TD Embryologie

Spermogramme et Spermocytogramme

1. Définition

Le Sperme : liquide produit lors de l'éjaculation. Le sperme est composé par les spermatozoïdes, cellules sexuelles fabriquées par les cellules germinales des testicules et par le liquide séminal, qui correspond à un mélange de sécrétions provenant des glandes génitales masculines (prostate, vésicules séminales, épididyme et glandes de Cowper).

Le spermogramme : est un **examen** essentiel à la recherche de **la cause de l'infertilité** au sein d'un couple. Les renseignements qu'il fournit se doivent d'être justes et représentatifs de l'échantillon obtenu. L'échantillon de sperme est soumis à différentes analyses ayant pour but de le quantifier et d'en évaluer la qualité des spermatozoïdes.

Le spermogramme désigne l'examen **qualitatif** et **quantitatif du sperme** et des spermatozoïdes pratiqués dans le cadre des analyses de biologie médicale. Au sens strict,

le spermogramme est **le rapport de l'examen complet du sperme** et, par extension, cet

examen même. Il permet de préciser différents paramètres :

- La numération des spermatozoïdes par millilitre ;
- La liquéfaction
- La mobilité des spermatozoïdes (en pourcentage) une et quatre heures après l'éjaculation ;
- La vitalité des spermatozoïdes (en pourcentage) ;
- Le volume de l'éjaculat (en millilitres) ;
- La viscosité du sperme ;
- Le PH du sperme ;
- La numération des globules blancs présents dans l'éjaculat.

Accueil du patient

À l'accueil du patient, certains détails doivent être vérifiés :

• S'assurer que l'échantillon est bien identifié.

• Vérifier si la collecte de l'échantillon de sperme a été effectuée à l'hôpital ou au domicile (l'échantillon doit être maintenu à la température du corps (37 ºC) durant le transport jusqu'au laboratoire).

• Inscrire la date et l'heure de la réception de l'échantillon (si l'échantillon a été prélevé au domicile, le patient doit se rendre dans l'heure suivant l'éjaculation).

• Le spécimen doit être recueilli après un minimum de quarante-huit heures d'abstinence sans toutefois dépasser 7 jours.

Le spermogramme selon l'OMS (Organisation mondiale de la Santé)

Le spermogramme permet d'évaluer la quantité et la qualité des spermatozoïdes.

Les critères de classification de l'OMS d'un spermogramme dit « normal »

Volume	2,0 ml ou plus
PH	7,2 ou plus
Numération des spermatozoïdes	40 x 10^6 spermatozoïdes ou plus par éjaculation
Mobilité	50 % ou plus de spermatozoïdes mobiles (avec progression vers l'avant) (grade A+B) ou 25 % ou plus de spermatozoïdes mobiles avec une progression linéaire rapide (A) dans les 60 minutes qui suivent l'éjaculation
Morphologie	15 % ou plus de spermatozoïdes à morphologie normale
Viabilité	50 % ou plus de spermatozoïdes viables (ne prenant pas la couleur)
Leucocytes	Moins de 1 x 10^9/l

Évaluation dans le cadre du spermogramme

A. La liquéfaction

Avant de commencer l'analyse du sperme, une période de temps doit être accordée pour la liquéfaction. La durée normale de liquéfaction est de 30 minutes. Si celle-ci n'est pas réalisée à l'intérieur de ce délai, on dira qu'elle est lente plutôt que normale.

B. Le volume

À l'aide d'une pipette ou d'un cylindre gradué, le volume de l'éjaculat est mesuré.

C. La viscosité

Celle-ci s'évalue selon 4 niveaux à l'aide d'une pipette :

- Viscosité normale : si l'échantillon ne se sépare bien goutte à goutte.
- Viscosité 1 : si l'échantillon forme un filet liquide entre chaque goutte.
- Viscosité 2 : si l'échantillon est suffisamment visqueux pour que le filet soit continu.
- Viscosité 3 : si l'échantillon est tellement visqueux qu'il ne peut s'écouler par la pipette.

D. Le pH

Celui-ci est mesuré à l'aide de papier pH. Le pH devrait être entre 7,2 et 8,1, bien qu'il ne soit pas évident qu'une valeur de plus de 8,1 soit négative. D'autre part, des valeurs plus basses peuvent indiquer une infection génitale.

E. La mobilité

Pour évaluer la mobilité, un examen à l'état frais doit être effectué : placer 10 microlitres (µL) de sperme entre une lame et une lamelle. Un décompte est réalisé en visualisant au moins 200 spermatozoïdes (2 X 100).

L'évaluation des grades se fait comme suit :

- Grade A : progression rapide : les spermatozoïdes bougent bien en ligne droite à travers le champ du microscope.
- Grade B : progression lente : les spermatozoïdes bougent lentement, en zigzaguant.
- Grade C : agitation sans progression : les spermatozoïdes bougent mais n'avancent pas (seules les flagelles bougent);
- Grade D : immobiles : les spermatozoïdes sont complètement immobiles.

F. La viabilité -Coloration Éosine-Nigrosine

Cette coloration est basée sur le principe de la perméabilité des cellules mortes à certains colorants comme l'éosine (membranes plasmiques lésées).

Celle-ci nous permet d'évaluer, en faisant un décompte de 200 spermatozoïdes, le pourcentage de spermatozoïdes vivants.

Ceux en blanc ont une membrane qui n'est pas lésée, c'est-à-dire qu'ils résistent à la coloration à l'éosine, tandis que ceux en rouge ont une membrane lésée permettant à l'éosine de pénétrer à l'intérieur de la cellule. De plus, ce test nous donne l'occasion de faire un contrôle interne en ce qui a trait à l'estimation de la mobilité.

La technique

• Ajouter 2 gouttes de sperme.

• Ajouter 2 gouttes de solution aqueuse à l'éosine 1 %, bien mélanger au vortex.

• Attendre 30 secondes.

• Ajouter 2 gouttes de solution aqueuse à la nigrosine 10 %, bien mélanger au vortex.

• Déposer une goutte entre une lame et une lamelle.

• Faire un décompte de 200 spermatozoïdes à 40 X.

G. La numération

Cette étape permet de déterminer la concentration de spermatozoïdes dans l'éjaculat à analyser. Les résultats s'expriment en milliard/L (SI).

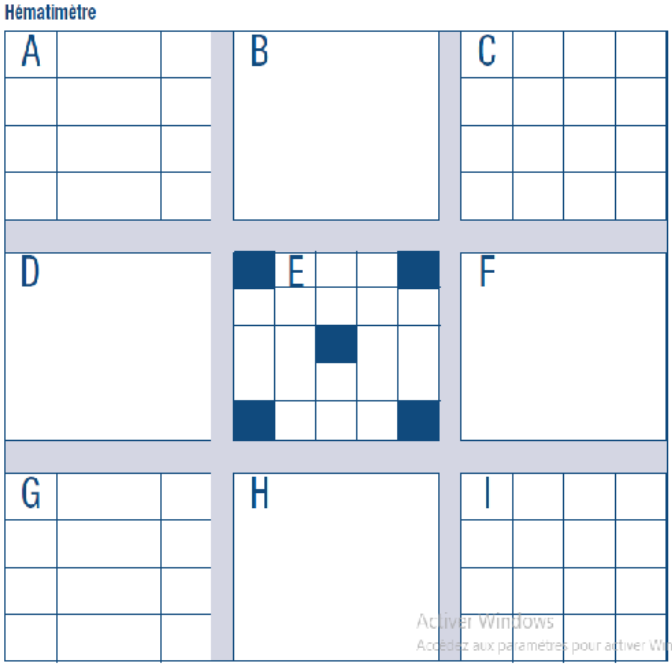
La procédure de numération

Cette procédure est proposée à titre d'exemple :

• Avec une dilution de 1 sur 20 (10 µL de sperme avec 190 µL de liquide immobilisant), on compte en examinant les 4 coins + le centre du carré E (voir le schéma de l'hématimètre).

• Étaler la dilution sur un hématimètre des 2 côtés et laisser reposer dans une chambre humide (boîte de Pétri) 10 minutes avant d'en faire la lecture.

• Le nombre de spermatozoïdes comptés X 1 000 000 nous donne directement le nombre en milliard par litre (voir la formule).



Un tableau pouvant nous aider à choisir la bonne dilution pour effectuer la numération :

Type d'échantillons	Dilution	Volume de diluant	Volume de sperme
Oligospermie sévère	…….	……	Goutte éch. pure
Oligospermie	1/10	180 ul	20 ul
Normal	1/20	190 ul	10 ul
Décompte élevé (donneur)	1/40	390 ul 195 ul	10 ul 5 ul

La procédure de numération

Cette procédure est proposée à titre d'exemple :

• Avec une dilution de 1 sur 20 (10 µL de sperme avec 190 µL de liquide immobilisant), on compte en examinant les 4 coins + le centre du carré E (voir le schéma de l'hématimètre).

• Étaler la dilution sur un hématimètre des 2 côtés et laisser reposer dans une chambre humide (boîte de Pétri) 10 minutes avant d'en faire la lecture.

• Le nombre de spermatozoïdes comptés X 1 000 000 nous donne directement le nombre en milliard par litre.

Comptage : les valeurs normales de concentration devraient être au-dessus de 20 million/ml. Si la valeur est trouvée dessous, l'échantillon est classé selon le nombre de spermatozoïdes de la façon suivante :

• Oligozoospermie modérée : entre 10 et 20 million/ml

• Oligozoospermie grave : entre 0,1 et 10 million/ml

• Cryptozoospermie : moins de 0,1

• Azoospermies : s'il n'y a aucun spermatozoïde dans le sperme

H. La morphologie

La morphologie des spermatozoïdes est évaluée après coloration d'un frottis et examen de celui-ci au microscope.

• Faire un frottis sur une lame chargée positivement (évite le décollement et la contamination).

• Autant que possible, une normalisation de la quantité de sperme utilisée est préférable pour faire le frottis : 10 µL de sperme étalé en frottis et fixé au « cytospray ».

• Différentes colorations peuvent être utilisées, en voici quelques exemples : Hématoxyline et

Éosine, Papanicolaou ou Diff-Quick;

• Un décompte d'au moins 200 spermatozoïdes est effectué avant d'établir une moyenne. Les résultats sont exprimés en pourcentage (%).

Qu'est-ce qu'un spermocytogramme ?

Le spermocytogramme est un examen visant à analyser la morphologie des spermatozoïdes, l'un des paramètres spermatiques étudiés dans le cadre d'un bilan de fertilité. Il permet de définir le pourcentage de formes typiques, c'est-à-dire de spermatozoïdes de morphologie normale, une donnée pronostique importante pour définir les chances de fécondation in vivo (grossesse naturelle) et in vivo. Le spermocytogramme est donc l'un des éléments clefs pour orienter la prise en charge du couple en insémination, fécondation in vitro (FIV) classique ou intracytoplasmic sperm injection (ICSI).

Le spermocytogramme permet d'évaluer :

- La morphologie des spermatozoïdes ;
- Le pourcentage des formes atypiques (formes anormales).

La classification de Kruger

(La classification stricte de Kruger est recommandée par l'Organisation mondiale de la Santé)

La classification de Kruger recense une seule anomalie par spermatozoïde. L'anomalie est recensée par ordre d'importance comme suit :

• ACROSOME

• TÊTE

• PIÈCE INTERMÉDIAIRE

• FLAGELLE

Aussitôt qu'une anomalie est recensée, le spermatozoïde est directement classé dans les « anormaux ». Les évaluations de la morphologie selon Kruger sont beaucoup plus strictes ; on parle de morphologie normale à partir de 15 % lors d'évaluation de la morphologie sur frottis coloré.

Bien que la classification des spermatozoïdes « normaux » comparativement à « anormaux » prime, nous pouvons, si l'on veut, détailler les anomalies, par exemple :

• 22 % de spermatozoïdes normaux

• 12 % d'acrosomes absents

• 5 % de têtes allongées

• 17 % de microcéphales

• 29 % de têtes amorphes

• 3 % de reste cytoplasmique

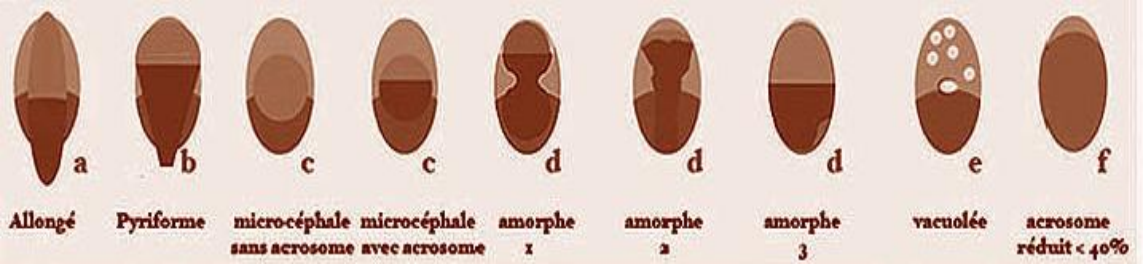
• 12 % de flagelles enroulés

Total : 100 %

Anomalies de la tête :

Acrosome anormal, absent, vacuolé

Tête allongée, amincie, microcéphale, macrocéphalemultiple

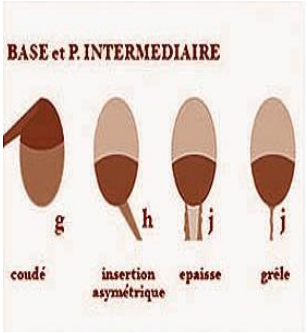


Anomalies de la pièce intermédiaire :

Reste cytoplasmique (extrusion)

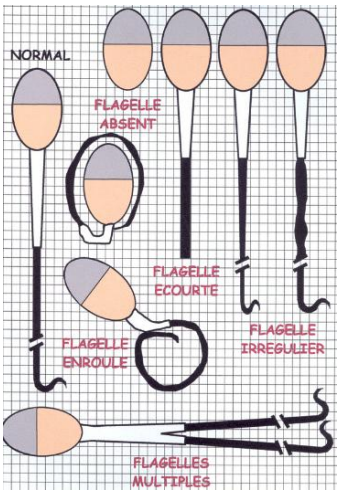
Pièce grêle

Pièce angulée



Anomalies du flagelle :

Absent, Écourté, De calibre irrégulier, Enroulé, Multiple.



Un tableau d'interprétation d'anomalies pouvant servir lors de l'interprétation d'un spermogramme :

Interprétation type d'un spermogramme			
Anomalies du nombre	>250 millions : 20 à 250 millions : 15 à 19 millions : 10 à 14 millions : 5 à 9 millions : 1 à 4 millions : < 1 million : 0 :	Polyzoospermie ---------- Oligozoospermie Oligozoospermie Oligozoospermie Oligozoospermie Oligozoospermie Azoospermie	---------- Normale Légère Importante Sévère Très sévère Extrême
Anomalies de la mobilité (en fonction du grade)	50 à 100 % : 35 à 49 % : 20 à 34 % : 10 à 19 % : 5 à 9 % : < 5 % :	---------- Asthénozoospermie Asthénozoospermie Asthénozoospermie Asthénozoospermie Asthénozoospermie	Normale Légère Importante Sévère Très sévère Extrême
Anomalies de la morphologie	15 à 100 % : 10 à 14 % : 5 à 9 % : 1 à 4 % 0 %	---------- Tératozoospermie Tératozoospermie Tératozoospermie Tératozoospermie	Normale Légère Importante Sévère Extrême
Association d'anomalies		Oligoasthénotératozoospermies de degrés divers	
Anomalies du volume	Absence : < 1,5 ml : > 6,0 ml :	Aspermie Hypospermie Hyperspermie	

Activer Wind
Accédez aux par