

# Spermocytogramme : Mode opératoire dans les oligo-asthénospermies extrêmes

E. SZERMAN, I. DENIS

*Département Génétique et Reproduction – CHRU, CAEN*

## RÉSUMÉ

**Dans un bilan d'infertilité masculine avant une tentative d'ICSI (Intracytoplasmic Sperm Injection), il est possible d'effectuer un spermocytogramme même dans les oligospermies extrêmes à condition d'adapter la technique du frottis. Il faut concentrer le sperme, faire un frottis très court et s'évertuer à rechercher 20 spermatozoïdes sur la lame. Bien que la morphologie des spermatozoïdes n'affecte pas les résultats de l'ICSI, l'objectif consiste à informer le couple et à organiser l'activité du laboratoire d'AMP en fonction de la qualité du sperme.**

**Mots clés :** spermocytogramme, oligospermie sévère, ICSI

## I. INTRODUCTION

L'information apportée par l'analyse morphologique des spermatozoïdes a d'autant plus d'importance que le spermogramme est altéré avec une oligospermie et une asthénospermie extrême, ce que l'on va rencontrer dans les bilans avant ICSI. Pourtant, dans ces cas, la lecture du spermocytogramme est très difficile en raison de la pauvreté du frottis et très souvent l'examen n'est pas interprété.

Bien que les résultats de la morphologie aient une valeur prédictive dans les taux de clivage en FIV classique [1, 6], ils ne sont pas corrélés avec les résultats de l'ICSI [3, 4, 5]. Des gros-

esses sont rapportées chez des patients présentant 0 % de formes typiques [3].

Néanmoins, l'incidence des anomalies chromosomiques est 4 fois plus importante dans les spermatozoïdes ayant des anomalies de la tête [2].

Le but de cet exposé est de montrer que même dans les oligospermies extrêmes, l'analyse morphologique peut être faite et peut être utile avant de réaliser une ICSI.

C'est à la demande du centre de FIV de Caen que nous avons adapté la réalisation du frottis afin de pouvoir établir un spermocytogramme même dans les cas les plus difficiles, tout en sachant que nous allions à la recherche des quelques spermatozoïdes ... sur la lame : notre objectif étant d'effectuer une analyse sur au moins 20 spermatozoïdes.

Deux arguments ont motivé le développement de la méthode : premièrement, celui d'informer les couples d'une possible diminution voir d'un échec de clivage en cas de tératospermie très sévère surtout si le recrutement ovocytaire est faible ; deuxièmement, celui de permettre l'organisation de l'activité du laboratoire sachant qu'il faudra beaucoup plus de temps pour trouver le spermatozoïde normal avec une tératospermie qu'avec une morphologie correcte.

---

**Correspondance :** E. Szerman, Département Génétique et Reproduction – CHRU, Avenue de la côte de Nacre, 14033 CAEN Cedex.

*Communication aux 3èmes Journées Nationales Assurance de Qualité en Biologie de la Reproduction, 26 & 27 Octobre 2000, Nancy.*

## II. MATERIEL ET METHODES

Nous avons adopté trois techniques différentes pour réaliser un frottis en fonction de la numération des spermatozoïdes :

**Si la numération est supérieure à 10 millions de spermatozoïdes/ml :** 5 µl de sperme sont déposés à l'extrémité de la lame. Le frottis est étalé avec une lamelle couvre-objet de 20 mm x 20 mm jusqu'à 1/2 cm de l'extrémité.

**Si la numération est comprise entre 1 et 10 millions de spermatozoïdes/ml :** le sperme est concentré par centrifugation (10 mn à 2000 rpm) pour se rapprocher d'une concentration de 20 millions de spermatozoïdes/ml. 5 µl de sperme concentré sont étalés sur 3 cm.

**Si la numération est inférieure à 1 million de spermatozoïdes/ml :** le sperme est concentré comme en 2), 5 µl de sperme concentré sont étalés sur un frottis très court de 1 cm.

Après séchage à l'air et fixation dans l'alcool-ether, le frottis est coloré par l'Éosine Nigrosine et observé à l'immersion à G x 1000. La lecture de tels frottis plus épais peut présenter quelques difficultés si la concentration des cellules rondes est importante. Il faut alors adapter le mode de concentration.

## III. RESULTATS

Nous nous sommes intéressés à des dossiers particulièrement difficiles et nous rapportons une analyse rétrospective chez 20 patients venus en bilan pour "test de concentration" avant ICSI entre janvier 1999 et juillet 2000 avec une oligospermie extrême :

- concentration inférieure à 40 000 spermatozoïdes/ml
- numération totale dans l'éjaculat inférieure à 200 000 spermatozoïdes.

Les résultats des paramètres du spermogramme et spermocytogramme sont rapportés dans le tableau 1. La numération ainsi que la réalisation du spermocytogramme ont été faites après concentration du sperme de 4 à 65 fois. Dans aucun de ces cas, il n'a été possible d'analyser plus de 50 spermatozoïdes. Dans trois cas, 10 - 14 - 19 : quasiment aucun spermatozoïde n'a été observé sur la lame car la numération était trop faible. Dans plusieurs cas, 6 - 7 - 8 - 9 - 11 - 15 - 16 - 17, une approche de la morphologie est effectuée alors que la vitalité est non détectable.

La figure 1 représente le nombre de spermatozoïdes comptés en fonction de la concentration en spermatozoïdes par ml. Il apparaît sur la

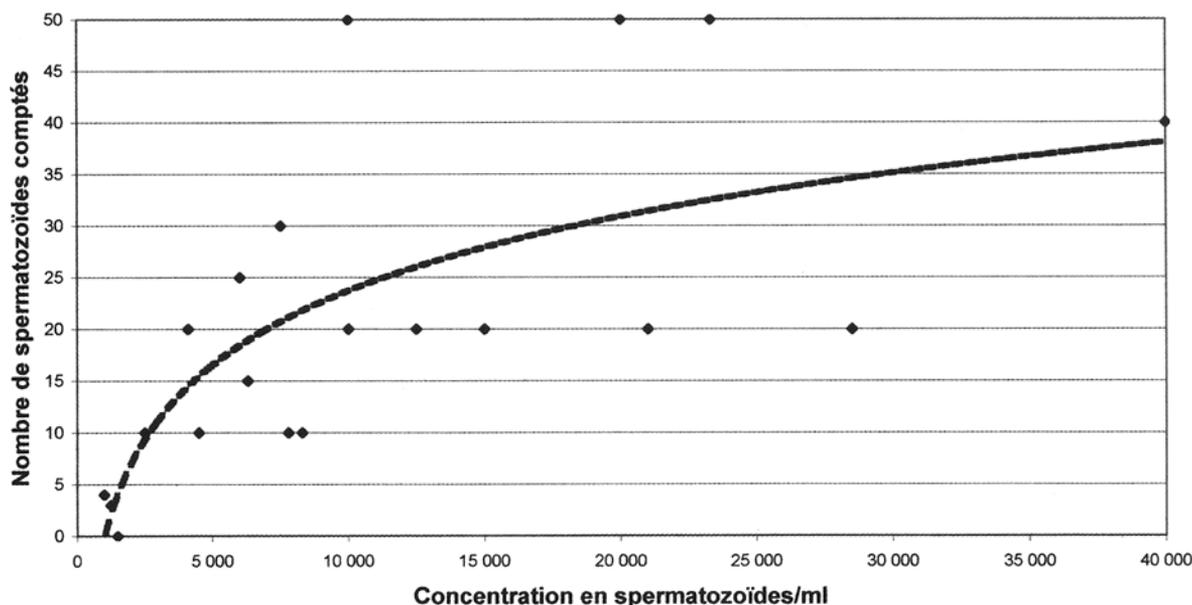


Figure 1 : Corrélation entre le nombre de spermatozoïdes comptés sur le spermocytogramme et la concentration

Tableau 1 : Spermogramme et spermocytogramme de bilan avant ICSI pour 20 patients

| Patient | N°/ml  | N° totale | Cel rondes /ml | Mobilité 1H | Volume départ µl | concent X | Spzs typiques | Spzs comptés | Vitalité | ICSI                                     | Embryon                          | Grossesse                |
|---------|--------|-----------|----------------|-------------|------------------|-----------|---------------|--------------|----------|--|----------------------------------|--------------------------|
| 1       | 4 100  | 7 800     | 1 200 000      | 5%          | 700              | 10        | 5             | 20           | 40%      | 05/02/00                                 | 6sur24                           | non                      |
| 2       | 28 500 | 57 000    | 149 000        | 7%          | 500              | 10        | 1             | 20           | 34%      | 21/10/99<br>23/1/00                      | 4sur7<br>TEC                     | non<br>oui               |
| 3       | 15 000 | 55 500    | 290 000        | 2%          | 1 900            | 19        | 5             | 20           | 23%      | non                                      |                                  |                          |
| 4       | 6 300  | 27 000    | 100 000        | 15%         | 3 000            | 30        | 2             | 15           | 20%      | 05/07/00                                 | 4sur 10                          | oui                      |
| 5       | 21 000 | 115 500   |                | 10%         | 4 000            | 26        | 4             | 20           | 44%      | 23/02/00                                 | 13sur16                          | oui                      |
| 6       | 8 300  | 47 300    | 520 000        | 10%         | 3 400            | 22        | 5             | 10           | ND       | non                                      |                                  |                          |
| 7       | 40 000 | 180 000   | 270 000        | 31%         | 2 600            | 20        | 9             | 40           | ND       | 11/03/00                                 | 3sur6                            | non                      |
| 8       | 8 300  | 64 700    | 320 000        | 30%         | 1 500            | 30        | 0             | 10           | ND       | 20/10/99<br>19/2/00                      | 5sur13<br>TEC                    | non<br>non               |
| 9       | 7 500  | 39 700    | 28 000         | 40%         | 3 000            | 20        | 7             | 30           | ND       | non                                      |                                  |                          |
| 10      | 1 250  | 3 100     | 320 000        | 0%          | 1 600            | 16        | 1             | 3            | ND       | non                                      |                                  |                          |
| 11      | 10 000 | 29 000    | 1 000 000      | 0%          | 1 600            | 16        | 0             | 20           | ND       | 17/02/99                                 | 1sur8                            | non                      |
| 12      | 10 000 | 58 000    | 100 000        | 12%         | 3 200            | 19        | 1             | 50           | 30%      | 27/3/98<br>7/1/99<br>11/12/99<br>22/6/00 | 2sur2<br>6sur6<br>3sur5<br>2sur8 | non<br>non<br>non<br>non |
| 13      | 23 300 | 151 400   | 550 000        | 0%          | 3 800            | 22        | 4             | 50           | 25%      | 12/04/00<br>10/7/00                      | 11sur12<br>TEC                   | non<br>oui               |
| 14      | 1 000  | 50 000    | 110 000        | 12%         | 2 500            | 10        | 0             | 4            | ND       | non                                      |                                  |                          |
| 15      | 2 500  | 1 200     | NR             |             | 400              | 4         | 2             | 10           | ND       | non                                      |                                  |                          |
| 16      | 4 500  | 13 500    | 70 000         | 7%          | 2 000            | 20        | 3             | 10           | ND       | 17/06/00                                 | 5sur10                           | non                      |
| 17      | 20 000 | 90 000    | 140 000        | 5%          | 2 800            | 21        | 2             | 50           | ND       | non                                      |                                  |                          |
| 18      | 6 000  | 23 000    | 240 000        | 20%         | 3 800            | 12        | 5             | 25           | 37%      | non                                      |                                  |                          |
| 19      | 1 500  | 8 000     | NR             | 5%          | 5 200            | 65        |               | 0            | 42%      | oui                                      |                                  |                          |
| 20      | 7 800  | 29 600    | 10 400         | 17%         | 2 800            | 10        | 3             | 10           | 80%      | non                                      |                                  |                          |

TEC : Transfert d'embryons congelés

courbe de tendance, qu'il est en général possible d'examiner une vingtaine de spermatozoïdes quand la concentration est supérieure à 7 000 spermatozoïdes/ml.

On peut se poser la question : "Est-ce qu'une analyse morphologique sur 20 spermatozoïdes a une signification ?".

Si on examine dans le tableau 1 les résultats de l'ICSI réalisée chez certains couples, on s'aperçoit qu'on peut obtenir de bons taux de clivage et des grossesses avec des tératospermies apparemment très sévères ; c'est le cas des patients 2, 8 et 13 pour lesquels on a observé de bons taux de clivage et une grossesse après transfert d'embryons congelés (TEC). Par contre, pour le patient 11 qui n'avait aucun spermatozoïde typique sur 20 observés, il n'y a eu qu'un embryon sur 8 ovocytes.

#### IV. CONCLUSION

La réalisation d'une analyse morphologique sur un faible nombre de spermatozoïdes dans les indications d'ICSI ne doit pas être considérée comme un facteur prédictif dans la réalisation de l'AMP.

Son objectif est de fournir une information complémentaire au couple et au biologiste de la FIV permettant une activité harmonieuse. L'étape ultérieure sera de rechercher l'atypie (ou les atypies) responsable d'un taux de clivage faible ou nul [7].

#### RÉFÉRENCES

1. CHOCAT A., CREVEUIL C., GALERAUD-DENIS I., HERLICOVIEZ D., HERLICOVIEZ M., SAUVALLE A. : Valeur prédictive de la morphologie dans les échecs de FIV. *Gynecol. Obst. Fertil.*, accepté pour publication.
2. LEE J.D., KAMIGUCHI Y., YANAGIMACHI R. : Analysis of chromosome contribution of human spermatozoa with normal and aberrant head morphologies after injection into mouse oocytes. *Hum. Reprod.*, 1996, 11 : 1942-1946.
3. NAGY Z.P., LIU J., JORIS H. *et al.* : The result of intracytoplasmic sperm injection is not related to any of the three basic sperm parameters. *Hum. Reprod.*, 1995, 10 : 1123-1129.
4. OEHNINGER S., MALONEY M., VEECK L., TONER J., LANZENDORF S., MUASHER S. : Intracytoplasmic sperm injection : achievement of high pregnancy rates in couples with severe male fac-

tor infertility is dependent primarily upon female and not male factors. *Fertil. Steril.*, 1995, 64 : 977-981.

5. PALERMO G., JORIS H., DERDE M.-P., CAMUS M., DEVROEY P., VAN STEIRTEGHEM A. : Sperm characteristics and outcome of human assisted fertilization by subzonal insemination and intracytoplasmic sperm injection. *Fertil. Steril.*, 1993, 59 : 826-835.
6. TERRIOU P., GIORETTI C., AUQUIER P. *et al.* : Teratozoospermia influences fertilization rate in vitro but not embryo quality. *Hum. Reprod.*, 1997, 12 : 1069-1072.
7. OSAWA Y., SUEOKA K., IWATA S. *et al.* : Assessment of the dominant abnormal form is useful for predicting the outcome of intracytoplasmic sperm injection in the case of severe teratozoospermia. *J. Assist. Reprod. Genet.*, 1999, 16 : 436-442.

#### ABSTRACT

#### **Sperm morphology : Analysis in case of severe oligoasthenozoospermia**

E. SZERMAN, I. DENIS

**Sperm morphology can be determined in semen analysis before ICSI, even in the case of severe oligozoospermia, by modifying technical procedure. The semen must be concentrated by centrifugation, a short (<1 cm) semen smear must be prepared with 5µl of semen on a glass microscope slide and at least 20 spermatozoa must be examined under immersion. Although sperm morphology does not affect the outcome of intracytoplasmic sperm injection, the objective consists of informing the couple and organising the IVF laboratory work which is longer in the case of severe teratozoospermia.**

**Key words:** sperm morphology, severe oligozoospermia, intracytoplasmic sperm injection