

PRISE EN CHARGE DES CRYPTOZOOSPERMIES ET DES OLIGOSPERMIES EXTRÊMES

1. Définition et présentation d'une enquête rétrospective dans six centres sélectionnés

Ethel SZERMAN¹, Martine ALBERT², Marc BAILLY³

1 Département Génétique et Reproduction, CHU, Caen

2 Service d'Histologie-Embryologie-Cytogénétique, Biologie de la Reproduction et Génétique Médicale,

3 Service de Gynécologie-Obstétrique et AMP, Centre Hospitalier Intercommunal de Poissy-Saint Germain

I. INTRODUCTION

Bien que les prélèvements testiculaires se réalisent maintenant couramment dans les azoospermies non obstructives, celles-ci semblent donner de moins bons résultats que les azoospermies obstructives [4]. Il nous a paru intéressant d'évaluer si ce geste chirurgical invasif pouvait être évité dans des infertilités masculines dues à une oligospermie très sévère voire une cryptozoospermie (du grec *kruptos* qui signifie ce qui est caché) [1, 2]. En effet, lors d'un premier spermogramme, il n'est pas rare de retrouver chez des patients quelques spermatozoïdes dont le nombre et les caractéristiques peuvent être difficiles à évaluer selon l'examen conventionnel préconisé par l'OMS [5], mais qui peuvent être suffisants pour effectuer une tentative d'ICSI (IntraCytoplasmic Sperm Injection).

Un article princeps sur ces indications [3] nous apportait quelques éléments de réflexion. D'une part, les taux de succès en ICSI sont réduits dans ces cryptozoospermies comparés aux autres groupes à numération plus élevée avec un taux de clivage, une qualité embryonnaire, et un taux de fausses-couches plus important. D'autre part, cet article ne fournissait aucun renseignement concernant l'indication clinique de ces patients, ni aucun élément de diagnostic biologique (dosages hormonaux, biochimie séminale, analyse génétique) pouvant évoquer un facteur prédictif de fécondance.

Quelques membres du Conseil d'Administration de la Société d'Andrologie de Langue Française (SALF) ont donc décidé d'entreprendre une étude prospective sur ces indications, à partir de données cliniques et biologiques utilisées dans nos centres d'Assistance Médicale à la Procréation. Etant donné l'hétérogénéité des pratiques en France, une première étape était nécessaire afin de définir

le mode de recrutement de ces patients, les bilans cliniques et biologiques à effectuer, les modalités de récupération des spermatozoïdes en faible quantité et la possibilité de congeler au préalable un éjaculat avant la tentative d'ICSI, ainsi que le suivi des grossesses. Six centres français(*) se sont portés volontaires pour répondre à l'enquête rétrospective proposée.

II. MATÉRIEL ET MÉTHODES

1. Modalités d'analyse

L'enquête rétrospective a été effectuée à partir d'un questionnaire établi par les centres de Poissy et de Caen. Ce questionnaire regroupant les examens médicaux et biologiques était sensé correspondre aux investigations minimales effectuées chez l'homme et la femme avant une prise en charge en Assistance Médicale à la Procréation (AMP).

La période de référence de saisie des dossiers a été fixée du 1/01/98 au 31/12/02, de la date de bilan à la date de réalisation d'une ou plusieurs ICSI. L'enquête a porté sur une période relativement courte pour une meilleure homogénéisation des pratiques, les techniques évoluant en permanence avec l'expérience des équipes. La date de fin de l'enquête nous permettait d'analyser l'issue des grossesses lors de la présentation des résultats au Congrès de la SALF à Orléans (11-12-13 décembre 2003).

Correspondance :

Dr Ethel SZERMAN - Spermologie-CECOS, Département Génétique et Reproduction, CHU Avenue de la Côte de Nacre 14033 CAEN Cedex - Tel 02 31 06 45 55 - Fax 02 31 06 45 08 - Email szerman-e@chu-caen.fr

Tous les patients ayant moins de 100 000 spermatozoïdes dans la totalité de l'éjaculat sur 2 spermogrammes de bilan effectués à plus de 2 mois d'intervalle ont été retenus pour l'étude, afin d'éliminer les patients présentant un déficit spermatique passager. Pour tous les dossiers retenus, au moins une tentative d'ICSI a été réalisée avec des spermatozoïdes éjaculés. Le transfert des embryons a été réalisé soit à frais soit après congélation.

S'agissant d'une étude rétrospective, les valeurs normales de toutes les analyses ont été définies suivant la pratique courante de chaque centre et peuvent varier d'un centre à l'autre.

2. Les examens

Le questionnaire divisé en 7 pages a été réalisé sur un tableur Excel.

Le questionnaire concernant le bilan masculin comporte 4 pages (1-2-3-4) qui se répartissent de la manière suivante :

Les Antécédents du patient.

L'examen clinique et l'échographique scrotale.

Le bilan biologique de première intention : spermogramme, marqueurs séminaux, bactériologie, recherche d'anticorps antispermatozoïdes.

Le bilan biologique de deuxième intention : bilan hormonal, bilan génétique.

Le bilan féminin comporte une page (5).

Une page du questionnaire a été consacrée aux techniques de congélations du sperme (6).

Une page spécifique est dédiée à la saisie de tous les renseignements cliniques et biologiques concernant chaque tentative d'ICSI réalisée pour chaque couple (7).

L'ensemble du questionnaire a été diffusé aux six centres en juillet 2003, les fiches ont été récupérées, analysées et complétées en septembre et octobre 2003.

3. Exploitation des données recueillies

L'exploration complète des questionnaires a fait l'objet de nos investigations dans trois axes spécifiques :

- Bilans spécifiques et facteurs prédictifs chez l'homme infertile.
- Modalités techniques de récupération et de congélation des spermatozoïdes.
- Résultats des ICSI.

4. Analyse statistique

Les résultats sont présentés sous forme de moyenne \pm SEM. Les analyses statistiques ont été effectuées en utilisant soit le test « t » de Student soit le test de χ^2 . Une valeur de la probabilité $P < 0,05$ est considérée comme statistiquement significative.

III. RÉSULTATS

Dans la période de référence, 118 dossiers ont été retenus dans les six centres après exclusion de tous les dossiers ne répondant pas aux critères de recrutement. Ces dossiers sont répartis en : 7 pour le centre N°1, 17 pour le centre N°2, 25 pour le centre N°3, 38 pour le centre N°4, 12 pour le centre N°5 et 19 pour le centre N°6.

La moyenne d'âge des hommes est de 33 ± 5 ans, celle des femmes de $30,4 \pm 4,3$ ans, comparable à celle d'une population de référence en AMP. Dans 17% des cas (19 patients), l'homme présente une infertilité secondaire, la grossesse ayant été obtenue soit spontanément, soit par ICSI ; dans tous les autres cas il s'agit d'une infertilité primaire. Pour la femme, il s'agit d'une infertilité secondaire dans 12% des cas et primaire pour les autres cas. La durée d'infertilité moyenne du couple est de $3,5 \pm 2,5$ ans.

L'indication de la demande d'examen est assez homogène. Il s'agit pour 107 patients d'une oligospermie extrême connue, pour 11 patients d'un contrôle d'azoospermie fait dans un laboratoire de ville avant biopsie testiculaire, prélèvement de sperme qui s'est avéré contenir des spermatozoïdes.

IV. CONCLUSION

Si le but de cette étude était globalement de connaître le devenir de ces spermés très pauvres tant sur le plan de la prise en charge du patient infertile que sur la réalisation d'une Assistance Médicale à la Procréation, nous tenions également à mettre en commun nos dossiers pour mieux appréhender cette population de patients, confronter nos pratiques et compiler les résultats qui seront développés dans les articles suivants, l'effectif de ces patients étant relativement faible et ne représentant dans chaque centre qu'environ 1% des ICSI réalisées pendant la période citée.

Notre objectif était par la suite de proposer une enquête prospective englobant un nombre plus important de centres d'AMP après avoir défini un questionnaire précis.

Questionnaire page 1 : Antécédents du patient

Centre:.....

Code Patient:.....

Age:.....

Catégorie:

< 10⁴
10⁴ - 10⁵

préciser à 1ère tentative

RECRUTEMENT DU PATIENT

Cocher la case correspondante

Oligospermie extrême connue
Azoospermie contrôle avant Biopsie testiculaire

| |
|--|
| |
| |

ANTECEDENTS HOMME

Répondre par OUI ou NON (si question posée...)
Laisser en blanc si information non connue

| | | | |
|------------------------------------|---------------|-------------|--|
| Fertilité antérieure | Couple actuel | Hors couple | |
| Durée infertilité du couple | | | |

| | | | | |
|--------------------------|--|-----|---------------|-----|
| Généraux médicaux | | O/N | | O/N |
| Broncho respiratoires | | | Tabac | |
| Carcinologiques | | | Alcool | |
| Psycho/iatriques | | | Expo toxiques | |
| Autres | | | Chaleur | |
| | | | Irradiation | |
| | | | Chimio | |

| | | |
|------------------------------|--|-----|
| Généraux chirurgicaux | | O/N |
| Appendicectomie | | |
| Autres | | |

| | | | | |
|-----------------------|-------------|--------------------|------------------|---------|
| Uro-Génitaux | | O/N | | Chiffre |
| Descente testiculaire | | retardée spontanée | | |
| | ectopie D | | Opérée à (ans) | |
| | ectopie D | | Trait. Médical à | |
| | ectopie G | | Opérée à (ans) | |
| ectopie G | | Trait. Médical à | | |
| | | | | |
| Infection urinaire | | | | |
| | traitée | | | |
| Infection génitale | | | | |
| | traitée | | | |
| | non traitée | | | |
| | récurrente | | | |
| Orchite | | | | |
| Traumatisme | | | | |
| Torsion testiculaire | | | | |
| Hernie inguinale | | | D/G ? | |
| | D | | Opérée à (ans) | |
| | G | | Opérée à (ans) | |
| Hypogonadisme | | | Traité depuis | |
| | | | testostérone: | |
| | | | FSH/HCG: | |

Questionnaire page 2 : Examen clinique

Centre:..... Code Patient:..... Age:..... Catégorie: $< 10^4$
 $10^4 - 10^5$

EXAMEN CLINIQUE

| | | OUI | NON | Si "NON", passer.... | |
|----------|-----------|-----|-----|----------------------|-----------------------|
| | | | | NI/Anl/kyste | Chiffre (ml) Nie/Anle |
| à droite | épididyme | | | | |
| | testicule | | | volume | consistance |
| | déférent | | | | |
| à gauche | épididyme | | | | |
| | testicule | | | volume | consistance |
| | déférent | | | | |

| conclusion de l'examen clinique | | OUI / NON /? | Douleur/inflammat° |
|---------------------------------|------------------------|--------------|--------------------|
| | normal | | OUI / NON /? |
| | cordon droit court | | |
| | cordon gauche court | | |
| | kyste épидидyme Droit | | |
| | kyste épидидyme Gauche | | |
| | hydrocèle | | |
| | varicocèle droit | | |
| | varicocèle gauche | | |
| | hypotrophie T Droite | | |
| | hypotrophie T Gauche | | |
| | atrophie T Droite | | |
| | atrophie T Gauche | | |
| | déférent non perçu D | | |
| | déférent non perçu G | | |

ECHOGRAPHIE

| | | OUI | NON | Si "OUI", compléter par.... | |
|----------------------------|---------------------|-----|-----|-----------------------------|--|
| | malformation rénale | | | O = OUI | |
| prostate | calcifications | | | N = NON | |
| | mesures: | | mm | ? = ne sait pas | |
| | hétérogénéité | | | ou mesures | |
| | canaux vus | | | Si "NON", passer.... | |
| vésicule séminale gauche | mesures: | | mm | | |
| | | | | | |
| vésicule séminale droite | mesures: | | mm | | |
| | | | | | |
| épididyme gauche | mesures: | | mm | | |
| | | | | | |
| épididyme gauche | mesures: | | mm | | |
| | | | | | |
| testicule gauche | mesures(mm): | X | | | |
| | | | | | |
| testicule droit | mesures(mm): | X | | | |
| | | | | | |
| doppler spermatique gauche | mesures: | IR | | | |
| | | | | | |
| doppler spermatique droit | mesures: | IR | | | |
| | | | | | |

Centre:..... Code Patient:..... Age:..... Catégorie: $\frac{< 10^4}{10^4 - 10^5}$

BILAN SPERMATIQUE

Spermogramme de référence de la cryptozoospermie

| | | | |
|------------------------------|---|---|---|
| date | | | |
| volume (ml) | | | |
| pH | | | |
| concentration spzdes (/ml) | | | |
| Nombre total/éjaculat | | | |
| MobTotale(%) | | | |
| a | b | c | d |
| | | | |

| | | | |
|----------------------------|--------------|--|----------------|
| F Typ. (%) | | | |
| numération cellules rondes | | | |
| Leucoscreen (O/N) | | | Quantification |
| type cellules | Lignée sang | | |
| | Poly. | | |
| | Lignée germ. | | |

Marqueurs séminaux

Date:

| | dosages | normes | N/augmenté/ diminué |
|----------------|---------|--------|------------------------|
| carnitine | | | |
| glucosidase | | | |
| acide citrique | | | |
| Phosphatase | | | |
| Zinc | | | |
| fructose | | | |

Spermoculture

| | OUI | NON | Date : |
|---------------------------|-----|-----|--------------|
| numération des germes | | | |
| identification des germes | | | |

| | | |
|----------------------------|-------------------------|--|
| antibiothérapie prescrite: | systematique O/N | |
| | selon antibiogramme O/N | |

Recherche anticorps

| | OUI | NON |
|-----------------|-----|-----|
| Systematique? | | |
| Résultat: | | |

Combien de spermogrammes analysés avant de poser le diagnostic?

Le patient a-t-il reçu un traitement anti inflammatoire systematique?

Centre:..... Code Patient:..... Age:..... Catégorie: $\frac{< 10^4}{10^4 - 10^5}$

| BILAN HORMONAL | | OUI | NON | Si "NON", passer.... | |
|-----------------------|--|------|---------|----------------------|------------|
| | | Date | Dosages | Normes | Conclusion |
| FSH | | | | | |
| LH | | | | | |
| TESTOSTERONE | | | | | |
| INHIBINE B | | | | | |
| Autre : | | | | | |

| BILAN GENETIQUE | OUI | NON | Si "NON", passer.... |
|------------------------|-----|-----|----------------------|
|------------------------|-----|-----|----------------------|

| Interrogatoire | | |
|-------------------------|--|---|
| Arbre généalogique | | |
| <i>SI OUI</i> | | |
| Origine/ethnie | | <i>Au choix si connu... (Caucase, magreb, afrique noire, asie, turquie, etc)</i> |
| Consanguinité | | |
| Infertilité collatéraux | | |

| Cytogénétique | OUI | NON | (si "OUI" cocher ou préciser la formule) |
|--------------------------|-----|-----|--|
| Caryotype (préciser) | | | |
| translo rob (O/N) | | | formule |
| translo réciproque (O/N) | | | formule |
| autre | | | formule |

| Biologie moléculaire | OUI | NON | Si "NON", passer.... |
|--|-----|-----|----------------------|
| Microdélétion Y fait (O/N) | | | |
| Délétion (O/N) | | | |
| Préciser la délétion: AZFa, AZFb, AZFc | | | |

| CFTR | OUI | NON | |
|----------|-----------------------|--------|--|
| mutation | | détail | |
| autre BM | <i>Préciser</i> | | |

| FISH | OUI | NON |
|-----------------------|-----|-----|
| <i>Préciser</i> | | |

Centre:..... Code Patient:..... Age:..... Catégorie:

| |
|---------------|
| $< 10^4$ |
| $10^4 - 10^5$ |

ANTECEDENTS FEMME

NB: Les informations concernant cette fiche ont pour but de permettre à Marc de conclure le plus simplement possible sur la fonction reproductrice de la conjointe en fonction des normes de chaque centre

Code conjointe:
Age:

| | | |
|-------------------------------------|---------------|-------------|
| Fertilité antérieure (O/N/?) | Couple actuel | Hors couple |
|-------------------------------------|---------------|-------------|

*Cocher la case correspondante (si question posée...)
Laisser en blanc si information non connue*

| | | |
|-----------------|----------------|--|
| Cycles : | Ovulatoires | |
| | Dysovulatoires | |
| | Anovulatoires | |

| | | |
|--------------|----------|--|
| HSG : | Normale | |
| | Anormale | <i>(anomalie tubaire, muqueuse ou malfo)</i> |

| Dosages hormonaux à J3: | Normes | ou "N/Aug/Dim" |
|--------------------------------|--------|----------------|
| FSH | | |
| LH | | |
| E2 | | |
| Inhibine | | |
| Prolactine | | |

ATCD Gynécologiques notables (Cocher)

| | |
|--------------|--|
| R.A.S. | |
| Kyste(s) ov. | |
| Endométriose | |
| Infection(s) | |
| Expos° DES | |
| Autre | |

CONCLUSION DE CE BILAN

| | |
|---------------------------|--|
| Strictement normal | |
| 1 seul critère anormal | |
| Réserve ovarienne altérée | |
| Autre | |

Centre:..... Code Patient:..... Age:..... Catégorie:

| |
|---------------|
| $< 10^4$ |
| $10^4 - 10^5$ |

TECHNIQUE D'AUTOCONSERVATION

| | | |
|-----|-----|----------------------|
| OUI | NON | Si "NON", passer.... |
|-----|-----|----------------------|

Date :/...../.....

Nature du prélèvement

| | |
|----------------|-------|
| Sperme éjaculé | Urine |
|----------------|-------|

Technique

| | | |
|-----------------------|--|---------------|
| Sperme entier | | Milieu: |
| spermatozoides lavés | | |
| Spermatozoides migrés | | |

| | |
|-----------------------------------|-----------------|
| Cryoprotecteur:..... | Dilution: |
| Type de pailles: | HS |
| | Autre: |
| Volume avec cryoprotecteur: | |

Résultat de l'autoconservation (avant congélation)

| | |
|---|--|
| Nombre de pailles obtenues:..... | |
| Nombre de spermatozoïdes / paille:..... | |
| Nombre de spermatozoïdes mobiles / paille:..... | |

Test de décongélation (si pratiqué, cocher ou compléter)

| | |
|--------|----------------|
| Motif: | systématique |
| | asthéro totale |
| | Autre: |

| | | |
|------------------------------|---|---------------------------|
| Volume examiné:µl | Nombre spzdes:..... | dont spzdes mobiles |
| Soit une estimation de | spzdes mobiles par paille après décongélation | |
| Si test de vitalité HOS | Nombre spzdes: | dont spzdes vivants |

Bilan

| | | |
|--------------------|------------|--------------|
| Autoconservation : | Utilisable | Inutilisable |
|--------------------|------------|--------------|

Si autoconservation utilisable...

Nombre pailles utilisables :

| | |
|------------------------|-----------|
| ICSI envisageable....: | Aisée |
| | Limite |
| | Aléatoire |

Centre:..... Code Patient:..... Age:..... Catégorie: $< 10^4$
 $10^4 - 10^5$

FICHE TENTATIVE (1 fiche par ponction)

*Cocher la case correspondante
 Laisser en blanc si information non connue*

Stimulation

| | | | |
|--------------|--|------------------|--|
| Agonistes | | FSH recombinante | |
| Antagonistes | | FSH purifiée | |

| | | |
|---------|-------|--|
| Procole | long | |
| | court | |

Déclenchement à J J "0" jour de la ponction

| | |
|---------------------|--|
| Oestradiol | |
| LH | |
| Epaisseur endomètre | |
| Nbre follic>15 | |

ICSI n°

Date.....

| | | |
|-------------|--------------|--|
| Ponction ss | Anest Locale | |
| | Anest Géné | |
| | Pas d'Anest | |

Injection spermatozoïde

| | | | | |
|-------------------|------------|--------------|---------|--|
| Nombre d'ovocytes | | sperme frais | | |
| | recueillis | | congelé | |
| | matures | | | |
| | injectés | | | |

Nombre d'embryons à J

| | |
|------------|--|
| Obtenus | |
| transférés | |
| congelés | |

Résultats

Transfert embryons frais Transfert embryons congelés

| | | | |
|----------------|------------|--|--|
| Si "beta +"... | beta HCG - | | |
| | béta HCG + | | |
| | FCS | | |
| | MFIU | | |
| | BB | | |

Commentaires éventuels

BIBLIOGRAPHIE

1. HOURVITZ A., SHULMAN A., MADJAR I. et al. : In vitro fertilization treatment for severe male factor: a comparative study of intracytoplasmic sperm injection with testicular sperm extraction and with spermatozoa from ejaculate. *J. Assist. Reprod. Genet.*, 1998, 15 : 386-389.
2. RON-EL R., STRASSBURGER D., FRIEDLER S. et al. : Extended sperm preparation : an alternative to testicular sperm extraction in non-obstructive azoospermia. *Hum. Reprod.*, 1997, 12 : 1222-1226.
3. STRASSBURGER D., FRIEDLER S., RAZIEL A. et al. : Very low sperm counts affects the result of intracytoplasmic sperm injection. *J. Assist. Reprod. Genet.*, 2000, 17 : 431-436.
4. VERNAEVE V., TOURNAYE H., OSMANAGAOGLU K. et al. : Intracytoplasmic sperm injection with testicular spermatozoa is less successful in men with nonobstructive azoospermia than men with obstructive azoospermia. *Fertil.Steril.*, 2003, 79 : 529-533.
5. WHO World Health Organization laboratory manual for the examination of human semen and sperm-cervical mucus interaction, Cambridge; Cambridge University Press, 4th edition, 1999: 69.

Communication au XX^e Congrès de la Société d'Andrologie de Langue Française, Orléans, 11-13 Décembre 2003.

() Remerciements aux six centres d'AMP ayant participé à l'étude.*

Département Génétique et reproduction, Pôle AMP - CHU CAEN

Laboratoire de Biologie de la Reproduction - CHU CLERMONT-FERRAND

Laboratoire de Biologie de la Reproduction - CHU LYON

Laboratoire de Biologie de la Reproduction, La conception AP-HM MARSEILLE

Service de Médecine et Biologie de la Reproduction - CHU NANTES

Service de Biologie de la Reproduction, Service de Gynécologie Obstétrique – CHI POISSY/ST GERMAIN