

« Quoi de neuf en Gynéco ? »

1er décembre 2016 – le Havre

Le spermocytogramme (norme Kruger)

Isabelle Denis – Florence Chevallier Helas

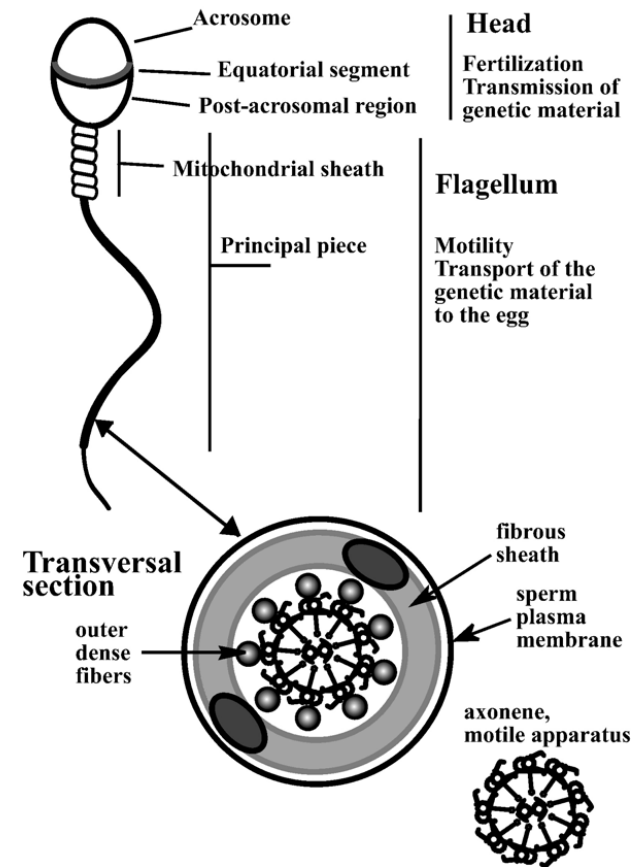
Laboratoire de Biologie de la Reproduction

Centre AMP Hôpital Monod

Pourquoi étudier la morphologie ?

Résultat d'un processus complexe (spermatogenèse et spermiogenèse) soumis à de multiples influences (génétiques, développementales, environnementales)

- un des trois paramètres spermatisques de base pour évaluer la qualité des spz
- implication dans la capacité fécondante du spermatozoïde humain hors AMP
- paramètre déterminant dans le choix de la technique (IIU, FIV, ICSI) lors de la prise en charge du couple en AMP ?



Lecture du spermocytogramme

David modifié

Recensement des spz morphologiquement normaux (SMN)

Comptage sur 200 spz
en fait au moins 100 spz

Recensement en dehors des spz SMN de :

- * 7 anomalies de la tête
têtes allongées, têtes amincies,
microcéphales, macrocéphales, multiples,
anomalies de la région acrosomique,
anomalies de la région post-acrosomique

- * 3 anomalies de la PI
restes cytoplasmiques,
PI grêle et PI angulée

- * 5 anomalies de la pièce principale
absence, écourtée, de calibre irrégulier,
enroulée et multiples

Kruger

Recensement de spz morphologiquement normaux (SMN)

Comptage sur 2 fois 200 spz (OMS)
en fait au moins 200 spz

Recensement en dehors des spz SMN du
nombre de spz présentant des :

- * anomalies de la tête

- * anomalies de la pièce intermédiaire

- * anomalies de la pièce principale

- * restes cytoplasmiques

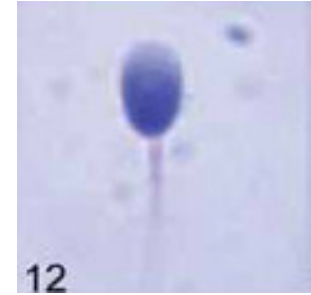
Classification globalement similaire avec des critères plus stricts en Kruger

Tête normale

1 – forme générale

* taille de la tête :

longueur (L) 4 à 5 μm sur 2,5/3 μm de largeur (l)



donc exclure les spermatozoïdes macrocéphales ($L > 5 \mu\text{m}$ et $l > 3 \mu\text{m}$) ou microcéphales ($L < 5 \mu\text{m}$ et $l < 3 \mu\text{m}$)

* forme de la tête

tête ovale et régulière

base de la tête de forme ovale et présentant une couleur foncée homogène (partie du noyau non recouverte de l'acrosome)

donc exclure les spz de forme ronde, allongée ($L > 5 \mu\text{m}$), amincie ($l < 2,5 \mu\text{m}$)

les spz à tête irrégulière ou pyriforme

les spz à double tête



2 - vacuole(s) :

région post-acrosomale : absence de vacuoles

région acrosomale : absence de large vacuole ou au maximum 2 petites vacuoles représentant moins de 20% de la surface de la tête

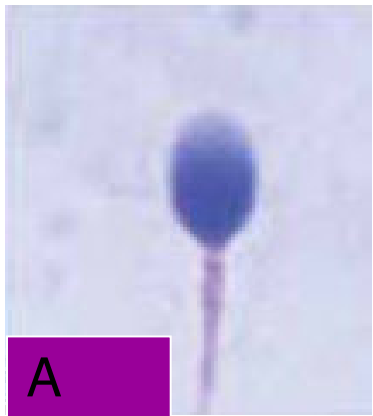
3 - zone acrosomale comprise entre 40% et 70% de la surface de la tête



Pièce intermédiaire normale

PI régulière, mince de même longueur que la tête
L'axe principale de la PI doit être aligné sur l'axe principale de la tête

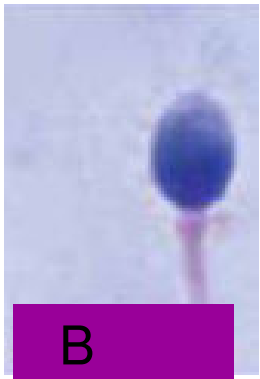
Résidus cytoplasmiques considérés comme anormaux quand ils excèdent de plus d'un tiers la taille de la tête = ERC (Mortimer & Menkveld)



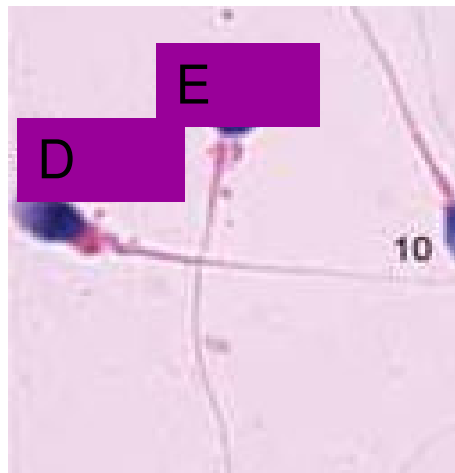
normal



axe d'insertion anormal

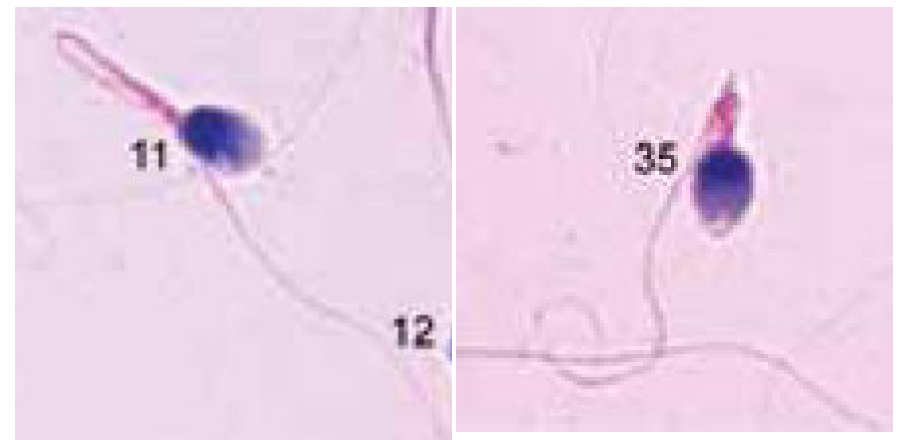


épais



Flagelle normal

de calibre constant sur toute la longueur
flagelle plus mince que la PI
approximativement 45 μm long
(~ 10 fois la longueur de la tête)



Limites des classifications

. pour le David modifié,

- facteur temps de lecture long
- variabilité dans le nombre maximal d'anomalies comptées sur le spermatozoïde
- le listing des anomalies à considérer
- la priorisation du classement des spermatozoïdes présentant plus d'une anomalie morphologique au regard du nombre d'anomalies étudiées (aucune homogénéisation)

Conséquences :

1) une plus grande disparité dans la lecture des spermocytogrammes inter et intra-laboratoire

2) une plus grande difficulté de validation de la méthode pour le spermocytogramme

. pour la classification Kruger,

- au maximum 4 types d'anomalies
- 4 classes définies (tête, pièce intermédiaire, restes cytoplasmiques, flagelle)
- meilleure lecture au sein de l'équipe
- plus facile pour la validation de méthode

Mais +++ manque de spécificité dans le type d'anomalie

Détermination du % de formes typiques (1)

Valeur normale : ≥ 4 % formes typiques

< 4 % formes typiques \longrightarrow tératozoospermie

avec deux niveaux :

*** tératozoospermie sévère: 0-1 %**
(si % confirmé, envisager un caryotype)

*** tératozoospermie modérée : 2-3 %**

Facteurs influant sur le % de formes typiques :

- un délai d'abstinence long
- la prise intensive de cannabis
- la survenue d'un épisode fébrile important

Notion de tératozoospermie isolée

autres éléments associés : **diminution du nombre de spermatozoïdes mobiles progressifs sur le Test de Migration-Survie**

Détermination du % de formes typiques (2)

1) Bon indicateur de la capacité fécondante naturelle du spermatozoïde

2) Peut constituer un élément de décision dans le choix de la technique d'AMP (IIU/FIV/ICSI)

Discussion sur la prise en charge du couple infertile en IIU et FIV sur une tératozoospermie sévère

Aide à la décision : détermination du % de formes typiques sur TMS en seconde intention

mais ne constitue pas un élément pronostique de grossesse en ICSI (très discuté) :

* possibilité d'obtenir une grossesse en ICSI avec 0% de formes typiques

* La formation des blastocystes, le taux de grossesse et de naissance non affectés en ICSI en cas de tératozoospermie sévère (*French et al 2009*)

Détermination du % de formes typiques (3)

3) Relation négative entre la qualité des spz et le développement du blastocyste suggérant que les spz pourraient affecter l'embryogenèse dès les stades très précoces
(*Loutradi et al 2006*)

Corrélation négative entre le % de formes typiques et le **taux de ROS** dans le plasma séminal (*Agarwal et al 2014*)

Corrélation négative entre le % de formes typiques et le **taux de fragmentation d'ADN**
(*Said et al 2005, Schulte et al 2010*)

Index de tératozoospermie (TZI)

Détermination de l'index d'anomalies multiples IAM (David modifié)

Il est égal au rapport du nombre total d'anomalies (13) recensées par le nombre total de spermatozoïdes anormaux

Détermination de l'index de tératozoospermie ou TZI (Kruger)

Il est égal au rapport du nombre total d'anomalies (4) classées par le nombre total de spermatozoïdes anormaux

Intérêt du TZI :

Fait partie intégrante du spermocytogramme mais peu d'intérêt en première intention (avis personnel) et procédure considérée comme optionnelle dans les normes OMS 2010

2 références (*Menkved et al, Haugen et al*)

$TZI < 1,64/1,72$

Plus il est élevé, plus l'incidence sur la fécondance du sperme serait augmenté

Limites : pas de description des éléments

Être très vigilant pour la détection d'anomalies spécifiques

Détection des tératozoospermies monomorphes (globozoospermie, macrozoospermie)

Détection des double flagelles/têtes et autres anomalies (acrosome, flagelles enroulés)

CONCLUSION

1) Choix de la classification de Kruger : choix **pragmatique**

- plus rapide (même si on compte 200 spz)
- comptage de plus de spz (voir 400) : au voisinage de 4 %
diminution des effets de zones hétérogènes sur une lame
- TZI plus simple que IAM (4 possibilités vs 13 possibilités)
plus facile pour assurer une homogénéisation au sein de l'équipe (qualité de lecture)

2) Intérêt de la détermination du % de formes typiques

- dans le spermogramme/spermocytogramme de première intention
- lors de la prise en charge en AMP mais le TMS reste l'élément primordial de sélection
- reste le cas des tératozoospermies sévères (0-1%typiques) sur deux déterminations

Situations variables nécessitant des explorations plus poussées et évaluation du TZI

Cadre :
Techniciens

K. Besnard
G. Fleury
M. Lemahieu
E. Picot
M. Rouillet

secrétaires

H. Happeday
C. Delafosse

Biologistes

I. Denis
F. Chevallier-Hélas

