	20/58 (34,5 %)	17/58 (29,3 %)	21/58 (36,2 %)
Echec de FIV et sperme altéré n=53	13/53 (24,1 %)	12/53 (22,2 %)	28/53 (53,7 %)
Echec de FIV inexplicé n=46	5/46 (10,9 %)	6/46 (13 %)	35/46 (76,1 %)
Infécondité inexplicée n=33	1/33 (3 %)	3/33 (9,1 %)	29/33 (87,9 %)

Aucun hamster test négatif (TP=0) n'a été observé chez les témoins.

## DISCUSSION - CONCLUSION

En l'absence de pathologie spermatique, les tests sont très majoritairement positifs, y compris en cas d'échec de FIV. Il n'y a donc pas d'indication au hamster test quand les caractéristiques spermatiques sont normales.

A l'inverse, un test négatif suggère une inaptitude des spermatozoïdes à effectuer une ou plusieurs des étapes de la fécondation. Ces tests négatifs, associés le plus souvent à des altérations de la mobilité et/ou de la morphologie, nous paraissent avoir une valeur pronostique négative pour une FIV ultérieure. Ces indications méritent d'être retenues. Il reste à valider ce test par l'observation des résultats de la prise en charge de ces patients en AMP.



# TEST DE FIXATION À LA ZONE PELLUCIDE ET CORRÉLATION AVEC LA MOBILITÉ POUR UNE ORIENTATION À L'AMP

T. SASPORTES, B. MARTIN-PONT, P. DARABI, J.X. HUGUES, J.P. WOLF

*Service d'Histologie Embryologie Cytogénétique  
Laboratoire de Biologie de la Reproduction*

*Hôpital Jean Verdier, Avenue du 14 Juillet, 93140  
Bondy*

## INTRODUCTION

La décision d'engager un couple vers une FIV ou une ICSI est parfois difficile. C'est le cas des infertilités idiopathiques et des oligoasthénospermies permettant de récupérer  $\geq 0,5 \cdot 10^6$  spermatozoïdes mobiles/ml après migration. Nous avons évalué un test de fixation à la zone pellucide pronostic en utilisant les pellucides d'ovocytes immatures non injectés en ICSI maturés *in vitro*.

## MATÉRIEL ET MÉTHODE

Un sperme témoin fertile est incubé avec du FITC (0,2 mg/ml). Les spermatozoïdes testés et les spermatozoïdes témoins sont préparés par gradient 2 couches de PurespermR (90 et 45%). Les zones pellucides sont utilisées fraîches ou conservées dans une solution de sulfate d'ammonium à 4°C. Elles sont inséminées dans les mêmes conditions que la FIV (18 h à 37°C avec 5 % de CO<sub>2</sub>), mais avec un mélange de 50/50 de spermatozoïdes témoins et à tester. Après l'incubation, les zones pellucides sont soigneusement rincées et examinées au microscope fluorescent. Le nombre total de spermatozoïdes fixés est déterminé en contraste de phase et le nombre de spermatozoïdes témoins après exposition aux UV. Le test est considéré comme positif quand le rapport du nombre de spermatozoïdes testés sur le nombre de spermatozoïdes témoins est supérieur à 70%. Pour évaluer la spécificité et la sensibilité du test, les patients ont été inclus en FIV indépendamment du résultat du test. Cinquante neuf patients ont été inclus : 29 pour une infertilité idiopathique, 13 pour une indication tubaire et 11 pour une oligoasthénospermie. La FIV est considérée comme positive lorsqu'au moins un ovocyte est fécondé.

## RÉSULTATS

La sensibilité du test est 83,3% et sa spécificité de 56,5%. La mobilité "a" du sperme frais (classification OMS) a été ajoutée comme critère. Le test est positif quand  $a \geq 5\%$ . En effet, une mobilité fléchante n'est pas requise pour une bonne fixation à la

zone pellucide contrairement à la fécondation. La sensibilité et la spécificité sont de 80,5 et 82,6%.

## CONCLUSION

L'association du test de fixation des spermatozoïdes à la zone pellucide et la mobilité progressive a permis de prévoir un risque d'échec de la Fécondation *in Vitro* et d'orienter directement les patients vers la microinjection avec 8 chances sur 10 d'être dans le vrai. Les échecs de FIV ont été réduits de moitié sans recours systématique à l'ICSI.

---

## LES MÉTAMORPHOSES DU GAMÈTE MÂLE LORS DE LA SPERMATOGÉNÈSE ET DE LA PÉNÉTRATION DANS L'OVOCYTE EN MICROSCOPIE CONFOCALE

Y. SOFFER<sup>1</sup>, M.VIGODNE<sup>2</sup>, L. MITTELMAN<sup>3</sup>,  
D. STRASSBURGER<sup>1</sup>, A. RAZIEL<sup>L</sup>, L.M.  
LEWIN<sup>2</sup>, R. GOLAN<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Centre d'Infertilité Masculine et Unité de FIV,  
C.H.U. Assaf Harofe, <sup>2</sup>Dept. de Biochimie  
Clinique, <sup>3</sup>Faculté de Médecine Sackler, Université  
de Tel Aviv, Tel Aviv, Israël.

## MATÉRIEL ET MÉTHODES

La microscopie confocale de balayage au laser (CLSM : confocal laser scanning microscopy) outil sophistiqué, couplé à de puissants logiciels d'imagerie et d'animation permet d'obtenir des images tomographiques et de générer des images tridimensionnelles. Elle permet une étude élaborée et pourtant facile du matériel biologique après préparation minimale avec des marqueurs cytochimiques fluorescents, avec ou sans fixation. On peut voir les organelles cellulaires et suivre leurs transformations par des mensurations linéaires ou volumétriques précises. Nous avons étudié en CLSM (1) les cellules germinales durant les divers stades de la spermatogenèse du hamster. (2) la décondensation de la tête du spermatozoïde humain dans l'ovocyte de hamster ou en FIV humaine.

## RÉSULTATS

1 - Les cellules germinales subissent durant la spermatogenèse des changements morphologiques et biochimiques profonds. La structure des noyaux visualisés par l'iodure de propidium (PI) fluorescent permet de distinguer les cellules de Sertoli et les spermatoocytes des spermatides ou des spermatogonies. Les anticorps cKit qui forment une collerette

verte autour des spermatogonies cKit (+) les distinguent des spermatozoïdes cKit (-) et des autres cellules. Sous imagerie tridimensionnelle, la disposition spatiale des cellules intra-tubulaires est aisément étudiée.

2 - Colorés au PI, les noyaux denses brillent vivement tandis que les noyaux décondensés larges sont pâles. Après épreuve du hamster (SPA), les têtes spermatozoïdaires humaines, pénétrées et décondensées, se disposent en cercle près de l'oolème, contrairement à leur apparente dispersion uniforme après aplatissement des ovocytes en microscopie ordinaire. Dans des cas de SPA apparemment négatif, la microscopie confocale a pu démontrer que les têtes spermatozoïdaires avaient pénétré mais qu'elles ne pouvaient se décondenser dans l'ooplasme. La décondensation des spermatozoïdes humains a été également analysée après micro-injection expérimentale dans des ovocytes de hamster ou dans des ovocytes humains après échec de FIV ou d'ICSI. La CLSM a démontré parfois une rupture accidentelle de l'oolème responsable de l'échec de la micro-injection.

## CONCLUSION

Grâce à ses nombreux atouts conceptuels et techniques, la microscopie confocale est, de toutes les méthodes mises au point pour étudier la spermatogénèse et la décondensation spermatozoïdaire, l'outil de choix et le plus simple à l'usage. Son prix actuel le rend encore peu accessible, mais il ne fait aucun doute que cet inconvénient disparaîsse rapidement à l'avenir.

---

## EFFETS DU FLUIDE D'HYDROSALPINX SUR LES GAMÈTES ET LA FÉCONDATION

C. DE VANTÉRY ARRIGHI, D. CHARDONNENS,  
D. EL-MOWAFI, A. CAMPANA, H. LUCAS

*Clinique de Stérilité et d'Endocrinologie  
Gynécologique. Département de Gynécologie et  
Obstétrique, Maternité, HUG, Genève.*

**OBJECTIF :** Déterminer si les fluides d'hydrosalpinx prélevés chez des femmes infertiles ont un effet délétère sur les gamètes et/ou la fécondation dans un système de FIV murin.

**Patients :** Les fluides d'hydrosalpinx ont été prélevés lors de la ponction ovocytaire chez quatre

patientes infertiles consultant à la Clinique de Stérilité.

**Souris :** Les ovocytes ovulés (complexes cumulo-ovocytaire) ont été prélevés par dissection de l'ampoule de l'oviducte de souris B6D2FI stimulées (PMSG/HCG) et les spermatozoïdes des cauda épидidymaires ont été prélevés chez des souris OF1.

**MÉTHODES :** Dans un premier temps, les ovocytes ovulés et les spermatozoïdes ont été coïncubés dans du milieu de culture contenant 50% de fluide d'hydrosalpinx durant toute la durée de la FIV et jusqu'au premier clivage (embryons 2-cellules) (16-20 h). Ensuite, les spermatozoïdes et les ovocytes ont été préincubés dans du milieu de culture contenant 50% de fluide d'hydrosalpinx pendant respectivement 2h et 1h avant la mise en FIV.

**ANALYSE :** Les taux de fécondation sont déterminés par le comptage des embryons deux-cellules. Pour chaque fluide d'hydrosalpinx analysé, 4 à 7 femelles (10-30 ovocytes ovulés/femelle) ont été utilisées en deux ou trois manipulations indépendantes. L'analyse statistique a été effectuée en utilisant le t-test de Student.

**RÉSULTATS :** La coïncubation des gamètes avec les fluides d'hydrosalpinx durant la FIV affecte le taux de fécondation. La moyenne des taux d'inhibition de la fécondation sont respectivement pour les fluides d'hydrosalpinx 1 à 4 : 89% ( $p < 0,001$ ,  $n=5$ ), 21% ( $p > 0,05$ ,  $n=5$ ), 39% ( $p < 0,02$ ,  $n=4$ ) et 100% ( $p < 0,001$ ,  $n=5$ ). La préincubation des complexes cumulo-ovocytaire avant la FIV avec les fluides d'hydrosalpinx n'a pas d'influence significative sur les taux de fécondation. Par contre, la préincubation avant l'insémination en FIV des spermatozoïdes avec les fluides d'hydrosalpinx durant la capacitation diminue significativement les taux de fécondation. La moyenne des taux d'inhibition de la fécondation sont respectivement pour les fluides d'hydrosalpinx 1 à 3 : 34 % ( $p < 0,05$ ,  $n = 7$ ), 32 % ( $p < 0,05$ ,  $n = 7$ ) et 39% ( $p < 0,02$ ,  $n=7$ ). Le fluide d'hydrosalpinx 4 a un effet cytotoxique direct sur les spermatozoïdes, comme constaté par l'usage d'un colorant vital.

**DISCUSSION:** Les fluides d'hydrosalpinx ont un effet négatif sur la survie et/ou sur le pouvoir fécondant des spermatozoïdes. Il est possible que cet effet se réalise via une perturbation de la capacitation/réaction acrosomique des spermatozoïdes et/ou par un effet antagonisant des récepteurs spermatozoïdaires impliqués dans la fécondation.

**LE DOSAGE DES MARQUEURS SEMINAUX  
A-T-IL UN INTERET POUR LE CLINICIEN  
DANS LE BILAN D'UNE INFERTILITE AVEC  
HYPOVOLEMIE SPERMATIQUE ? ETUDE  
CHEZ 259 PATIENTS**

J.P. GRAZIANA, J.M. RIGOT, J.M. MAHE, C.  
GERARD, E. MAZEMAN,

*Service d'urologie CHRU - LILLE*

**OBJECTIF :** L'hypovolémie spermatique, définie selon les normes de l'OMS (<2ml), est souvent rapportée à un obstacle génital profond. Notre étude a pour but d'évaluer l'intérêt d'un dosage systématique dans le sperme des marqueurs prostatiques et vésiculaires.

**MATÉRIEL ET MÉTHODES :** De janvier 1994 à avril 1999, 928 patients ont été suivis de façon prospective pour infertilité. Le bilan a comporté pour tous : un examen clinique, au moins deux spermogrammes anormaux, un dosage des marqueurs séminaux prostatiques (phosphatases acides et/ou citrate) et vésiculaires (fructose). Il a été retrouvé une hypovolémie chez 259 patients (27.9%), d'âge moyen 33.3 ans (21-55). Ceux-ci ont été répartis en deux groupes : groupe 1 (n=118) lorsque le volume était ≤1 ml, et groupe 2 (n= 141) pour un volume compris entre 1 et 2ml.

**RÉSULTATS**

		Groupe 1	Groupe 2	Total
Patients		118	141	259
Phosphatases acides	normales	72	118	190 (73%)
	diminuées	32(27%)	23(16%)	55(21%)
Fructose	normal	51	122	173(67%)
	diminué	53(45%)	19(13%)	72(27%)
Tr.éjaculatoire		14	0	14(6%)
Agénésie déf		30	4	34

**CONCLUSION :** Dans les hypovolémies spermatiques, l'étude des marqueurs séminaux prostatiques et vésiculaires est décevante surtout pour un volume compris entre 1 et 2 ml. Lorsque le volume est ≤1ml, le dosage des marqueurs est plus informatif, en raison notamment des patients présentant une agénésie déférentielle.

**Spermatogenèse**

**LA CONNEXINE 33, UNE CONNEXINE SPECIFIQUEMENT TESTICULAIRE ?**

N. DEFAMIE, C. FIORINI, C. BATIAS, P.  
FENICHEL, D. SEGRETAIN, G. POINTIS

*INSERM EMI 00-09 Faculté de médecine  
28 av. de Valombrose, 06107 NICE cedex*

Les jonctions communicantes ou jonctions gap et leurs protéines constitutives, les connexines (Cx), sont impliquées dans les mécanismes de prolifération et de différenciation cellulaires. Elles sont présentes dans le testicule et particulièrement dans le tube séminifère, siège de la spermatogenèse. Le but

de ce travail a été d'étudier l'expression d'une des Cx, la Cx33 par rapport à la Cx43.

Chez le rat mature, nos résultats montrent que les ARNm de la Cx33 sont présents dans le testicule, faiblement exprimés dans le cerveau et totalement absents dans les autres tissus étudiés (foie, cœur...) alors que les transcrits de la Cx43 sont ubiquitaires. Au cours du développement, la quantification (RT-PCR semi-quantitative) des ARNm de la Cx33 par rapport à un gène ubiquitaire la  $\beta$ -actine, a permis de montrer que l'expression des transcrits de la Cx33 est identique dans le testicule et le cerveau de fœtus de rat de 19 jours post coïtum. Après la naissance le nombre de messagers de la Cx33 augmente très fortement dans le testicule pour atteindre les valeurs maximales chez l'adulte (x9), alors qu'il diminue de façon significative dans le cerveau (x10). Au contraire de la Cx33, le nombre de transcrits testiculaires de la Cx43 ne présente pas de variations significatives au cours du développement. Par immunofluorescence indirecte nous avons montré que la Cx33 est spécifiquement exprimée dans le tube séminifère en position basale et que son expression est stade-dépendante. Aucun marquage spécifique n'a été retrouvé dans le compartiment interstitiel. La double localisation tissulaire des ARNm de la Cx33 (testicule et cerveau), son évolution tissu-spécifique au cours du développement suggèrent un rôle physiologique spécifique de cette Cx dans chacun des deux organes. Dans le testicule l'augmentation importante des messagers de la Cx33 au cours de la maturation testiculaire, son expression stade-dépendante est en faveur de l'implication de la Cx33 dans la mise en place et le maintien de la spermatogenèse.

des voies par laquelle l'IL1 $\alpha$  régulerait ces processus pourrait être médiée via un effet sur les connexines (Cx), connues pour être impliquées dans les mécanismes de multiplication cellulaire. Dans le présent travail nous avons analysé les effets de la phagocytose induite par les lipopolysaccharides (LPS) et de l'IL $\alpha$  a sur l'expression des ARNm et de la protéine des Cx33 et Cx43 au niveau d'une lignée de cellules de Sertoli immortalisées (42GPA9). Nos résultats montrent que la stimulation de la phagocytose des cellules de Sertoli 42GPA9 par les LPS induit l'expression des ARNm de l'IL1 $\alpha$  et de l'IL 6. L'IL1 $\alpha$  et les LPS sont capables de contrôler l'expression des Cx33 et 43 à différents niveaux. Une exposition des cellules à court terme (3h) augmente le niveau des formes phosphorylées de la Cx43. Après 18 h d'exposition des cellules, ces effecteurs inhibent l'expression de la Cx43 tant au niveau des messagers (évaluée par RT-PCR semi-quantitative) qu'au niveau protéique (diminution du signal immunoréactif localisé dans les cellules contrôles au niveau membranaire). Cette inhibition est aussi observée *in vivo* par immunofluorescence indirecte après microinjection des LPS dans la lumière des tubes séminifères. Les LPS et IL1 $\alpha$  induisent de même la transcription des ARNm de la Cx33. La diminution de l'expression de la Cx43 associée à une stimulation de l'expression de la Cx33, Cx incapable de former avec elle même ou avec d'autres Cx des canaux fonctionnels, pourraient conduire à une inhibition rapide et durable de la communication jonctionnelle au sein du tube séminifère entre cellules de Sertoli et cellules germinales. Les données de ce travail suggèrent l'hypothèse d'un rôle physiologique complémentaire et opposé des Cx33 et Cx43 dans le contrôle de la spermatogenèse.

---

**REGULATIONS OPPOSEES DES  
CONNEXINES 33 ET 43 TESTICULAIRES  
PAR L'INTERLEUKINE 1 $\alpha$**

C. FIORINI, X. DECROUY, N. DEFAMIE, P.  
FENICHEL, D. SEGRETAIN, G. POINTIS

INSERM EMI 00-09 Faculté de médecine, 28 av.  
de Valombrose, 06107 NICE cedex 2

Au cours de la spermatogenèse, des cytokines produites localement au sein du testicule participent au contrôle de la prolifération et de la différenciation des cellules germinales. *In vivo* la production d'IL1 $\alpha$  sertolienne est stimulée par la phagocytose des corps résiduels au cours de la spermiation. Une

---

**Endocrinologie**

**APPORT DIAGNOSTIQUE DU DOSAGE  
COMBINE DE LA FSH ET DE L'INHIBINE B  
AVANT ICSI**

B. ZORN<sup>1</sup>, I. VIRANT-KLUN<sup>1</sup>, H.  
MEDEN-VRTOVEC<sup>1</sup>, J. SINKOVEC<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Centre d'Andrologie <sup>2</sup>Institut de Pathologie,  
Service de Gynécologie-Obstétrique, Centre clinique  
universitaire, Ljubljana, Slovenie

## INTRODUCTION

Les opinions divergent quant à l'efficacité du dosage de l'inhibine B en tant que paramètre diagnostique et/ou pronostique de l'infertilité masculine.

## MÉTHODES

Nous avons dosé concomitamment l'inhibine B et la FSH sérique chez 137 hommes infertiles, candidats à l'ICSI, 27 hommes avec OAT, 6 atteints d'anéjaculation ; 4 étaient normozoospermiques, 100 azoospermiques avec 90 azoospermies non obstructives et 10 obstructives. Les patients ont fait l'objet d'un interrogatoire suivi d'un examen clinique. Tous ont bénéficié d'un spermocytogramme, 107 d'une biopsie testiculaire et 5 d'une ponction épидидymaire. Au moment de celle-ci, la présence, le nombre et la mobilité des spermatozoïdes étaient répertoriés. 54 cycles d'ICSI ont été tentés chez 29 patients.

## RÉSULTATS

Le taux d'inhibine B corrèle négativement avec celui de la FSH ( $r = -0,579$  ;  $P < 0,0001$ ). L'inhibine B corrèle positivement avec le volume testiculaire ( $r = 0,763$  ;  $P < 0,0001$ ), le score histologique de Johnsen ( $r = 0,435$  ;  $P < 0,0001$ ), le nombre et le degré de mobilité des spermatozoïdes retrouvés lors de la biopsie testiculaire, respectivement  $r = 0,307$  ;  $P = 0,001$  et  $r = 0,328$  ;  $P < 0,0001$ . A une concentration supérieure à 65 pg/ml, l'inhibine B a une piètre valeur prédictive de spermatozoïdes lors de la biopsie en comparaison à la FSH  $< 8$  IU/L. Cependant, la combinaison des deux dosages permet d'isoler le groupe de patients avec FSH  $> 8$  IU/L et inhibine B  $> 65$  pg/ml dont les caractéristiques s'apparentent à celles du groupe avec FSH  $< 8$  IU/L et se différencient en terme de nombre de spermatozoïdes retrouvés ( $p < 0,05$ ), de spermatozoïdes plus mobiles ( $P < 0,05$ ) et de score de Johnsen plus élevé ( $P < 0,05$ ) du groupe avec FSH  $> 8$  IU/L et inhibine B  $< 65$  pg/ml. Ni le taux d'inhibine B ni celui de la FSH n'influencent les résultats de l'ICSI. Un score de Johnsen au moins égal à 9 est associé à une meilleure fertilisation et à l'obtention de plus d'embryons qui sont de meilleure qualité.

## CONCLUSION

Notre étude attribue une valeur diagnostique et prédictive à l'association inhibine B-FSH particulièrement intéressante avant une décision de biopsie testiculaire.

## DÉTECTION IMMUNOHISTOCHIMIQUE DES SOUS UNITÉS $\alpha$ ET $\beta A$ DES INHIBINES-ACTIVINES DANS LE TESTICULE HUMAIN FŒTAL ET ADULTE

C. MARCHETTI-ANDRE, L. DEWISME,  
E. HERMAND, J.M. RIGOT, V. MITCHELL,  
A. DEFOSSEZ

*Laboratoire d'Histologie-Biologie de la  
Reproduction - Unité INSERM 422 - CHRU LILLE*

Les infertilités sécrétoires concernent environ 2 % des hommes dans le monde et 40 à 60% des oligo-azoospermies sécrétoires restent d'étiologie indéterminée. Des anomalies d'expression de molécules de signalisation intratesticulaires pourraient être à l'origine de certaines de ces infertilités (MAUDUIT et al., 2000). Parmi ces molécules, la famille des inhibines - activines semble jouer un rôle essentiel dans les interactions paracrines intratesticulaires (MATHER et al., 1997).

Dans ce travail préliminaire, nous étudions par la méthode immunohistochimique l'expression des sous-unités  $\alpha$  et  $\beta A$  constitutives des inhibines et activines A. Les anticorps monoclonaux anti sous unités  $\alpha$  et  $\beta A$  de l'inhibine humaine, commercialisés par Sérotec, sont utilisés sur les prélèvements testiculaire de fœtus de différents âges (3 à 7 mois) et sur 18 biopsies testiculaires réalisées à l'occasion du diagnostic d'infertilité chez des patients inclus dans des protocoles d'AMP. L'examen de ces biopsies constate un arrêt de la spermatogenèse qui va de l'absence de spermatogonies jusqu'à une spermatogenèse subnormale (présence de quelques spermatozoïdes).

Chez le fœtus quel que soit l'âge, les anticorps anti  $\alpha$  et anti  $\beta A$  révèlent les cellules de Sertoli et les cellules de Leydig. Les spermatogonies fœtales ne sont jamais marquées.

Le même résultat est obtenu chez l'adulte quel que soit le stade auquel est interrompu la spermatogenèse. Dans le cas où une hyperplasie leydigienne est observée (notamment dans le syndrome de « cellules de Sertoli seules »), les cellules de Leydig sont très fortement marquées.

En conclusion, chez le fœtus humain, nous retrouvons comme MAJDIC et al. (1997) l'expression des sous unités  $\alpha$  et  $\beta A$  des inhibines et activines uniquement dans les cellules de Sertoli et de Leydig. La même expression est observée chez l'adulte. Ces résultats sont comparables à ceux obtenus par VLIEGEN et al. (1997).

## ANALYSE DE 3 CAS DE SYNDROME DE KALLMAN

R. SCHOYSMAN, E. VAN ROOZENDAEL,  
M. VAN DER VORST, A. SCHOYSMAN-  
DEBOECK

*Hopital Van Helmon 1800 Vilvorde Belgique*

Parmi les patients azoospermiques de type sécrétoire trois cas de syndrome de Kallman ont été découverts sur base d'anosmie. Deux d'entre eux sont nettement du type eunuchoïde avec des testicules diminués de volume. Le troisième patient a des caractères sexuels secondaires limites pour un homme adulte (pilosité rare - voix un peu élevée - sexualité déficiente). Le diagnostic de ce patient est connu depuis des années et son traitement a consisté en l'administration d'androgènes. Lorsque son désir d'enfants s'est manifesté il a été traité par l'administration de LHRH en pompe. Partant d'azoospermie, la spermatogenèse s'est réamorçée et 11 semaines après le début du traitement il présentait une oligospermie à 3 M/ml.. Une grossesse spontanée est apparue 17 semaines plus tard. Du sperme a été conservé pour réaliser une deuxième grossesse et le patient est retourné aux androgènes. Déroulement normal de la grossesse et accouchement d'un enfant mâle normale. Pour réaliser une deuxième grossesse des inséminations ont été entreprises mais la qualité du sperme est insuffisante et le traitement par LHRH a été repris. Les deux autres patients sont de surcroît daltoniens et l'un d'eux présente une anomalie faciale. Ils ne désirent pas d'enfants.

### Infection-Inflammation

### EVALUATION DE LA PRESENCE D'INHIBITEURS DANS LE SPERME ET LE PREMIER JET URINAIRE LORS DE LA RECHERCHE DE *CHLAMYDIA TRACHOMATIS* PAR LE KIT AMPLICOR® (ROCHE DIAGNOSTICS)

F. VIRECOULON, F. WALLET, A. DEFOSSEZ, V. MITCHELL, R. COURCOL

*Laboratoire de Spermiologie, Hôpital Calmette,  
Biologie de la Reproduction, CHRU, Bd du Pr.  
J.Leclercq 59037 LILLE Cedex*

## INTRODUCTION-BUT

*Chlamydia trachomatis* (CT) est responsable d'infertilité tubaire, et sa transmission possible par sperme de donneur a été démontrée. Par ailleurs, la fréquence du portage asymptomatique pourrait atteindre jusqu'à 80 % des hommes infectés. L'ESHRE (*European Society for Human Reproductive Medicine*) recommande donc, pour les dons de sperme, de rechercher CT soit sur le sperme, soit sur l'urine, soit sur un prélèvement urétral. Il a cependant été rapporté un cas où CT a été détectée par *ligase chain reaction* dans le sperme, mais pas dans l'urine<sup>1</sup>. De plus, la *Polymerase Chain Reaction* (PCR), actuelle méthode de référence, a souvent son résultat oblitéré par la présence d'inhibiteurs.

La recherche de CT est dans notre centre associée à la spermoculture en vue d'Assistance Médicale à la Procréation (AMP) : nous avons évalué la présence d'inhibiteurs sur 250 spermatozoïdes et sur les premiers jets urinaires correspondants et, en fonction des éléments suscités, nous proposons une stratégie de recherche de CT.

## MÉTHODE

Recueil du 1er jet urinaire (U1) et du sperme. Congélation systématique des 2 échantillons afin de diminuer les inhibiteurs, puis recherche en parallèle de CT par amplification génique (Amplicor®, Roche Diagnostics) avec standard interne, sur automate Cobas Amplicor.

## RÉSULTATS

	Urines du 1er jet		Sperme	
	n	%	n	%
Négatif	230	93,1	217	86,8
Ininterprétable	16	6,5	33	13,2
Positif	1	0,4	0	0
<b>Totaux</b>	<b>247</b>	<b>100</b>	<b>250</b>	<b>100</b>

> Incidence CT : 0,4% (détection sur U1 ; sperme correspondant ininterprétable).

> deux fois plus d'inhibiteurs avec le sperme (13,2%) qu'avec U1 (6,5%) ( $\alpha < 0,05$ ).

> l'analyse des échantillons comportant des inhibiteurs montre que 81,8% des résultats ininterprétables sur le sperme sont associés à un résultat interprétable (positif ou négatif) sur U1 : moins de 20% de ces patients ont donc des inhibiteurs à la fois dans le sperme et dans l'urine, dont la présen-

ce semble variable dans le temps.

## CONCLUSION

La recherche de CT en vue d'AMP doit conduire au recueil du 1<sup>er</sup> jet urinaire et du sperme : si une PCR est ininterprétable sur le sperme, elle sera alors réalisée sur le 1<sup>er</sup> jet urinaire. Lorsque les 2 échantillons contiennent des inhibiteurs, il semble que la présence de ces derniers puisse fluctuer, et un nouveau prélèvement à distance sera alors préconisé.

<sup>1</sup> Fujisawa M et al. *Arch. Androl.*, 1992, 42(1) : 41-44.

---

## ANALYSE DE LA LEUCOSPERMIE PAR CYTOMÉTRIE EN FLUX. INTÉRÊT DANS L'EXPLORATION DE L'INFECTION ET DU SYNDROME INFLAMMATOIRE DE L'APPAREIL GÉNITAL MASCULIN

T. LEMKECHER, J. FEUILLARD J, B. MARTIN-PONT, P. BISSIÈRES, J.N. HUGUES, J.P. WOLF

*Service Histologie Embryologie Cytogénétique  
Laboratoire de Biologie de la Reproduction  
Hôpital Jean Verdier, Avenue du 14 Juillet, 93140  
Bondy*

## INTRODUCTION

La leucospermie se définit par la présence de leucocytes dans le liquide séminal. Ces cellules témoignent de l'atteinte inflammatoire et font partie des cellules rondes habituellement analysées dans le spermogramme en même temps que la cytologie spermatique.

A l'hôpital Jean Verdier, près de 20% des patients présentent une leucospermie. Le syndrome inflammatoire aigu est caractérisé par la présence de granulocytes (polynucléaires) neutrophiles dans le sperme alors que le syndrome chronique est caractérisé par une présence plus importante de monocytes-macrophages d'où la nécessité d'analyser la formule leucocytaire pour préciser le diagnostic. Les techniques les plus utilisées pour la détection

des polynucléaires neutrophiles dans le sperme sont le frottis et le *Leucoscreen*® mais cette dernière ignore tous les polynucléaires qui ont déjà dégranulé, probablement les plus délétères. C'est pourquoi nous avons mis au point une technique de cytométrie en flux pour la quantification des différentes populations de leucocytes dans le sperme.

## MATERIEL ET METHODES

La technique détermine la part des cellules 1n ADN (spermatozoïdes) et des cellules 2n ADN (leucocytes, cellules desquamatives) dans le sperme avec un marquage nucléaire par Iodure de Propidium. Puis, elle identifie et quantifie différentes populations leucocytaires avec des anticorps monoclonaux (marquage des polynucléaires neutrophiles par anti CD45/anti CD16/anti CD24, des monocytes-macrophages par anti CD45/anti CD11c/anti CD36, des lymphocytes T par anti CD45/anti CD2 et des lymphocytes B par anti CD20). La mesure se fait sur 20 000 cellules.

## RÉSULTATS

Les résultats préliminaires sur 8 patients montrent que la technique de cytométrie en flux détecte les PNN chez tous les patients avec un *Leucoscreen*, positif. De plus, 2 patients sur 3 avaient un taux de PNN mesuré, sensiblement supérieur à celui sur lame. Sur 5 patients avec suspicion d'infection génitale mais un *Leucoscreen*® négatif, la CMF a détecté la présence de PNN à des taux d'environ 1% (dont 2 à des taux supérieurs à 700 000/ml). Des monocytes-macrophages ont été détectés chez 2 patients sur 8 et des lymphocytes, également chez 2 sur 8. Ces résultats ont été à chaque fois confirmés par la lecture de frottis colorés.

## CONCLUSION

Cette technique de cytométrie en flux s'avère rapide, reproductible, précise, sensible et spécifique par l'emploi d'anticorps monoclonaux spécifiques. Elle permet outre la mesure de la formule leucocytaire du sperme, la quantification de tous les éléments cellulaires diploïdes pouvant provenir d'une desquamation de l'épithélium germinal ou de l'épithélium des voies éjacultrices, en faveur d'un processus inflammatoire actif. Une étude du syndrome inflammatoire est actuellement en cours afin d'en préciser l'effet sur la fécondation et le développement embryonnaire.

**MISE EN ÉVIDENCE DES PROPRIÉTÉS  
VIRILISANTES DE PIPER GUINEENSE (PG)  
ET AFRAMOMUM MELEGUETA (AM), DEUX  
PLANTES MÉDICINALES, CHEZ LE RAT**

P. KAMTCHOUING, Y.M. FANDIO, T. DIMO

*Université de Yaoundé 1, Laboratoire de  
Physiologie-Animale*

*BP 812 Yaoundé, CAMEROUN*

Parmi la panoplie des plantes médicinales camerounaises, Pg et Am sont utilisées par les phytothérapeutes pour leurs propriétés virilisantes et pour le traitement de certaines éjaculations précoces.

Afin de vérifier ces différentes propriétés, des rats adultes de souche Wistar de notre colonie ont reçu durant 8 jours des extraits aqueux de ces différentes plantes, à raison de 122,5 mg/kg pour Pg et 230 mg/kg pour Am, conformément aux doses thérapeutiques prescrites par les tradipraticiens. Les groupes de rats témoins ont reçu de l'eau pendant la même période. Après 8 jours de traitement, l'index d'érection est passé de 11 chez le contrôle à 31 pour Pg et 40 pour Am. La fréquence de monte est passée de 1,2 (contrôle) à 6,0 chez les rats traités au Pg et 6,9 chez ceux ayant reçu AM. La fréquence des éjaculations de 0,7 chez les contrôles est passée à 4,4 pour les deux plantes. Le temps de latence entre les éjaculations est passé de 20 secondes à 210 et 348 respectivement pour Pg et Am. Les taux de testostérone sérique et intratesticulaire des rats ayant reçu des extraits de Pg et Am étaient significativement supérieurs à ceux des contrôles.

A l'issue de ces travaux, nos différents résultats confirment les différentes potentialités de Pg et Am et justifient leur utilisation pour le traitement de certaines faiblesses sexuelles et/ou les éjaculations précoces. Pour l'utilisation pharmaceutique de ces plantes, il faudrait déterminer leur toxicité et en isoler la ou les fractions actives.

**VECUE DE L'ASSISTANCE MEDICALE A LA  
PROCREATION PAR L'HOMME**

C. FORIAZ-GALLEZE, J. ROLLET, M. CHEVRET-MEASSON

*Institut Rhônalpin, 1 rue Laborde, 69005 Lyon*

Certains couples en Assistance Médicale à la Procréation évoquent *des* problèmes dans leur *vie sexuelle*.

«L'enfant doit prouver notre identité sexuelle, notre intégrité physique, notre intégration sociale ».

Des hypothèses psychologiques ont été posées de la problématique de ces couples et de ces hommes hypofertiles en AMP : les perturbations de leur sexualité seraient un mode de défense contre le trop grand coût psychique que pourraient constituer une grossesse et une paternité.

Ainsi l'AMP révélerait des souffrances psychiques préexistantes et les hommes vont parfois jusqu'à se priver de plaisir, estimant devoir payer une dette avec leur infertilité.

Nous avons tout d'abord établi un questionnaire, pensant cerner les problèmes existants mais rarement abordés par les patients. Parallèlement, des entretiens avec des hommes, des couples, ont été réalisés.

On peut finalement penser que, ce que les patients disent de leurs difficultés sexuelles est influencé par ce qu'ils vivent dans l'AMP et par tout ce matériel psychologique inconscient « brassé » et qui finit par remonter. Aucune condition pathologique ne peut retentir davantage sur la sexualité que la prise de conscience d'une stérilité. Les traitements sont le plus souvent une prescription de rapports sexuels. L'homme est alors écartelé entre son désir ou son non-désir et la prescription pour avoir un bébé. Parallèlement, la sexualité demandée par la médecine est dans une solitude paradoxale. Il est demandé un acte sexuel dans un contexte médical d'où de grandes difficultés émotionnelles et physiques. La masturbation est un acte pulsionnel et solitaire la plupart du temps et elle devient ici un acte médical. L'homme se retrouve comme un adolescent avec ses fantasmes. Il y a dissociation de la vie sexuelle et de la reproduction, destruction du



pulsionnel qui est réduit à une machine. Le plaisir n'est plus une prime à la sexualité, il est parfois même une frustration car la relation ne transmet pas la substance de vie dont parle Freud.

L'acte de FIV a une très grande portée symbolique.

L'homme traverse une crise d'identité, est en proie à des sentiments d'infériorité. Les théories sexuelles infantiles sont en jeu autant pour les patients que pour les médecins qui sont dans la toute puissance. Le mari se retrouve en position de tiers exclu par rapport à l'équipe médicale. Le médecin est un rival fantasmatique qui s'octroie sa part de plaisir.

Demyttenacre pense que l'infertilité paraît être un détecteur de névrose. On peut alors penser que les difficultés sexuelles en sont un marqueur, pointant l'arrêt du développement psychosexuel sur le complexe d'Œdipe.

Ainsi, les cinq hommes que nous avons interrogés ont évoqué une problématique par rapport à leur père. On peut supposer qu'il y a eu *une perturbation de la transmission père/fils sur la sexualité et la valeur symbolique de la virilité.*

On peut transposer pour les hommes envers leur père la thèse de M. Bydlowski sur la dette de vie des femmes envers leur mère. Le couple infertile ne peut se dégager de la dette qu'il estime avoir envers la génération précédente.

Finalement, il ressort que, dans ces lieux d'assistance médicale à la procréation, il manque une chose essentielle : le temps de parole. Il faudrait offrir aux gens la possibilité de s'exprimer, de poser des questions et d'avoir des réponses, bien que la plainte qui les amène en consultation soit celle de l'incapacité à faire un enfant et qu'ils demandent la technique.

---

## Traumatismes

### LES ACCIDENTS DE LA CIRCONCISION

BENHATCHI, BENATTA, KAZI, ATTAR

*Service d'urologie C.H.U d'Oran*

Les accidents de la circoncision sont rares ; certains sont immédiats, essentiellement hémorragiques, d'autres, d'apparition plus tardives. Ces accidents, toujours très graves, compromettent l'intégrité du pénis ainsi que son avenir fonctionnel, parfois ils peuvent mettre en jeu le pronostic vital. Si la circoncision vit d'une réputation de facilité et de bénignité, ses complications sont dramatiques. Il faut qu'elle cesse d'être considérée comme un acte subalterne et doit se faire dans un service de chirurgie approprié. Nous vous rapportons quelques accidents de la circoncision sur une série d'observation.