

Les tests de fertilité masculine : évaluation par des tests de laboratoire et préparations pour la procréation médicalement assistée

Ariane de Agostini

DMGL - HUG

2010

Laboratoire d'Andrologie

- Aux HUG, le laboratoire d'Andrologie a débuté à la Maternité et fait maintenant partie du DMGL, au laboratoire des liquides biologiques, responsable Dr J-D. Graf.

Activité	2009
Spermogrammes	201
Tests de préparation de spermatozoïdes	26
Préparation pour insémination artificielle du sperme du conjoint	32
Congélation de spermatozoïdes	44

Activités d'andrologie au laboratoire des liquides biologiques

- Evaluation de la fertilité masculine
 - activité diagnostique
 - spermogramme
 - test de préparation de sperme
- Préparations pour la PMA
 - activité « thérapeutique »
 - préparation des spermatozoïdes pour insémination
 - congélation de spermatozoïdes

Analyse du sperme

- Il est possible d'examiner directement les gamètes masculins, ce qui donne de précieuses données qui ne sont pas accessibles pour les ovocytes.
- L'analyse du sperme comprend l'examen:
 - des spermatozoïdes
 - des autres cellules présentes dans le liquide seminal
- Ces résultats donnent des indications sur la fonction testiculaire et l'intégrité du tractus génital masculin.

L'analyse du sperme comprend :

- l'analyse des spermatozoïdes
 - nombre, viabilité, mobilité, morphologie
- l'analyse immunologique
 - détection d'anticorps anti-spermatozoïdes
- l'analyse du liquide séminal
 - marqueurs biochimiques des sécrétions des glandes annexes
- le test de préparation de sperme
 - purification et sélection des spermatozoïdes suivant leur densité et/ou leur mobilité – évaluation du rendement

Le spermogramme est subdivisé en :

- Analyse macroscopique
volume, pH, temps de liquéfaction
- Analyse microscopique
concentration, mobilité and viabilité
- Analyse immunologique
Détection d'anticorps IgG et IgA anti-spermatozoïdes
- Analyse bacteriologique
Detection d' infection, en plus de colonisation
- Evaluation de la morphologie des spermatozoïdes
examen détaillé de la morphologie de 100 à 200 spermatozoïdes
- Analyse biochimique du plasma seminal
marqueurs des glandes annexes du système reproducteur

WHO laboratory manual for the examination of human semen and sperm–cervical mucus interaction

FOURTH EDITION



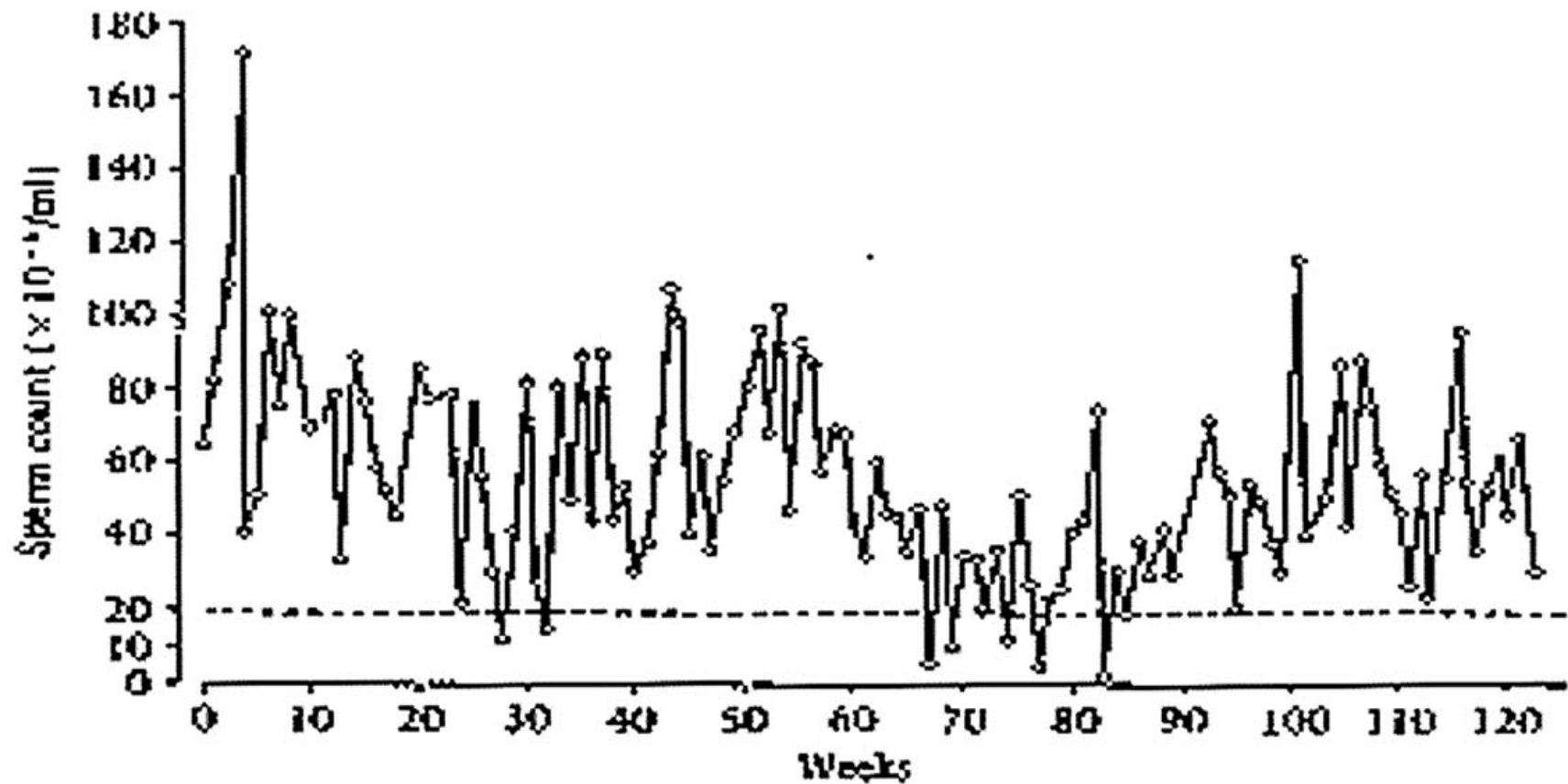
WORLD HEALTH ORGANIZATION

Reference values of semen variables^a

- Each laboratory should determine its own reference range for each variable.
- Reference semen from men who have achieved a pregnancy within 12 months
- About 1000 reference samples needed.
- These references ranges have not been established
- The reference ranges given are based on data from healthy fertile men
- These values are not the minimum semen values needed for conception
- Men with semen variables lower than those indicated may be fertile.

• ^aWHO manual, 4th edition, 1999.

Variability in sperm count



- Certains paramètres mesurés dans le sperme sont bien établis et leurs valeurs de référence sont restées stables dans le temps, comme :
 - volume
 - pH
 - concentration minimale de spermatozoïdes et nombre minimum absolu par éjaculat
 - mobilité minimale
 - tolérance maximale de la concentration de leukocytes
- Par contre, le pourcentage minimum de spermatozoïdes avec une **morphologie normale** a varié considérablement dans le temps, ainsi que la définition de la morphologie normale.

Reference values of semen variables^a

Volume	2.0 ml or more
pH	7.2 or more
Sperm concentration	20x10 ⁶ spermatozoa/ml or more
Total sperm count	40x10 ⁶ spermatozoa or more
Motility	50% or more motile (grade a+b) or 25% or more with progressive motility (grade a) within 60 min after collection.
Morphology	*
Vitality	75% or more live
White blood cells	Fewer than 1x10 ⁶ /ml
Immunobead test	Fewer than 50% spermatozoa with adherent particles
MAR test	Fewer than 50% spermatozoa with adherent particles

—
^aWHO manual, 4th edition, 1999.

* Data from ART programmes suggest that, as sperm morphology falls below 15% normal forms, using the methods and definitions described in this manual, the fertilization rate in vitro decreases.

Reference values of semen variables^b (2)

Seminal plasma biochemical analysis

Epididymal markers

α -glucosidase (neutral)	20 mU or more per ejaculate
Carnitine	0.8-2.9 μ mole per ejaculate

Prostate markers

Zinc (total)	2.4 μ mole or more per ejaculate
Citric acid (total)	52 μ mole or more per ejaculate
Acid phosphatase (total)	200 U or more per ejaculate

Seminal vesicle marker

Fructose (total)	13 μ mole or more per ejaculate
------------------	-------------------------------------

—

^bWHO manual, 3rd edition, 1992

Definitions of semen classifications

- **Normozoospermia** When all the spermatozoal parameters are normal together with normal seminal plasma and WBCs, and there is no agglutination.
- **Oligozoospermia** When sperm concentration is < 20 million/ml.
- **Asthenozoospermia** Fewer than 50% spermatozoa with forward progression (categories (a) and (b) or fewer than 25% spermatozoa with category (a) movement).
- **Teratozoospermia** spermatozoa with decreased % of normal morphology.
- **Oligoasthenoteratozoospermia - OAT** signifies disturbance of all the three variables zoospermia (combination of only two prefixes may also be used)
- **Azoospermia** No spermatozoa in the ejaculate
- **Aspermia** no ejaculate

CASA

Computer-Assisted Semen Analysis

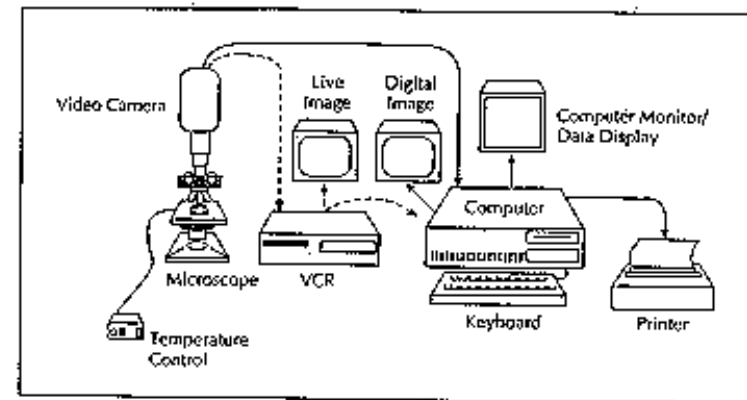


Fig 2.—Schematic diagram of a typical computer-aided sperm analysis system. VCR indicates videocassette recorder (from Boyers et al²³).

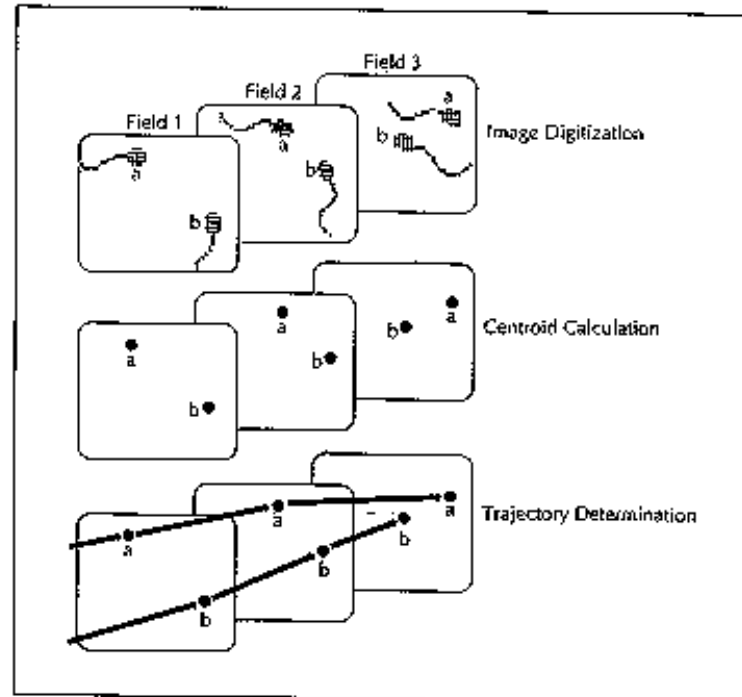
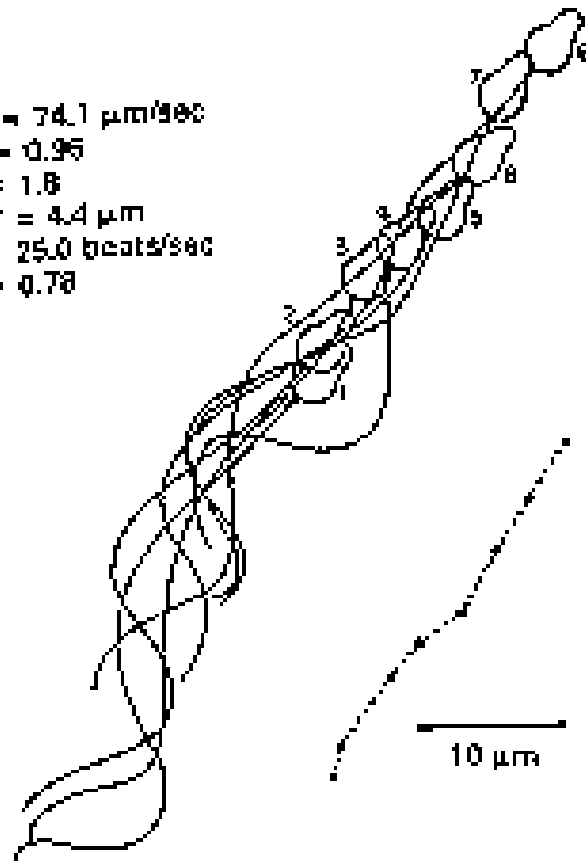


Fig 3.—Process of sperm digitization and calculation of sperm-swimming trajectories. The analog image of sperm cells is digitized in each video frame (top), the complete image of each cell is reduced to a centroid in each video frame (center), and sperm trajectories are computed from the centroids (bottom). a and b indicate two different sperm cells (from Boyers et al²³).

Hyperactivation of human spermatozoa

(a)

VSL = 74.1 $\mu\text{m}/\text{sec}$
LIN = 0.95
Ah = 1.8
AMP = 4.4 μm
 ∂F = 25.0 beats/sec
CR = 0.78



(b)

VSL = 75.3 $\mu\text{m}/\text{sec}$
LIN = 0.42
Ah = 12.3 μm
AMP = 11.3 μm
 ∂F = 17.8 beats/sec
CR = 0.49

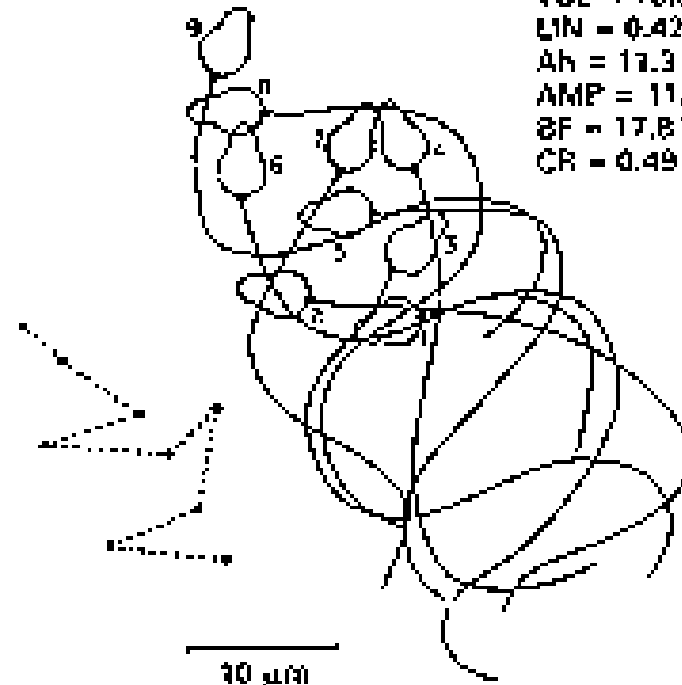


Fig. 3. Movement characteristics (see text for abbreviations) and swimming trajectories of a morphologically normal spermatozoon from a fertile donor at (a) T0 and (b) T6. Consecutive tracings are (a) 0.032 sec or (b) 0.049 sec apart. Points connected by broken lines represent the sequential position of the sperm head.

Morales et al. J.Reprod.Fert. 83:119,1988.

Kobe earthquake and reduced sperm motility

Misao Fukuda^{1,3}, Kiyomi Fukuda¹, Takashi Shimizu², Wakako Yomura² and Seitsu Shimizu²

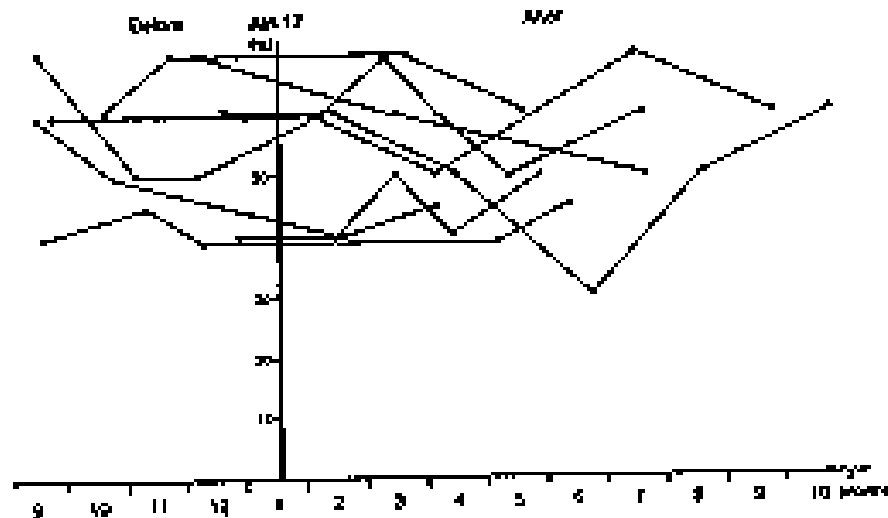


Figure 1. Time course of sperm motility (%) before and after Kobe earthquake (January 17) in eight cases in the area with a magnitude of <4 on the Richter scale.

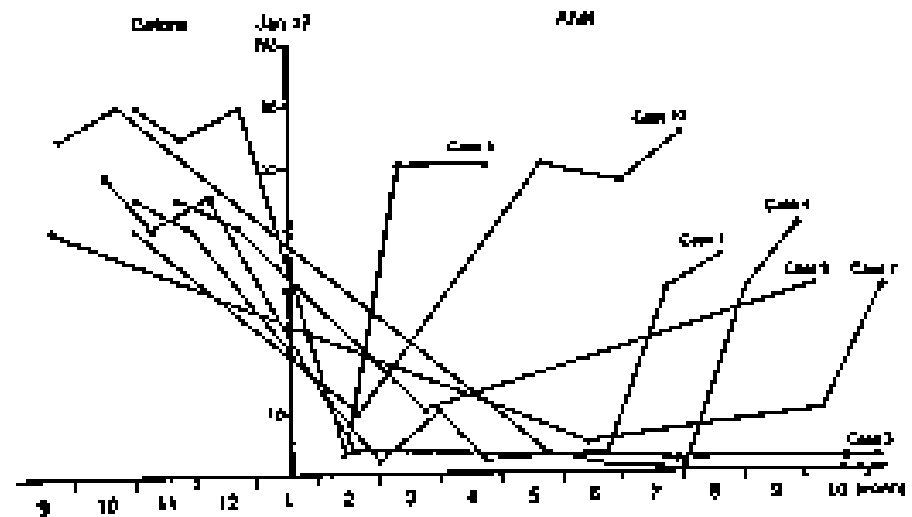


Figure 2. Time course of sperm motility (%) before and after Kobe earthquake (January 17) in seven cases suffering house destruction in the area with a magnitude of >6 on the Richter scale.

BACTERIOLOGIE DU SPERME

La bactériologie du sperme est toujours positive mais il y a rarement des germes pathogènes

Culture et antibiogramme

Culture aerobie

Germes Gram +

Germes Gram -

Germes mélangés

Culture anaerobie

Cultures sur milieux enrichis

Mycoplasma hominis, Ureaplasma urealyticum: seuil de pathogenicité 10^4 CFU/ml

PCR dans l'urine

Chlamydia trachomatis: traitement avec tetracycline, pas de résistance connue

Micro-organismes capables de causer une infection des conduits séminaux

Classical germs	Aerobic, gram -	Aerobic, Gram +	Anaerobic
Chlymydia Trachomatis	E. Coli	Gardnerella Vaginalis	Bacteroides
Nesseria Gonorrheae	Enterobacter	Streptococcus Faecalis	Bifidobacterium
Treponema Vaginalis	Klebsiella	Staphylococcus Aureus	Fusobacterium
Mycoplasma	Proteus	Staphylococcus Epidermidis	Lactobacille
Ureaplasme Urealitique	Pseudomonas	Streptococcus Agalactiae	Peptococcus
Corynebacterium		Streptococcus Saprophyte	Propionibacter
			Peptostreptococcus

Marqueurs biochimiques du liquide séminal

Le volume du sperme est constitué par les sécrétions de la prostate (40%), des testicules et de l'épididyme (10%), et des vésicules séminales (50%).

Des marqueurs biochimiques spécifiques permettent de tester les sécrétions de ces différents compartiments.

Les marqueurs utilisés dans le laboratoire sont :

Vésicules séminales : Fructose

Prostate : Zinc

Epididyme : Carnitine

Concerne



Au personnel de Consultation
ambulatoire(URO) (HC)
Tél. : 27955
Pneu : 7601

Episode : 40.11578739

Prescription : B.100112.3003

Prescripteur : RENARD Julien (HUG)

Bilan pré-vasectomie

Prélèvement n° 2728317 : sperme, 12/01/10 07:30

Analyse	Valeur	Unité	Réf./Seuil	Interprétation / Commentaire
Spermocytogramme simple				
(700) Récolte du sperme				
(100) Spm-temps d'abstinence	5	j	3 - 5	
(100) Spm-mode de récolte	MASTURBATION			
(100) Spm-intégrité incomplète (perte)	FIN			
(100) Spm-intégrité	INCOMPLET			
(100) Spm-heure de récolte	07:30	h		
(100) Spm-durée du transport	40	min		
(700) Description				
(100) Spm-volume	2.3	ml	> 1.9	
(100) Spm-temps de liquéfaction spontanée	80	min		
(100) Spm-couleur	NORMAL			
(100) Spm-odeur	NORMAL			
(100) Spm-consistance	NORMAL			
(100) Spm-pH	7.0		7.2 - 8.0	
(700) Examen microscopique				
(100) Spm-pseudo-agglutinations	RARES			
(100) Spm-bactéries	QUELQUES			
(100) Spm-érythrocytes	RARES			
(100) Spm-leucocytes	RARES			
(100) Spm-cellules de la spermatogenèse	RARES			
(700) Numération des spermatozoïdes				
(100) Spm-concentration	151.0	G/l	> 19.0	
(100) Spm-nombre total des spermatozoïdes	347.3	M/éjac	> 39.0	
(100) Spm-spermatozoïdes morphologie normale	72.9	M/éjac		
(100) Spm-spermatozoïdes mobiles	187.5	M/éjac		
(700) Viabilité				
(100) Spm-viabilité	60	%	> 49	

Prélèvement n° 2728317 : sperme, 12/01/10 07:30

Analyse	Valeur	Unité	Réf./Seuil	Interprétation / Commentaire
(na) Mobilité temps 1				
(ra) Spm-délai mobilité temps 1	90	min		
(ra) Spm-mobilité totale temps 1	58	%		
(ra) Spm-progression linéaire rapide temps 1	42	%		
(ra) Spm-progression non linéaire ou lente temps 1	12	%		
(ra) Spm-mobilité non progressive temps 1	4	%		
(ra) Spm-immobiles temps 1	42	%		
(ra) Mobilité temps 2				
(ra) Spm-délai mobilité temps 2	56	min		
(ra) Spm-mobilité totale temps 2	56	%		
(ra) Spm-progression linéaire rapide temps 2	34	%		
(ra) Spm-progression non linéaire ou lente temps 2	17	%		
(ra) Spm-mobilité non progressive temps 2	5	%		
(ra) Spm-immobiles temps 2	44	%		
(na) Morphologie des spermatozoïdes				
(ra) Spm-forme normale	21	%	> 29	
(na) Morphologie tête anormale				
(ra) Spm-total tête anormale	79	%		
(ra) Spm-macrocéphale	1	%		
(ra) Spm-allongée	1	%		
(ra) Spm-irrégulière	74	%		
(ra) Spm-acéphale	2	%		
(ra) Spm-vacuolée	1	%		
(na) Morphologie pièce anormale				
(ra) Spm-total pièce anormale	9	%		
(ra) Spm-reste cytoplasmique	1	%		
(ra) Spm-angulation	8	%		
(na) Morphologie flagelle anormal				
(ra) Spm-total flagelle anormal	6	%		
(ra) Spm-court	1	%		
(ra) Spm-enroulé	5	%		
(na) Cellules rondes				
(ra) Spm-total cellules rondes	1.5	G/l		
(ra) Spm-spermatides	1.5	G/l		
(na) Cellules non rondes				
(ra) Spm-total cellules non rondes	1.5	G/l		
(ra) Spm-spermatozoïdes immatures	1.5	G/l		
Anticorps anti-spermatozoïdes				
(na) Spz, anticorps anti-IgG				
(ra) Spm-IgG	NEGATIF			
(ra) Spm-spz mobiles sans anticorps	54	%		
(ra) Spm-mobilité avec anticorps IgG	50	%		

Prélèvement n° 2728317 : sperme, 12/01/10 07:30

Analyse	Valeur	Unité	Réf./Seuil	Interprétation / Commentaire
(na) Spm-agglutinés Ac anti IgG	0	%		
Biochimie				
(na) Sem-fructose	→ 9.20	μmol/éjac	25.00 - 104.00	
(na) Sem-zinc	14.44	μmol/éjac	4.00 - 14.00	
(na) Sem-carnitine	1.87	μmol/éjac	0.80 - 2.85	

Conclusions

Tératospermie.

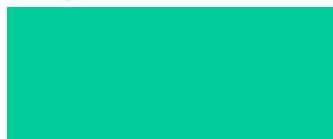
Recherche chlamydia:urines/PCR

Biochimie: Résultat fructose très abaissé (contrôlé) ←

Bilan pré-vasectomie

- Actuellement, on a renoncé à une valeur limite pour le pourcentage de spermatozoïdes de morphologie normale.
- Ceci tient compte du caractère progressif des altérations de fécondité liées à la morphologie.

Concerne



Au personnel de Unité de soins infirmiers
gynécologie (HC)
Tél : 24191
Pneu : 3426

Epliside : 54.11678410

Prescription : B.100406.3002

Prescripteur : IBECHEOLE Victoria (HUG)
Hôpitaux Universitaires de Genève rue Gabrielle-Perret-Gentil, 4 CH-1211 Genève 14

Prélèvement n° 3084873 : sperme, 06/04/10 08:10

Analyse	Valeur	Unité	Réf./Seuil	Interprétation / Commentaire
<i>Spermocytogramme simple</i>				
<i>(*) Récolte du sperme</i>				
(*) Spm-temps d'abstinence	3	j	3 - 5	
(*) Spm-mode de récolte	MASTURBATION			
(*) Spm-intégrité	COMPLET			
(*) Spm-heure de récolte	08:10	h		
(*) Spm-durée du transport	20	min		
<i>(*) Description</i>				
(*) Spm-volume	5.5	ml	> 1.9	
(*) Spm-temps de liquéfaction spontanée	90	min		
(*) Spm-couleur	NORMAL			
(*) Spm-odeur	NORMAL			
(*) Spm-consistance	NORMAL			
(*) Spm-pH	7.5		7.2 - 8.0	
<i>(*) Examen microscopique</i>				
(*) Spm-bactéries	QUELQUES			
(*) Spm-érythrocytes	TRES RARE			
(*) Spm-leucocytes	TRES RARE			
(*) Spm-cellules de la spermatogenèse	QUELQUES			
<i>(*) Numération des spermatozoïdes</i>				
(*) Spm-concentration	12.0	G/l	> 19.0	
(*) Spm-nombre total des spermatozoïdes	66.0	M/éjac	> 39.0	
(*) Spm-spermatozoïdes morphologie normale	0.0	M/éjac		
(*) Spm-spermatozoïdes mobiles	19.1	M/éjac		
<i>(*) Viabilité</i>				
(*) Spm-viabilité	51	%	> 49	
<i>(*) Mobilité temps 1</i>				
(*) Spm-délai mobilité temps 1	90	min		
(*) Spm-mobilité totale temps 1	34	%		

Analyse	Valeur	Unité	Réf./Seuil	Interprétation / Commentaire
(10A) Spm-progression linéaire rapide temps 1	5	%		
(10A) Spm-progression non linéaire ou lente temps 1	24	%		
(10A) Spm-mobilité non progressive temps 1	5	%		
(10A) Spm-immobiles temps 1	66	%		
(10A) Mobilité temps 2				
(10A) Spm-délai mobilité temps 2	180	min		
(10A) Spm-mobilité totale temps 2	30	%		
(10A) Spm-progression linéaire rapide temps 2	3	%		
(10A) Spm-progression non linéaire ou lente temps 2	16	%		
(10A) Spm-mobilité non progressive temps 2	11	%		
(10A) Spm-immobiles temps 2	70	%		
(10A) Morphologie des spermatozoïdes				
(10A) Spm-forme normale	0	%		L'examen de l'acrosome est effectué.
(10A) Morphologie tête anormale				
(10A) Spm-total tête anormale	100	%		L'examen de l'acrosome est effectué.
(10A) Spm-irrégulière	77	%		
(10A) Spm-acéphale	23	%		
(10A) Morphologie pièce anormale				
(10A) Spm-total pièce anormale	3	%		
(10A) Spm-reste cytoplasmique	1	%		
(10A) Spm-angulation	2	%		
(10A) Morphologie flagelle anormal				
(10A) Spm-total flagelle anormal	12	%		
(10A) Spm-anormal	12	%		
(10A) Examen de l'acrosome				
(10A) Spm-population évaluée	32	%		
(10A) Spm-acrosome normal	6	%		
(10A) Spm-acrosome anormal	94	%		
(10A) Cellules rondes				
(10A) Spm-total cellules rondes	0.2	G/l		
(10A) Spm-spermatides	0.1	G/l		
(10A) Spm-leucocytes	0.1	G/l	< 1.0	
Anticorps anti-spermatozoïdes				
(10A) Spz, anticorps anti-IgG				
(10A) Spm-IgG	NEGATIF			
(10A) Spm-spz mobiles sans anticorps	29	%		
(10A) Spm-mobilité avec anticorps IgG	19	%		
(10A) Spm-agglutinés Ac anti IgG	3	%		
Biochimie				
(10A) Sem-fructose	157.85	μmol/éjac	25.00 - 104.00	
(10A) Sem-zinc	16.06	μmol/éjac	4.00 - 14.00	
(10A) Sem-carnitine	1.16	μmol/éjac	0.80 - 2.85	

Analyse	Valeur	Unité	Réf./Seuil	Interprétation / Commentaire
Test de migration (TPS)				
(/14) Généralités (TPS)				
(/14) Spm-volume (TPS)	5.5	ml	> 1.9	
(/14) Spm-concentration (TPS)	12.0	G/l	> 19.0	
(/14) Spm-viabilité (TPS)	51	%	> 49	
(/14) Spm-morphologie normale (TPS)	0	%		
(/14) Spm-pH (TPS)	7.5		7.2 - 8.0	
(/14) Mobilité initiale (TPS)				
(/14) Spm-progression linéaire rapide (TPS)	5	%		
(/14) Spm-progression non linéaire ou lente (TPS)	24	%		
(/14) Spm-mobilité non progressive (TPS)	5	%		
(/14) Spm-immobiles (TPS)	66	%		
(/14) Mobilité après sélection 0 heure (TPS)				
(/14) Spm-progression linéaire (après sélection 0 heure) (TPS)	24	%		
(/14) Spm-progression non linéaire ou lente (après sélection 0 heure) (TPS)	5	%		
(/14) Spm-mobilité non progressive (après sélection 0 heure) (TPS)	0	%		
(/14) Spm-immobiles (après sélection 0 heure) (TPS)	71	%		
(/14) Généralités (après sélection) (TPS)				
(/14) Spm-technique utilisée (TPS)	SpermFilter			
(/14) Spm-milieu utilisé (TPS)	Bm1			
(/14) Spm-volume (après sélection) (TPS)	0.3	ml		
(/14) Spm-concentration (après sélection) (TPS)	2.0	G/l		
(/14) Spm-nb de spermatozoïdes mobiles sélectionnés (TPS)	1.74E5			
(/14) Survie à 0 heure				
(/14) Spm-progression linéaire rapide 0h	24	%		
(/14) Spm-progression non linéaire ou lente 0h	5	%		
(/14) Spm-mobilité non progressive 0h	0	%		
(/14) Spm-immobiles 0h	71	%		
(/14) Survie à 3 heures				
(/14) Spm-progression linéaire rapide 3h	10	%		
(/14) Spm-progression non linéaire ou lente 3h	12	%		
(/14) Spm-mobilité non progressive 3h	5	%		
(/14) Spm-immobiles 3h	73	%		
(/14) Survie à 24 heures				
(/14) Spm-progression linéaire rapide 24h	0	%		
(/14) Spm-progression non linéaire ou lente 24h	1	%		
(/14) Spm-mobilité non progressive 24h	7	%		
(/14) Spm-immobiles 24h	92	%		

Prélèvement n° 3084873 : sperme, 06/04/10 08:10

Analyse	Valeur	Unité	Réf./Seuil	Interprétation / Commentaire
---------	--------	-------	------------	------------------------------

Conclusions

Asthénospermie.

Recherche chlamydia:urines/PCR.

TPS: Préparation compatible avec une ICSI.

Morphologie: 0% de formes normales.

Concerne

Au personnel de Unité de soins infirmiers
gynécologie (HC)
Tél : 24191
Pneu : 3426

Epliside : 54.11287731

Prescription : B.090430.3001

Prescripteur : IBECHEOLE Victoria (HUG)

SPERME, FEUILLET N° 1							
Analyse	Unité	Réf./ Seuil	1819764 GYNSIN-CS 30/04/09 08:00 sperme				
Spermocytogramme simple							
Récolte du sperme							
(na) Spm-temps d'abstinence	J	3 - 5	3				
(na) Spm-mode de récolte			MASTURBATION				
(na) Spm-heure de récolte	h		8:00				
(na) Spm-durée du transport	min		18				
Description							
(na) Spm-volume	ml	> 1.9	1.4				
(na) Spm-temps de liquéfaction spontanée	min		60				
(na) Spm-couleur			NORMAL				
(na) Spm-odeur			NORMAL				
(na) Spm-consistance			NORMAL				
(na) Spm-pH		7.2 - 8.0	7.7				
Examen microscopique							
(na) Spm-bactéries			QUELQUES				
(na) Spm-érythrocytes			TRES RARE				
(na) Spm-leucocytes			TRES RARE				
(na) Spm-cellules de la spermatogenèse			NOMBREUX				
Numération des spermatozoïdes							
(na) Spm-concentration	G/l	> 19.0	98.0				
(na) Spm-nombre total des spermatozoïdes	M/éjac	> 39.0	137.2				
(na) Spm-spermatozoïdes morphologie normale	M/éjac		4.1				
(na) Spm-spermatozoïdes mobiles	M/éjac		86.4				
Viabilité							
(na) Spm-viabilité	%	> 49	68				

(na) analyse non accréditée

Ce rapport est signé électroniquement ou de façon manuscrite. Le matériel d'analyse, la méthode utilisée et la sous-traitance éventuelle sont indiqués dans le répertoire des prestations d'analyses (RPA). Les résultats ne correspondent qu'aux objets présents à l'essai et sont donc fournis dans la limite des échantillons reçus au laboratoire. Ce rapport ne peut être reproduit, sinon en entier, sans autorisation écrite du laboratoire. Ce rapport est le seul exemplaire qui reflète la mise à jour des résultats disponibles au laboratoire à la date et l'heure indiquées sur le rapport. Les commentaires et/ou conclusions ne font pas partie du domaine accrédité. Ce laboratoire a été accrédité le 09/04/01.

SPERME, FEUILLET N° 1							
Analyse	Unité	Ref./ Seuil	1819764 GYNSIN-CS 30/04/09 08:00 sperme				
Mobilité temps 1							
(na) Spm-délai mobilité temps 1	min		60				
(na) Spm-mobilité totale temps 1	%		66				
(na) Spm-progression linéaire rapide temps 1	%		11				
(na) Spm-progression non linéaire ou lente temps 1	%		52				
(na) Spm-mobilité non progressive temps 1	%		3				
(na) Spm-immobiles temps 1	%		34				
Mobilité temps 2							
(na) Spm-délai mobilité temps 2	min		90				
(na) Spm-mobilité totale temps 2	%		51				
(na) Spm-progression linéaire rapide temps 2	%		18				
(na) Spm-progression non linéaire ou lente temps 2	%		32				
(na) Spm-mobilité non progressive temps 2	%		1				
(na) Spm-immobiles temps 2	%		49				
Mobilité temps 3							
(na) Spm-délai mobilité temps 3	min		180				
(na) Spm-mobilité totale temps 3	%		51				
(na) Spm-progression linéaire rapide temps 3	%		11				
(na) Spm-progression non linéaire ou lente temps 3	%		39				
(na) Spm-mobilité non progressive temps 3	%		1				
(na) Spm-immobiles temps 3	%		49				
Morphologie des spermatozoïdes							
(na) Spm-forme normale	%	> 29	3(a)				
Morphologie tête anormale							
(na) Spm-total tête anormale	%		97				
(na) Spm-irrégulière	%		81				
(na) Spm-acephale	%		16				
Morphologie pièce anormale							
(na) Spm-total pièce anormale	%		1				
(na) Spm-reste cytoplasmique	%		1				
Morphologie flagelle anormal							
(na) Spm-total flagelle anormal	%		4				
(na) Spm-court	%		2				
(na) Spm-enroulé	%		2				

(na) analyse non accréditée

Ce rapport est signé électroniquement ou de façon manuscrite. Le matériel d'analyse, la méthode utilisée et la sous-traitance éventuelle sont indiqués dans le répertoire des prestations d'analyses (RPA). Les résultats ne correspondent qu'aux objets présentés à l'essai et sont donc fournis dans la limite des échantillons reçus au laboratoire. Ce rapport ne peut être reproduit, sinon en entier, sans autorisation écrite du laboratoire. Ce rapport est le seul exemplaire qui reflète la mise à jour des résultats disponibles au laboratoire à la date et l'heure indiquées sur le rapport. Les commentaires et/ou conclusions ne font pas partie du domaine accrédité. Ce laboratoire a été accrédité le 09/04/01.

SPERME, FEUILLET N° 1							
Analyse	Unité	Ref./ Seuil	1819764 GYNSIN-CS 30/04/09 08:00 sperme				
Examen de l'acrosome							
(na) Spm-population évaluée	%		64				
(na) Spm-acrosome normal	%		31				
(na) Spm-acrosome anormal	%		69				
(na) Spm-acrosome absent	%		0				
Cellules rondes							
(na) Spm-total cellules rondes	G/l		1.0				
(na) Spm-spermatides	G/l		1.0				
Cellules non rondes							
(na) Spm-total cellules rondes	G/l		2.9				
(na) Spm-spermatozoïdes immatures	G/l		2.9				
Anticorps anti-spermatozoïdes							
Spz, anticorps anti-IgG							
(na) Spm-IgG			NEGATIF				
(na) Spm-spz mobiles sans anticorps	%		63				
(na) Spm-mobilité avec anticorps IgG	%		60				
(na) Spm-agglutinés Ac anti IgG	%		9				
Biochimie							
Biochimie							
(na) Sem-fructose	µmol/éjac	25.0 - 104.0	18.3				
(na) Sem-zinc	µmol/éjac	4.0 - 14.0	1.4				
(na) Sem-carnitine	µmol/éjac	0.60 - 2.85	0.76				

Interprétations / Commentaires résultats :

- (a) : L'examen de l'acrosome est effectué.

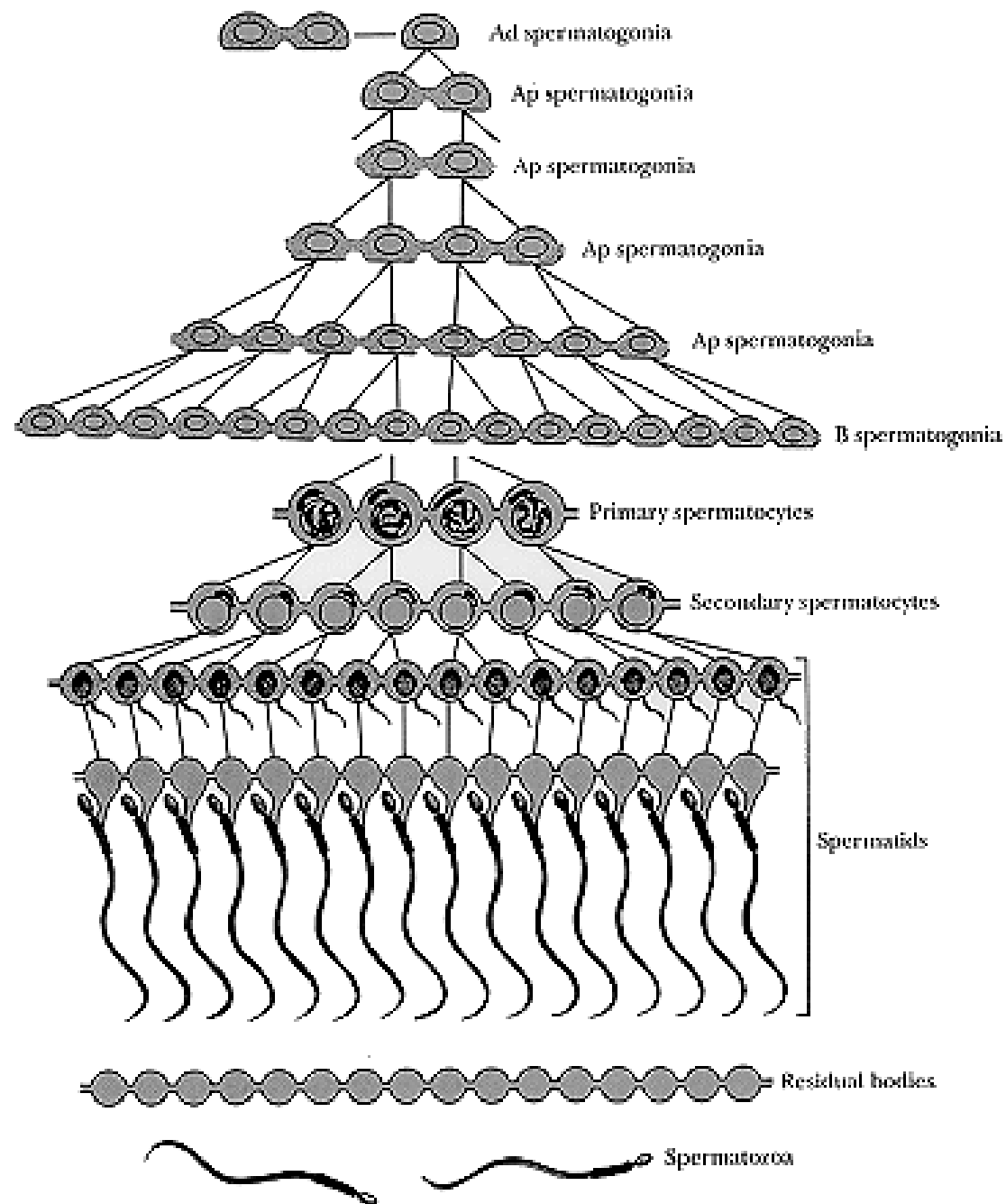
Conclusions

Prescription du : 30/04/2009 n° 3001 - Prélèvement n° : 1819764

Hypospermie

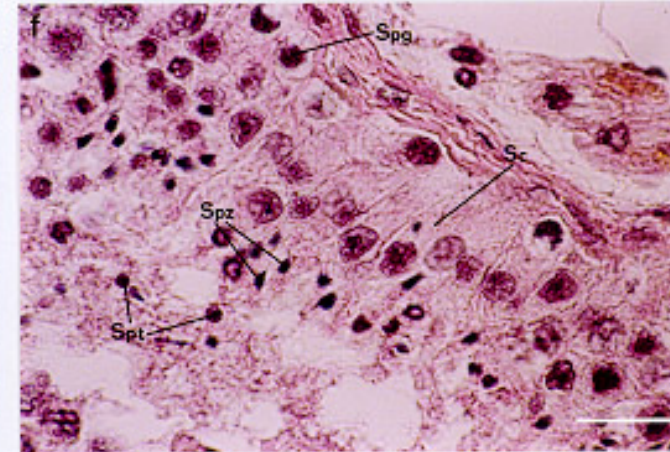
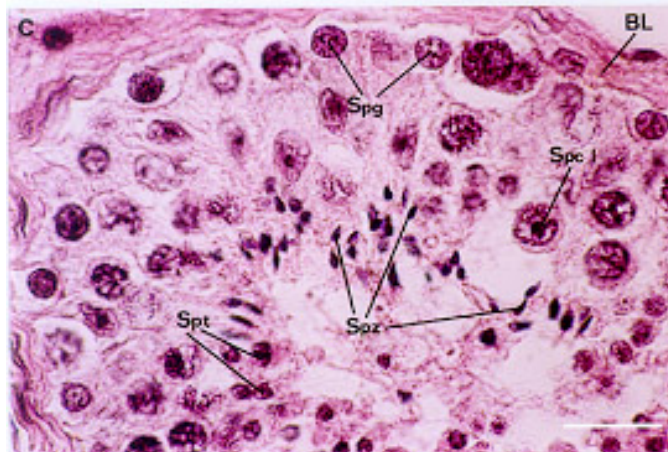
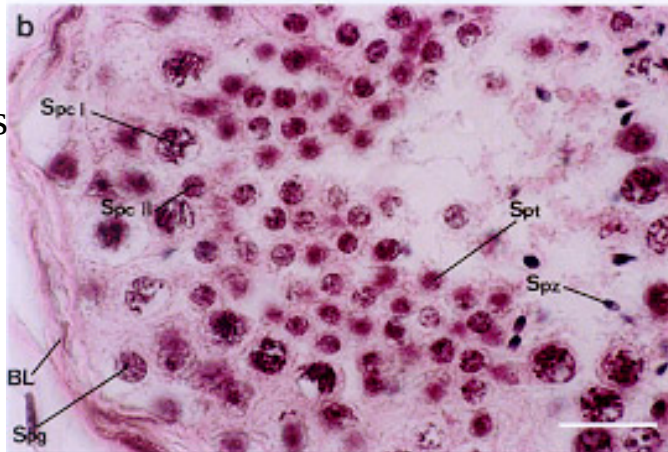
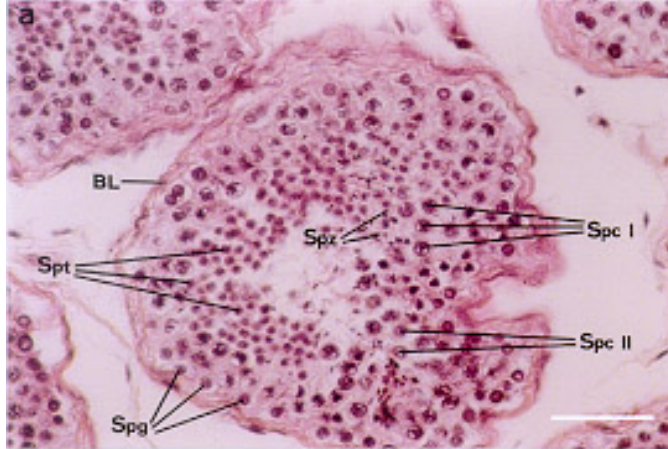
Tératospermie

Recherche chlamydia:urines/PCR

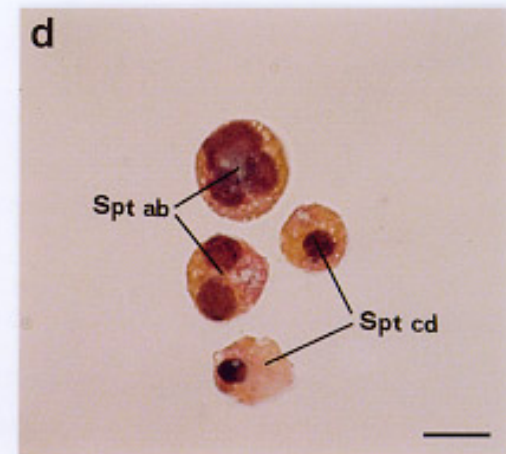
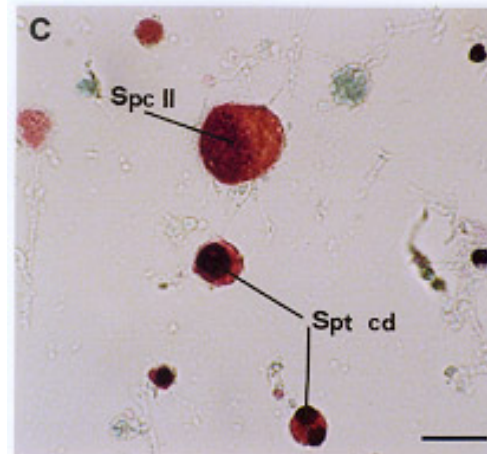
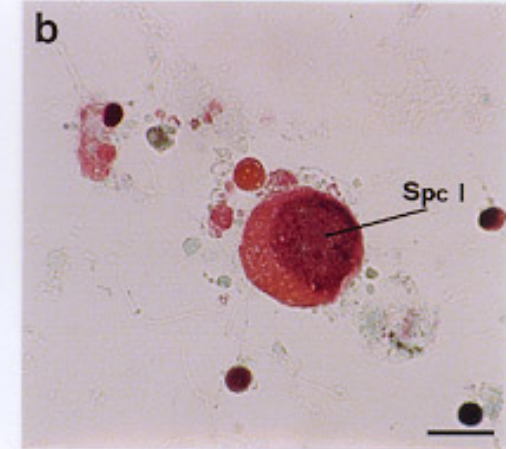
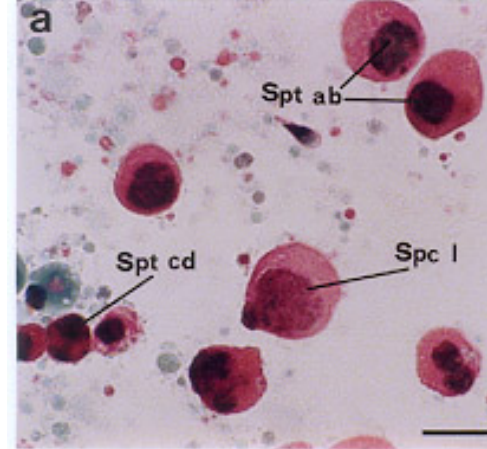


Spermatogénèse dans le testicule humain

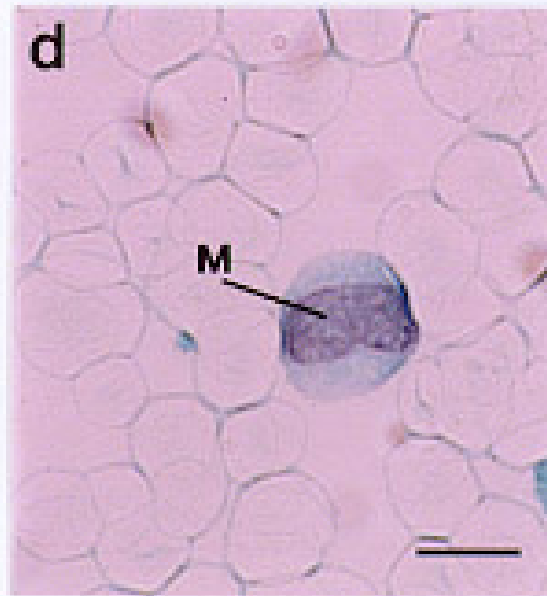
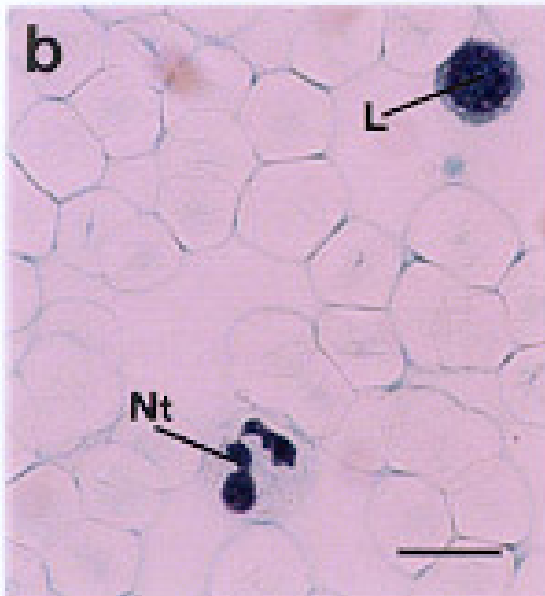
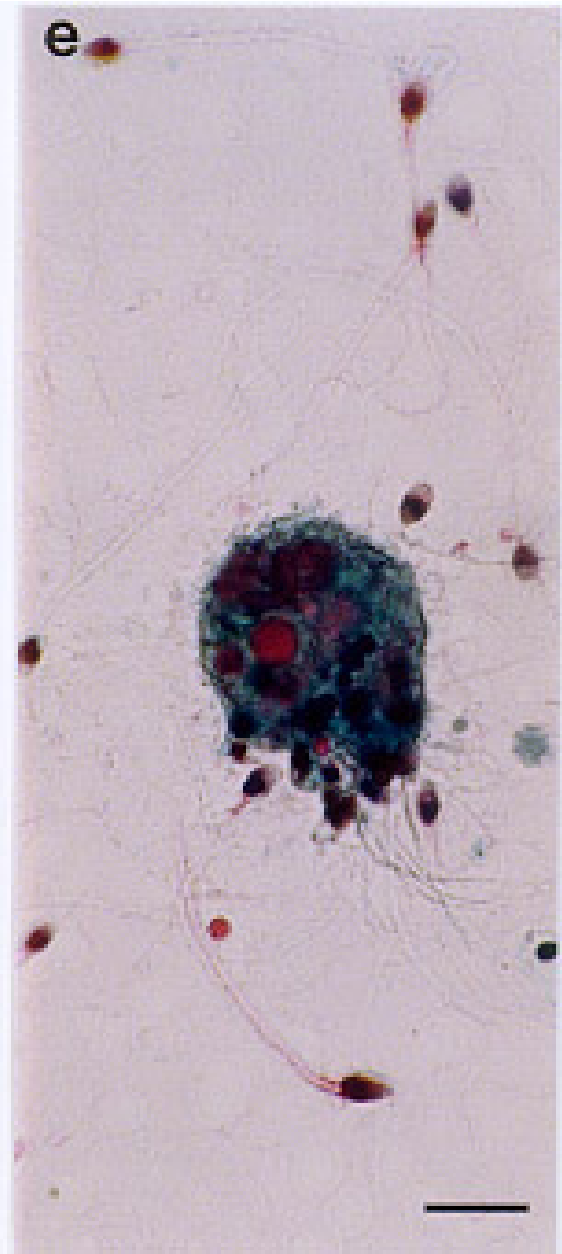
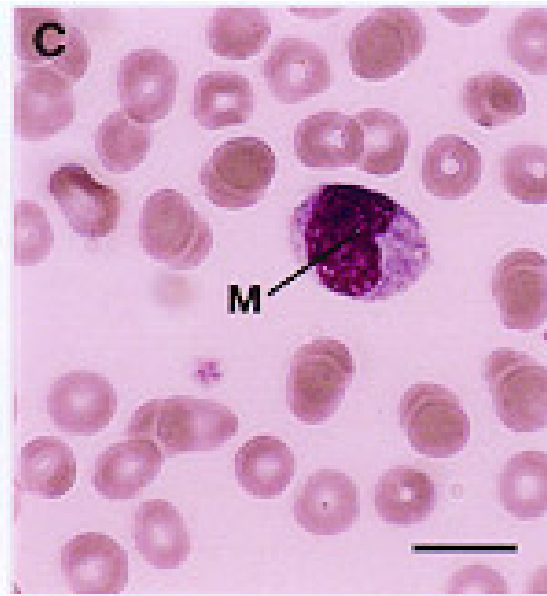
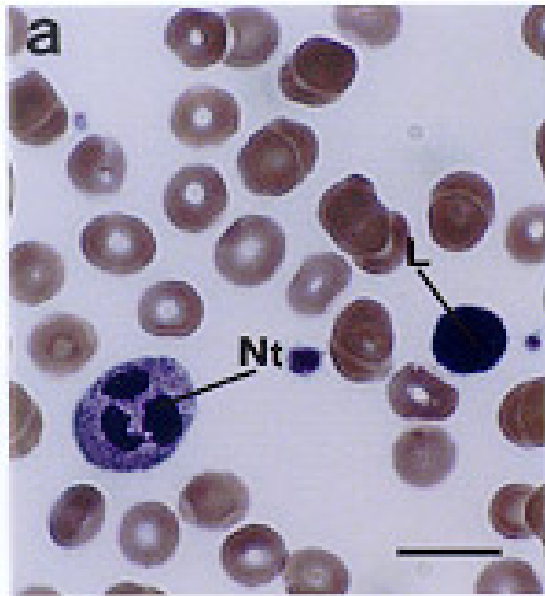
BL : lame basale
Spg : spermatogonies
Spc : spermatocytes
Spt : spermatides
Spz : spermatozoïdes



Immature germ cells in semen
Papanicolaou staining



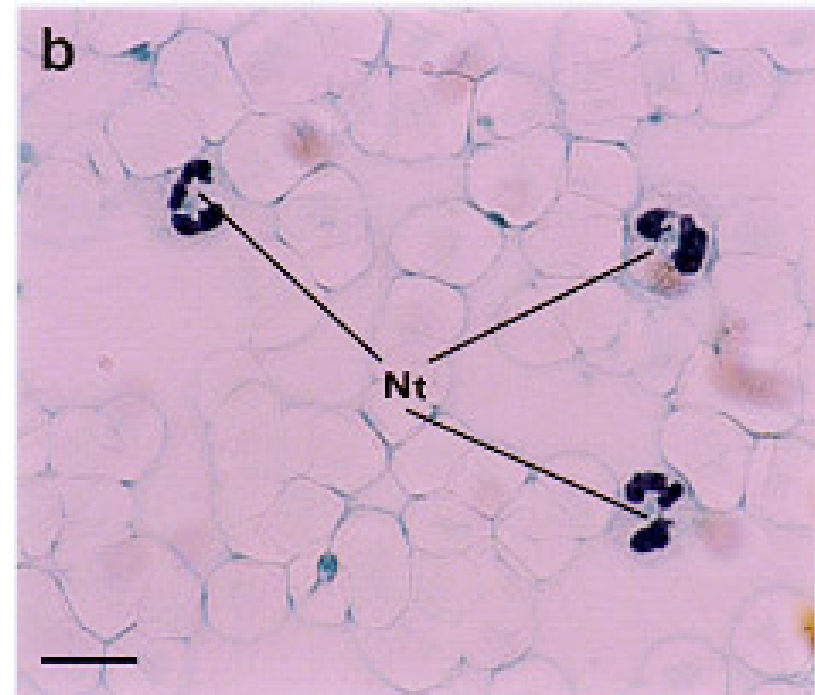
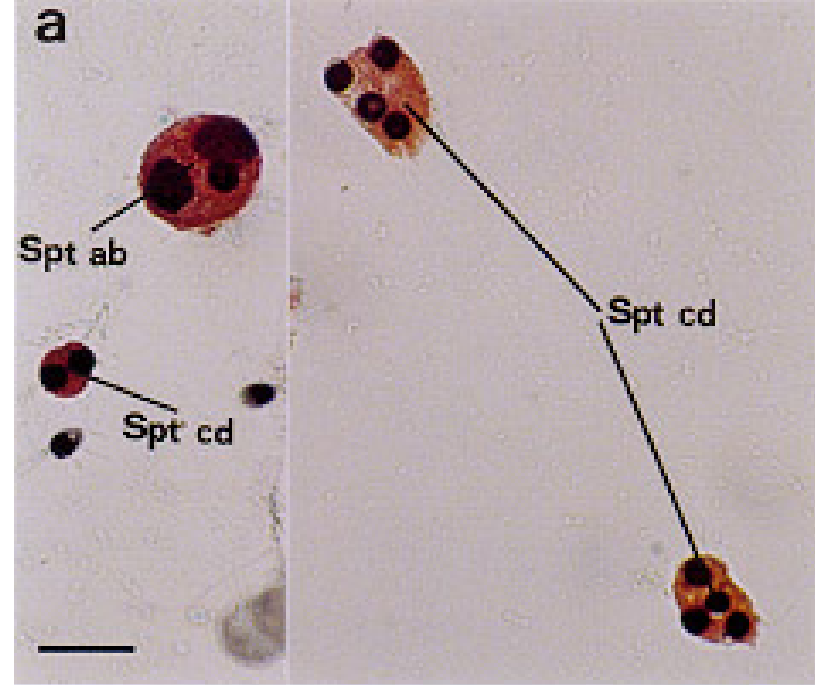
Inflammatory cells in blood and semen



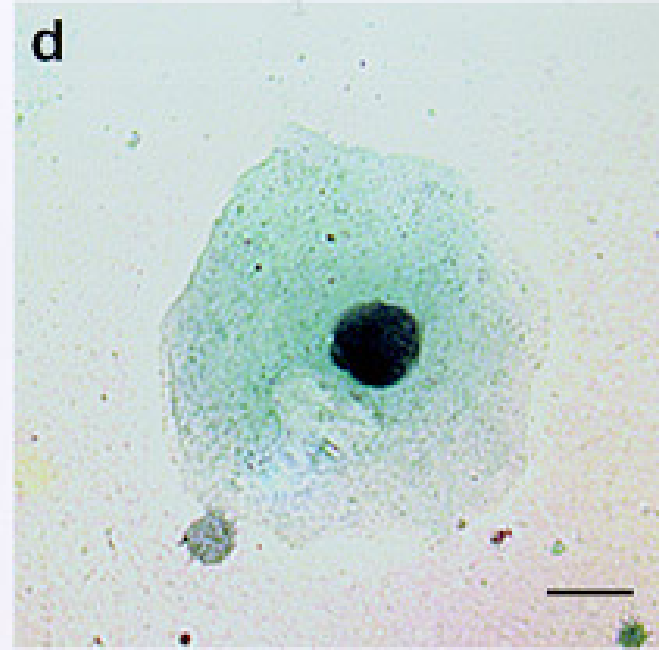
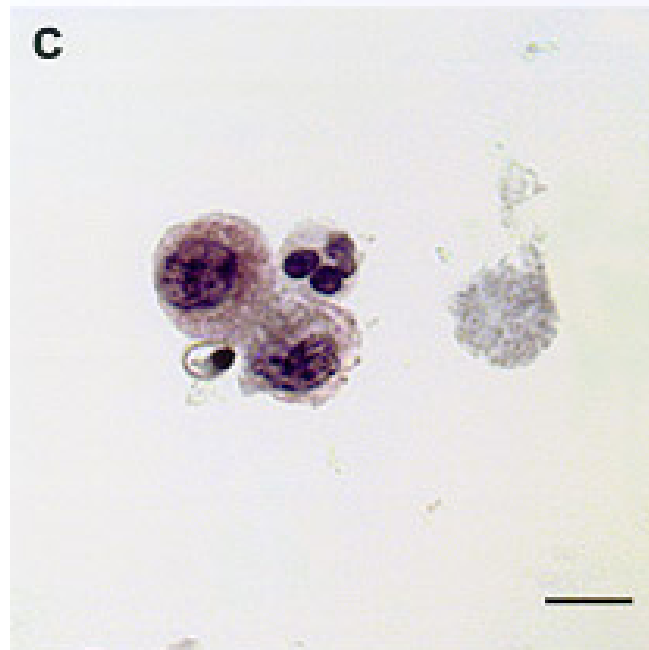
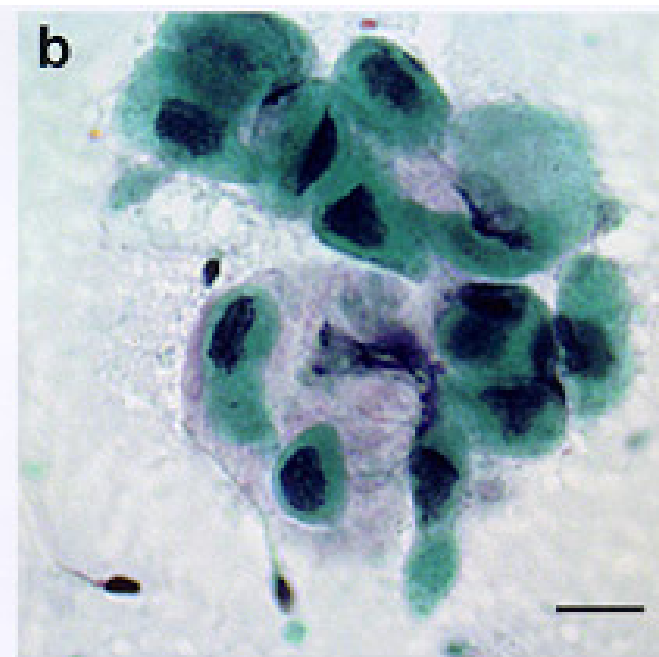
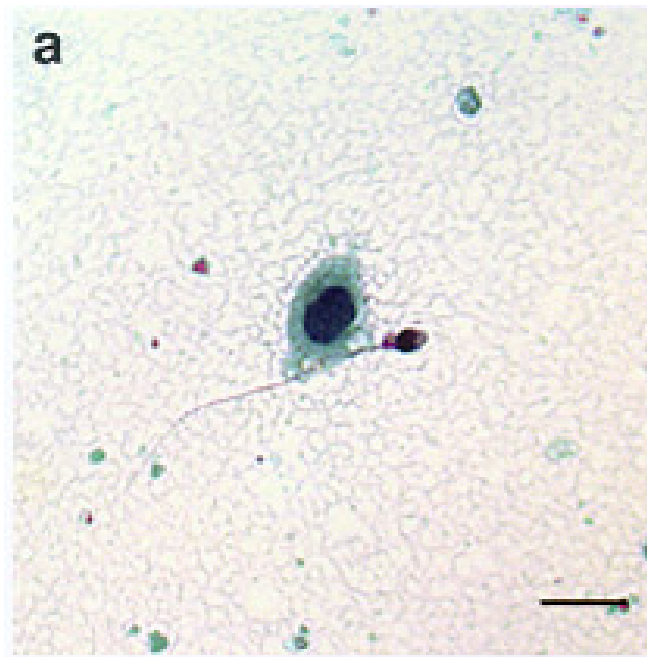
Papanicolaou staining

a) semen

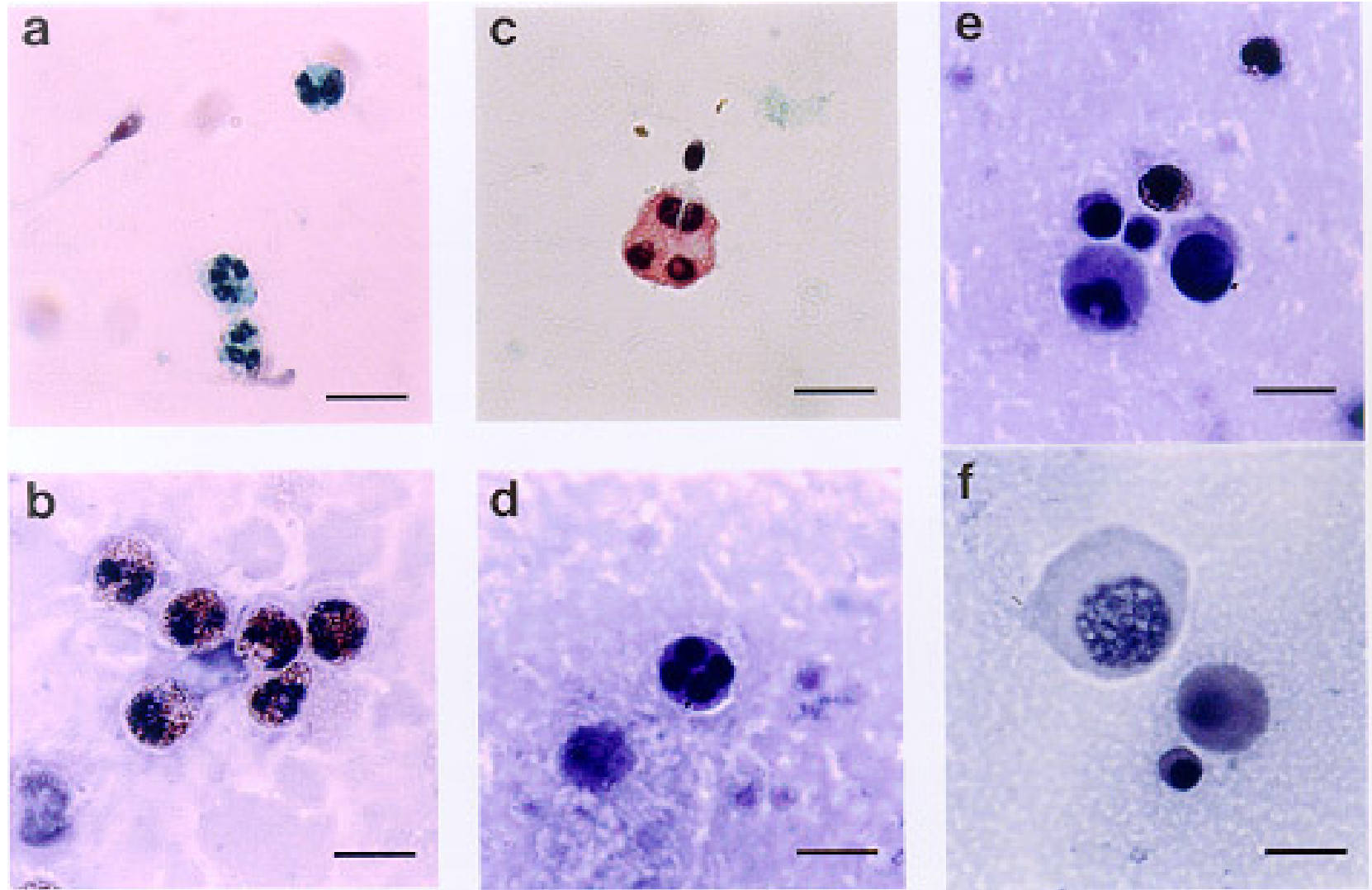
b) blood



Papanicolaou staining
of epithelial cells
from male genital tract



Peroxydase staining distinguishes neutrophils from spermatids in semen



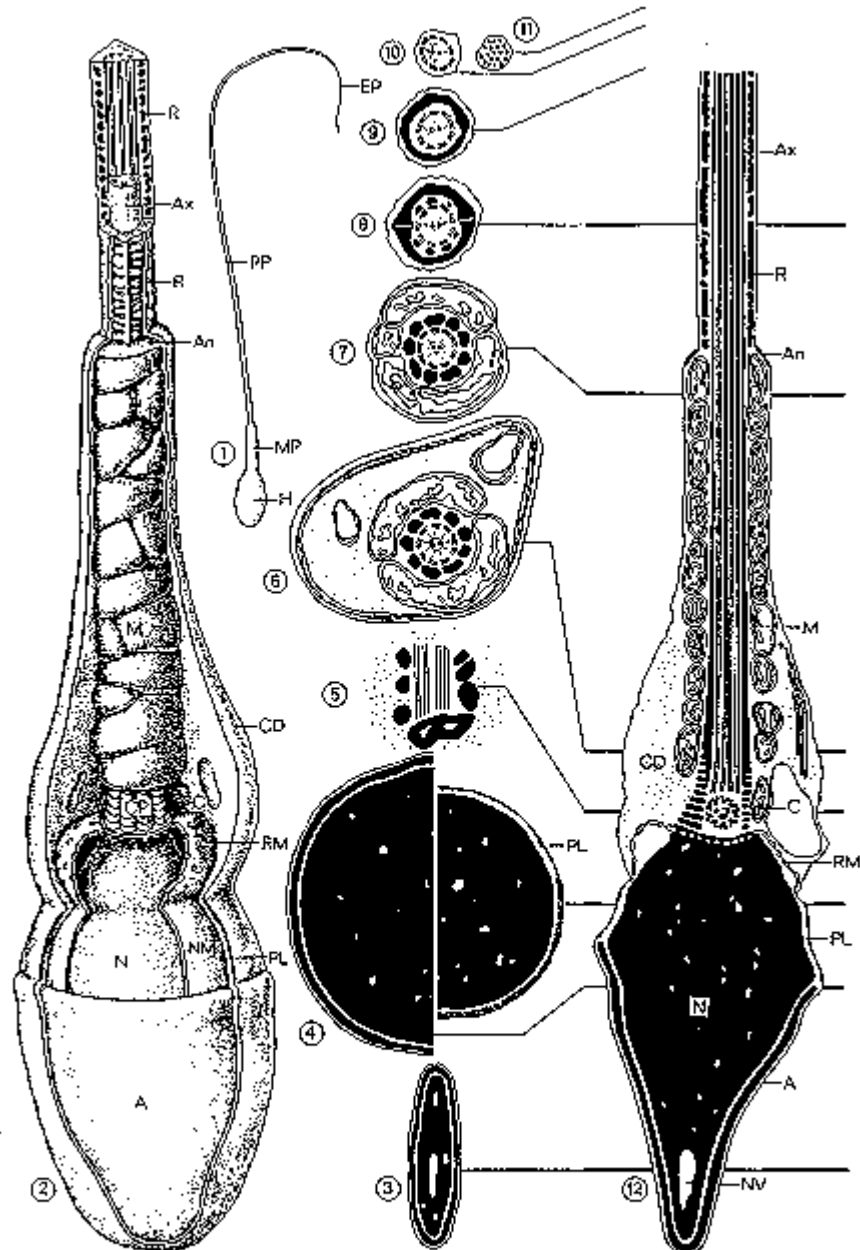


Figure 19.11. Structure of the mature spermatozoon. 1, the relative size of the head (H), midpiece (MP), principal piece (PP) and end piece (EP) is shown. 2, a three-dimensional outway drawing showing the acrosome (A), nuclear envelope and nucleus in the head, the connecting piece (CP) of the neck, the mitochondria (M) in the midpiece, fibrous sheath (F), and axoneme (Ax) of the principal piece. 3 to 11, cross sections at the level indicated on diagram 12. (Courtesy of Dr. E. C. Roosen-Runge.)

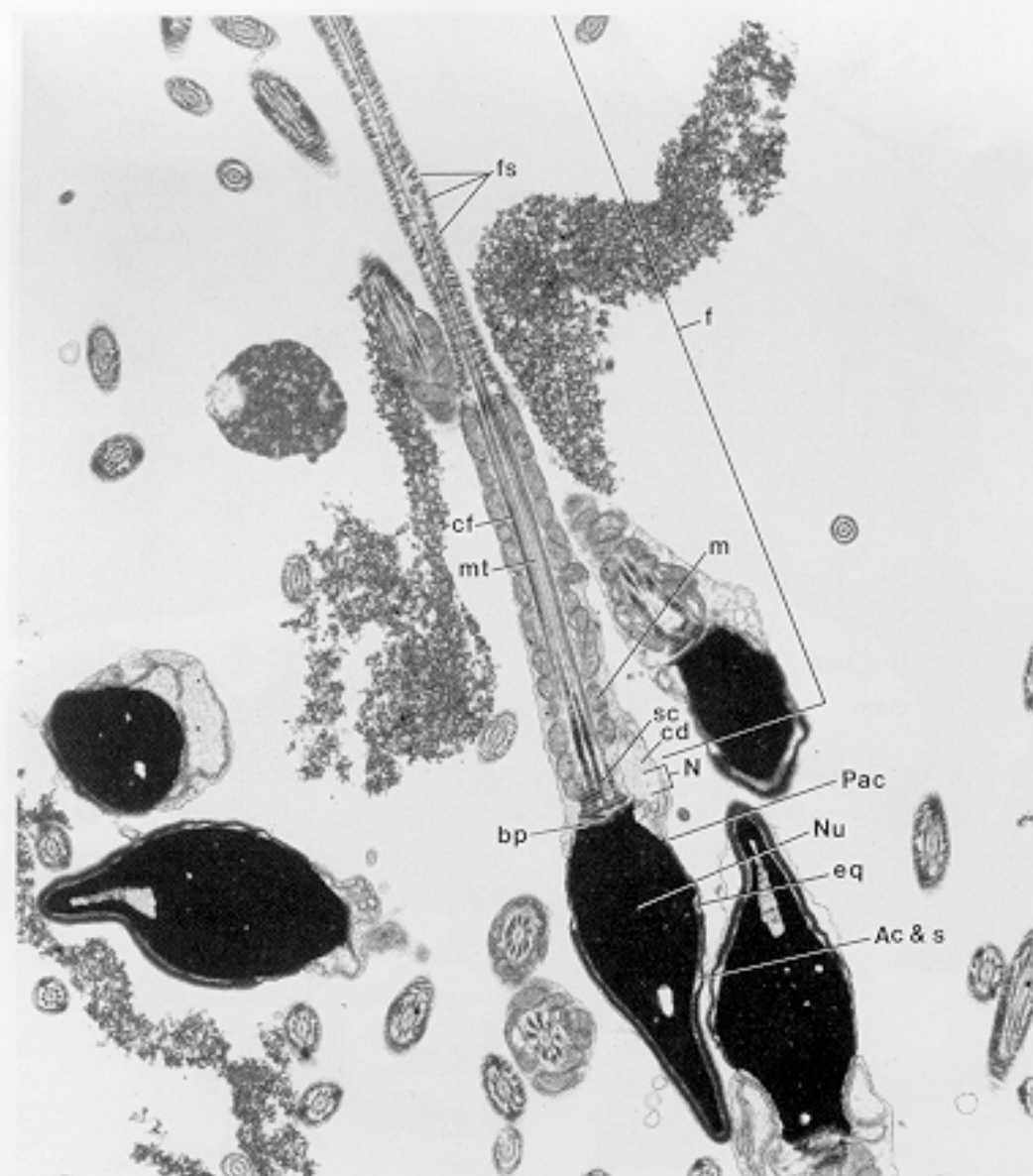


Figure 3.56. Longitudinal section of a normal spermatozoon. Nu = nucleus; Ac = acrosome; eq = equatorial region; Pac = postacrosomal region; cd = cytoplasmic droplet; sc = segmented columns of the proximal centriole; f = flagellum; bp = base plate; s = subacrosomal space; m = mitochondrion; N = neck; mt = microtubules; cf = coarse fibers. (Magnification: 17,400 ×.)

Certains défauts morphologiques peuvent compromettre la capacité de fertilisation des spermatozoïdes

- Les défauts de la pièce intermédiaire et du flagelle interfèrent avec la mobilité
- Un acrosome incomplet ou absent peut empêcher la pénétration de la zone pellucide de l'ovocyte
- Une taille excessive de la tête est un signe de condensation incomplète de l'ADN

Pour beaucoup d'autres anomalies de la tête il est impossible de prédire s'ils ont un impact sur la capacité de fertilisation des spermatozoïdes

Axoneme of cilia and spermatozoa :

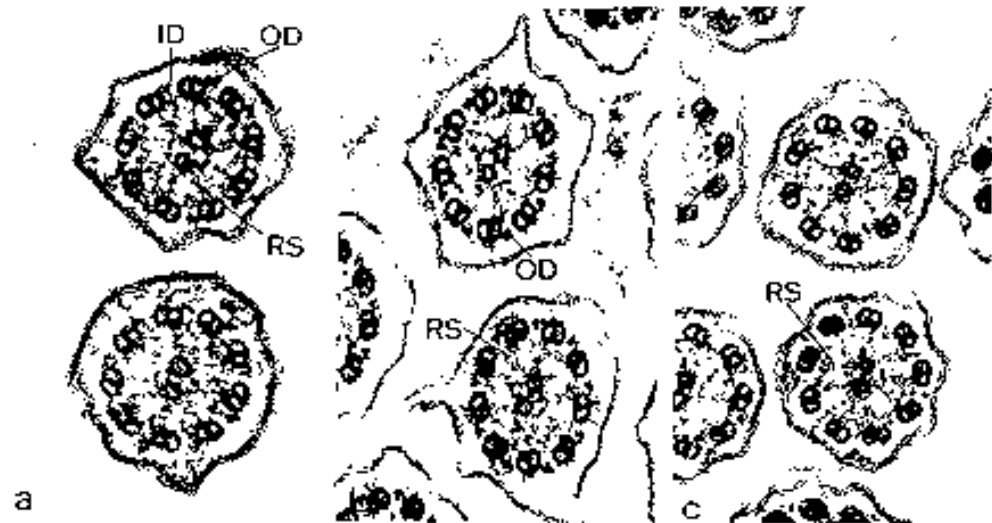
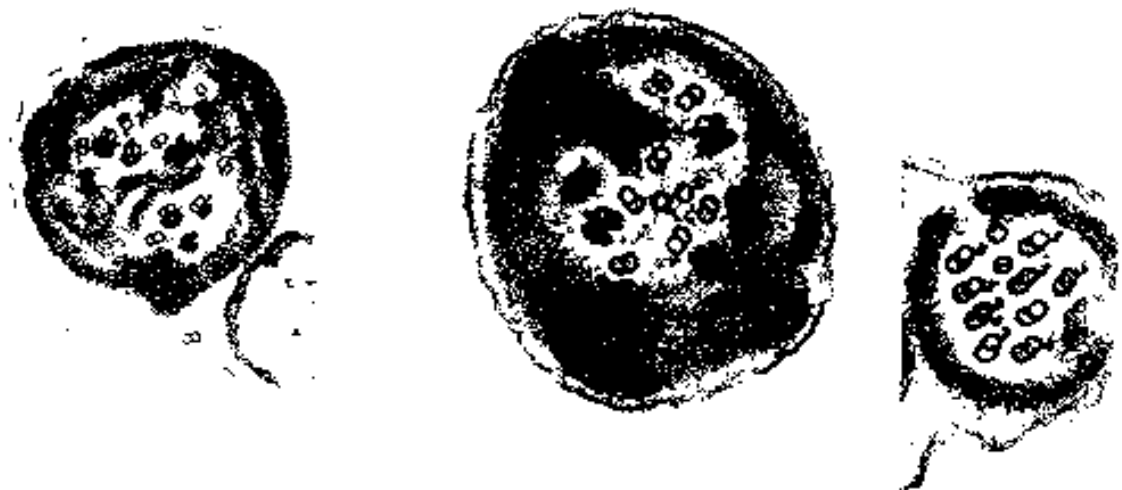


Figure 2 – Electron micrographs of sections through normal and diseased human bronchial cilia. a – Normal pattern with inner (ID) and outer (OD) dynein arms extending from the A-subunit of each of the nine microtubular doublets. b – Inner dynein arms are missing. c – Both inner and outer dynein arms are missing. Biopsy from a person with the immotile cilia syndrome. Note the presence of radial spokes (RS) in all three biopsy specimens. (x 100,000) (Courtesy of Dr. M. Bauf, University of Geneva, Geneva, Switzerland)



Globozoospermia

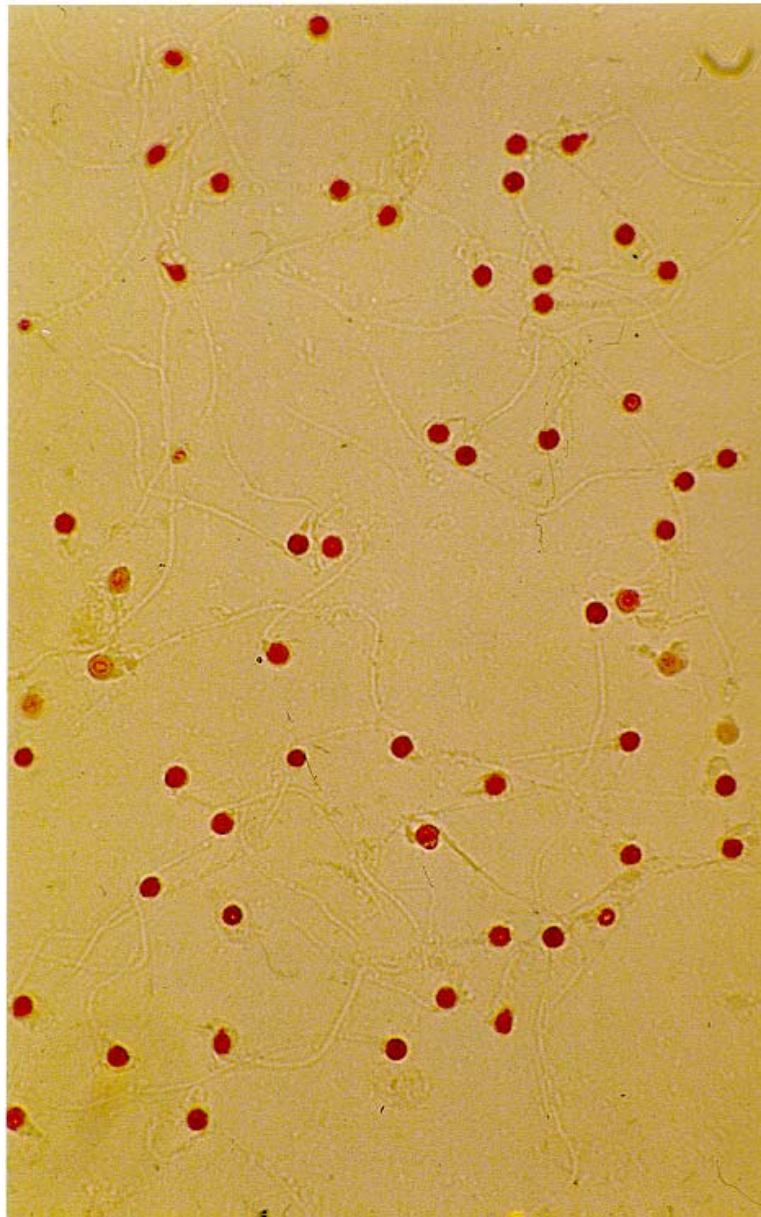
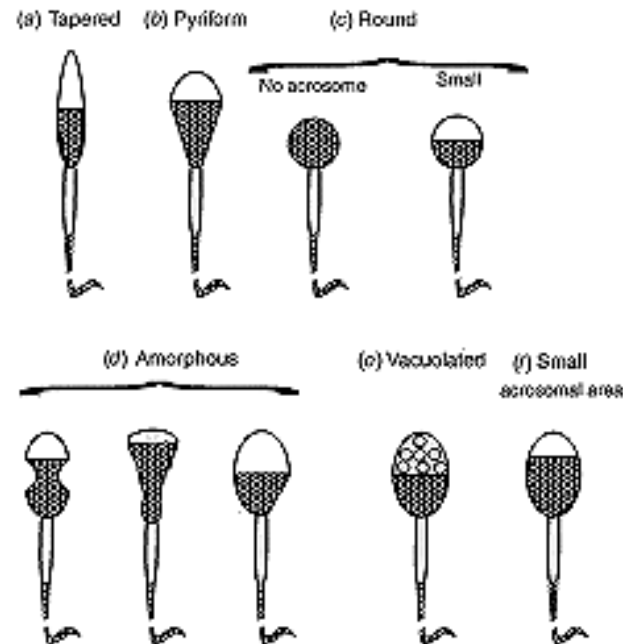


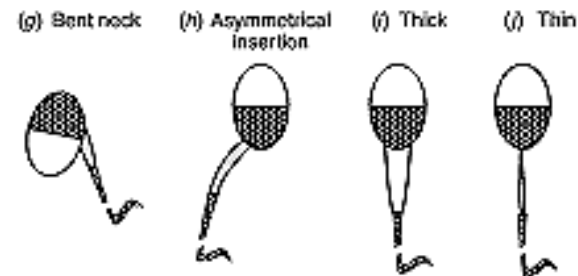
Figure 4.6. Transmission electron microscopy. Spermatozoa have spherically shaped nuclei, completely lacking both acrosome and postacrosomal sheaths.

Spermatozoa morphology, classification according to Tygerberg criteria (Kruger) Ref: WHO manual, 1999.

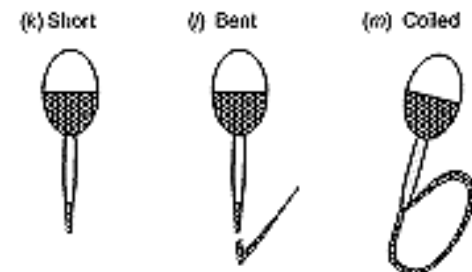
A. Head defects



B. Neck and midpiece defects



C. Tail defects



D. Cytoplasmic droplet



Morphologie des spermatozoïdes humains.

Têtes normales

1. 
2. 
3. 
4. 

Anomalies de la tête

5. Macrocéphale 
6. Microcéphale 
7. Pyriforme 
8. Tapering 
9. Ronde (avec acrosome) 
10. Ronde (sans acrosome) 
11. Double tête (amorphe) 
12. Amorphe 
13. Amorphe 
14. Amorphe 
15. Amorphe 
16. Amorphe 

Anomalies de la pièce intermédiaire

17. Reste cytoplasmique 
18. Angulation 

Anomalies du flagelle

19. Double 
20. Court 
21. Enroulé 
22. " 
23. " 
24. Absent 
25. Angulé 

Distribution of % normal sperm morphology in IVF patients

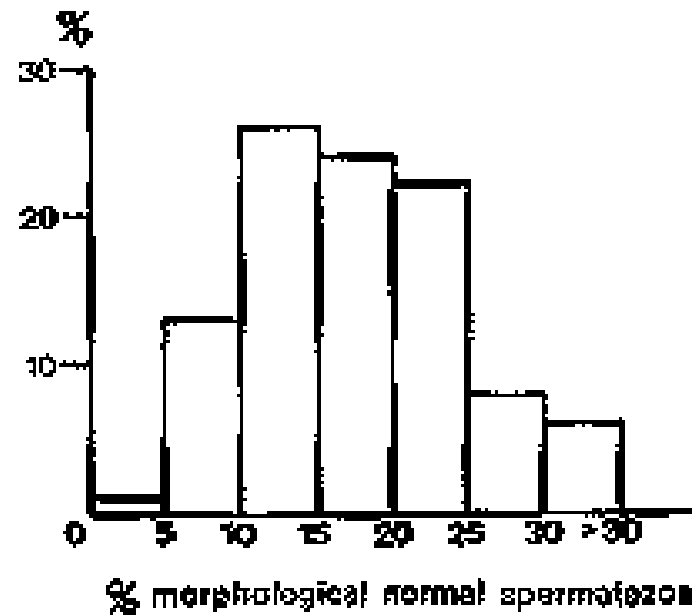


Fig. 3. Frequency distribution of percentage morphologically normal spermatozoa in a population of men selected for IVF treatment ($n = 106$).

Hankveld et al. Hum. Reprod. 5:586, 1990.

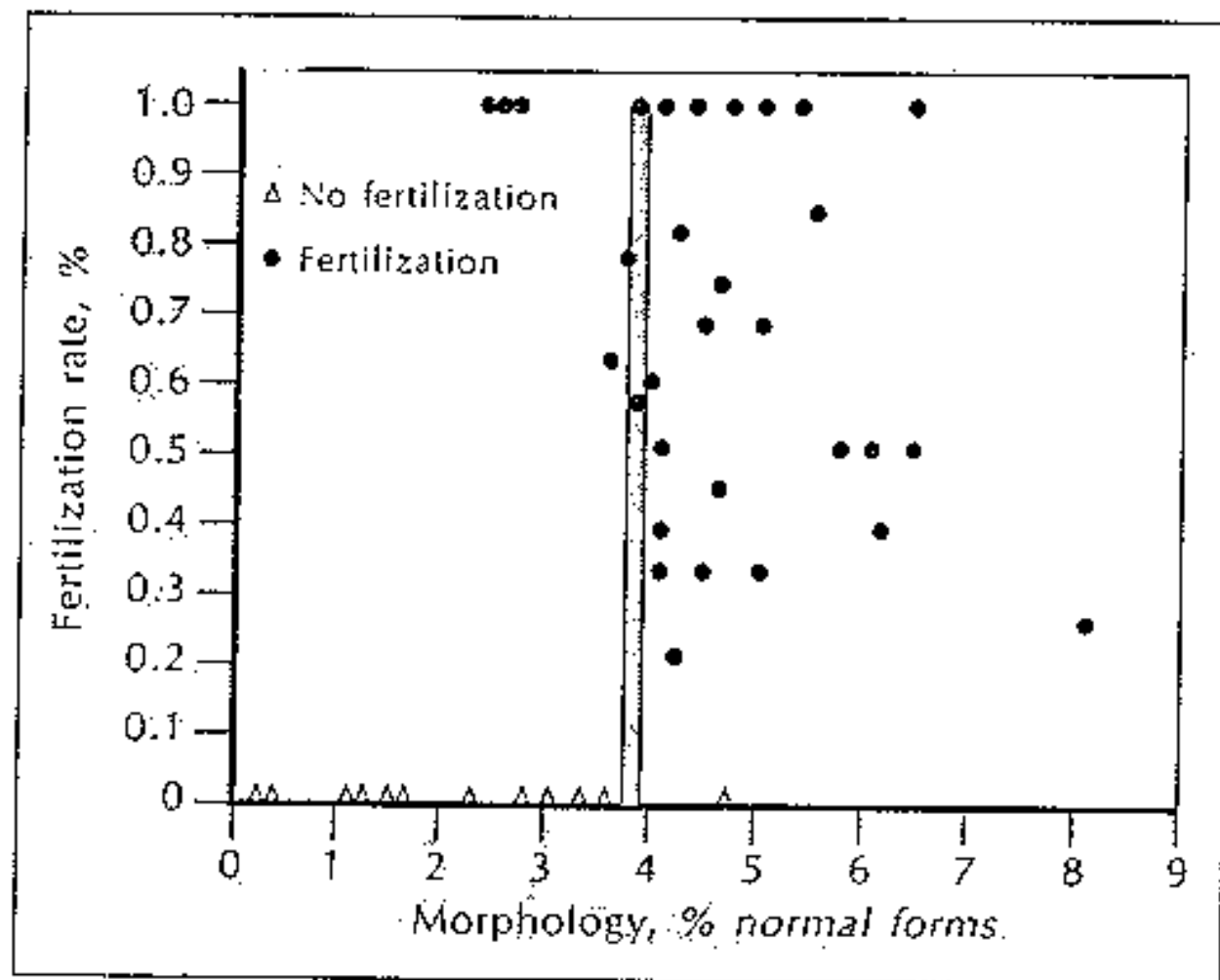
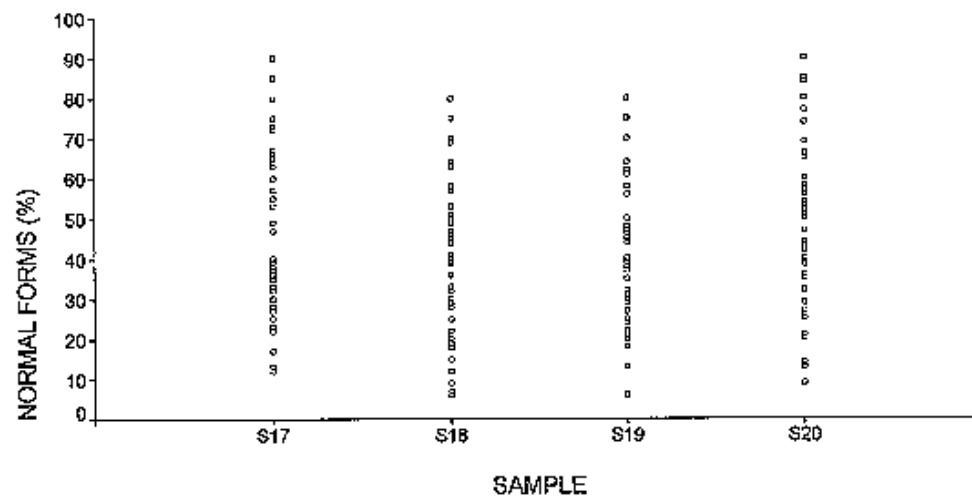


Fig. 1. Relationship between fertilization rate of preovulatory oocytes in 45 IVF patients, using 50,000 motile sperm per mL per egg, and sperm morphology (strict criteria). Bar indicates threshold below which fertilization rarely occurs (poor prognosis for *in vitro* fertilization).

Oehninger et al. Curr.Opin.Obstet.Gynecol. 1992,4:185-196.

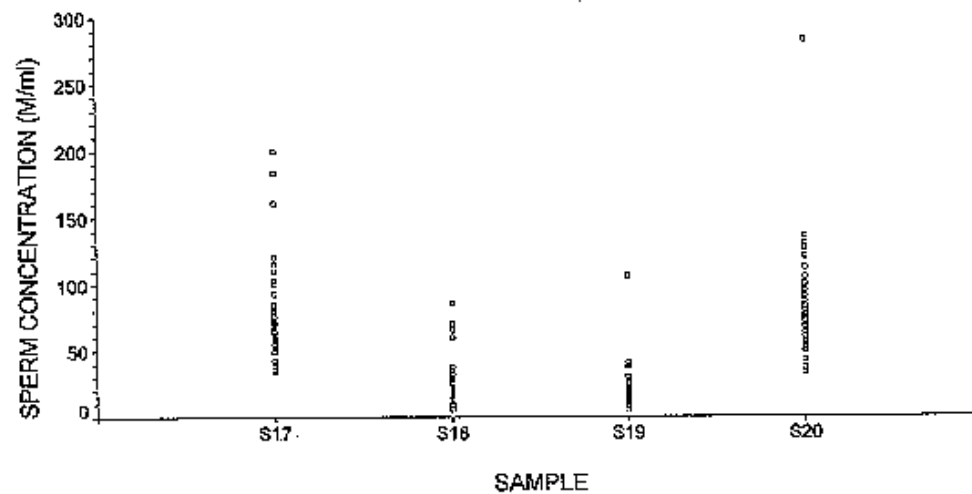
UK NEQAS - NORMAL MORPHOLOGY

DISTRIBUTION 95/96 - 1



UK NEQAS - SPERM CONCENTRATION

DISTRIBUTION 95/96 - 1



Andrology - Labquality Oy - Microsoft Internet Explorer

Fichier Edition Affichage Favoris Outils ?

Adresse http://www.labquality.fi/in_english/external OK Google Recherche Cor Liens Hotmail

Labquality [Suomeksi](#) | [In English](#) |

[Labquality](#) | [Qualitor](#) | [Bioclin](#) **Participant services:** [Log in](#)

Home Company Contacts Feedback Forms Instructions Links New Clients

External Quality Assessment Services

Andrology

HOME

Andrology

6400	Semen analysis
Delivery	October
Specimens	2—3 ejaculates for concentration evaluation, slides or pictures for morphological evaluation, 1 video tape or DVD to evaluate semen motility
Examinations	Concentration, morphology, motility
Inquiries	Minna Iokkanen, tel. +358 9 8566 8237 minna.iokkanen(at)labquality.fi
	Back to the previous page

Internet



Specialty Groups

- > SPECIAL INTEREST GROUPS
- > PARAMEDICAL GROUP
- > TASK FORCES
- > DATA COLLECTION & CONSORTIA

[Specialty Groups](#) / [Special Interest Groups](#) / [Andrology](#) / [Welcome](#)

Andrology

This section is dedicated to the Special Interest Group (SIG) Andrology.

The coordinator of this SIG for ESHRE is:

Dr. Roelof Menkveld

e-mail: rme@sun.ac.za

The Special Interest Group in Andrology (SIGA) is one of the larger Interest Groups in ESHRE and was started in 1992. The SIGA has arranged Pre-Congress courses and Campus Workshops, and supported the development of Andrology by development of consensus reports on Advanced Andrology methods (Human Reproduction, 1996), promoted the development of a Manual on Basic Semen Analysis (ESHRE Monographs #2, Oxford University Press, 2002), initiated a standardized course on Basic Semen Analysis, and launched a Programme for External Quality Assessment (EQA). The SIGA collaborates with other scientific andrology societies engaged by joint training courses and exchange of information about ongoing activities.

CIRCULAR LETTER

The coordinator's written information to all members about recent developments and upcoming activities, for more information click [here](#)

PRECONGRESS COURSE

Rome 2009

"Basic course on environment and human male reproduction"

BASIC SEMEN ANALYSIS COURSES

Contact: José Antonio Castilla: josea.castilla.sspa@juntadeandalucia.es

ADVANCED ANDROLOG LABORATORY COURSE

Contact: Lars Björndahl: Lars.Bjorndahl@ki.se

EXTERNAL QUALITY ASSESSMENT (EQA)

On behalf of the SIGA, the Andrology Laboratory at the Karolinska University Hospital in Stockholm runs an EQA Programme for sperm laboratories. It consists of two annual distributions of test material. Methods tested are those described in the ESHRE Manual on Basic Semen Analysis and taught at the Basic Semen Analysis Courses.

TRAINING IN CLINICAL ANDROLOGY

Answering to the increasing interest in clinical andrology the SIGA has started to arrange courses in Reproductive Andrology in collaboration with the European Academy in Andrology. Recently, a very successful course was given in Brussels. For more information click [here](#).

OTHER ANDROLOGY ACTIVITIES

Special Interest Groups

Andrology

- [Welcome](#)
- [Coordination](#)
- [How it started](#)
- [Circular letters](#)
- [External Quality Control](#)
- [Forthcoming activities](#)
- [Surveys](#)
- [Archive](#)
- [Early Pregnancy](#)
- [Embryology](#)
- [Reproductive Endocrinology](#)
- [Endometriosis & Endometrium](#)
- [Ethics and Law](#)
- [Reproductive Genetics](#)
- [Psychology & Counselling](#)
- [Safety & Quality in ART](#)
- [Stem Cells](#)
- [Reproductive Surgery](#)
- [Paramedical Group](#)
- [Task forces](#)
- [Data collection & Consortia](#)

Le rapport entre la morphologie des spermatozoïdes et leur fertilité dépend d'une évaluation à **deux niveaux distincts**:

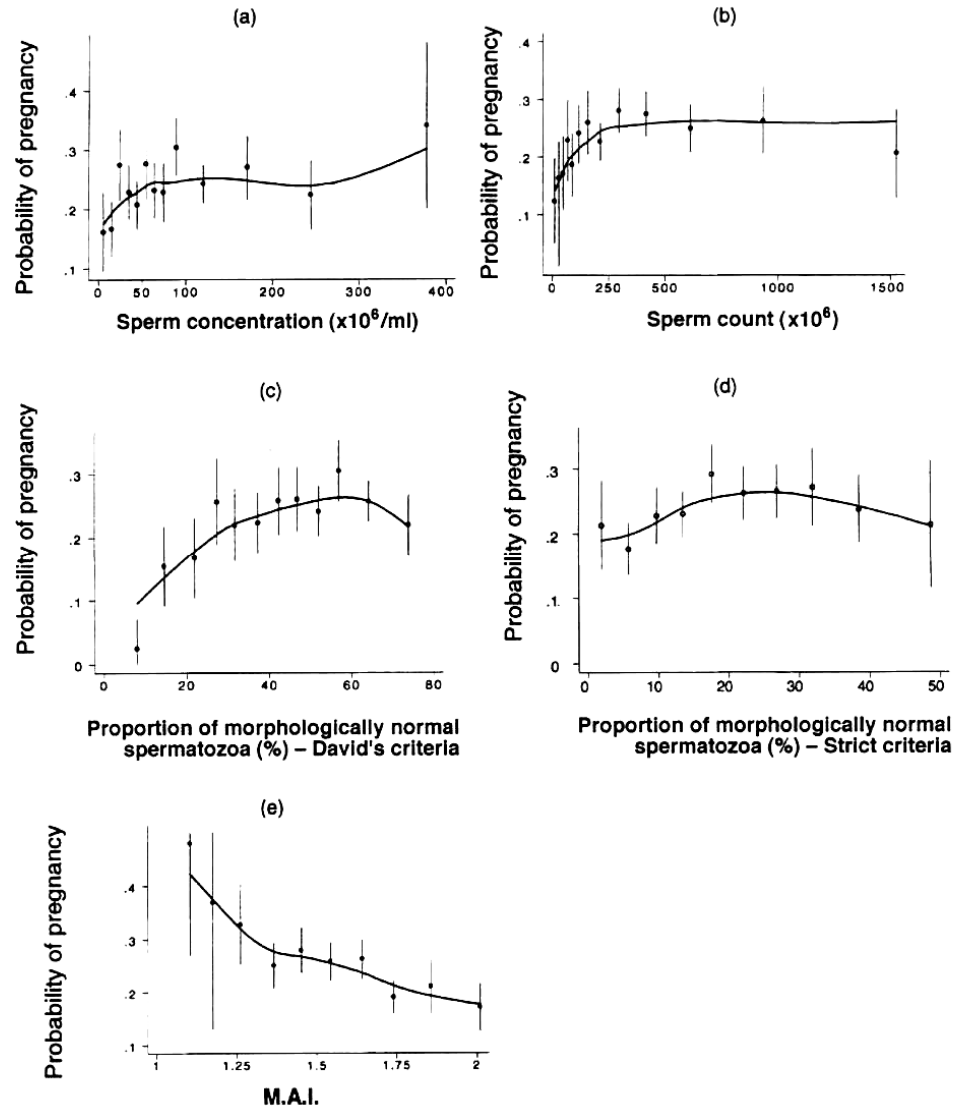
- 1 Chaque spermatozoïde est examiné individuellement et classifié comme normal ou anormal suivant une **définition de la morphologie normale des spermatozoïdes**
- 2 Le pourcentage des spermatozoïdes de morphologie normale dans le sperme est calculé et utilisé pour prédire la fertilité suivant un **seuil au-dessous duquel la fertilité diminue**

Regional differences in semen quality in Europe

Jorgnesen et al. *Hum.Reprod.* 2001 16 :1012.

Region	Rank		Seasonal variation (%) winter / summer	Concentration range (million/ml)	
	Concentration and Total sperm count	Motility	Concentration and Total sperm count	winter	summer
Turku	4 [#]	3 [#]	100 % / 70 %	132	93
Edingurgh	3*	4*		119	84
Paris	2* [#]	1* [#]		103	73
Copenhagen	1	2		98	69

Probability of pregnancy per month of attempt according to semen parameters in 942 fertile couples



CONCLUSION

L'analyse du sperme donne des informations utiles sur la fonction reproductrice masculine

Elle permet :

- de tester la spermatogenèse et la fonction des glandes annexes
- de détecter des problèmes immunologiques, inflammatoires ou infectieux

Cependant, le manque de standards adéquats rend difficile l'évaluation de certains paramètres, en particulier la morphologie des spermatozoïdes

Des études multicentriques de grandes populations d'hommes fertiles ont été effectuées pour établir des seuils validés des paramètres du sperme aider à distinguer des cas avec une fertilité réduite.

Par ailleurs, une diminution quantitative et qualitative des valeurs obtenues est apparue au cours des dernières décénies. On pense qu'elle est due à des facteurs environnementaux comme des disrupteurs endocriniens. Ceci complique considérablement l'interprétation des données et le problème n'est pas encore résolu.



World Health Organization
WHO Press - Editions de l'OMS - Ediciones de la OMS

WHO Home



bookorders@who.int
BOOKSHOP

Search

English | Français | Español



[Home](#)

[About us](#)

[Search](#)

[Just published](#)

[Catalogues](#)

[Subscriptions](#)

[Shopping cart](#)

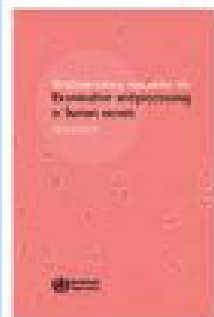
[Libraries](#)

[Sales agents](#)

[Terms & conditions](#)

[Links](#)

WHO Laboratory Manual for the Examination and Processing of Human Semen



Fifth Edition

Nonserial Publications

In press - Noted

ISBN-13 9789241547789

ISBN-10 9241547782

Order Number 11500769

Price CHF 50.00 / US\$ 50.00

Developing countries: CHF 35.00

[English](#) **2010** 287 pages

[Summary](#)

[Related Publications](#)

[Translation\(s\) available](#)

Summary

*****THIS BOOK IS STILL IN PREPARATION. PUBLICATION AVAILABLE
END APRIL 2010*****

Semen analysis may be useful in both clinical and research settings, for investigating male fertility status as well as monitoring spermatogenesis during and following male fertility regulation and other interventions. This manual provides updated, standardized, evidence-based procedures and recommendations for laboratory managers, scientists and technicians to follow in examining human semen in a clinical or research setting. Detailed protocols for routine, optional and research tests are elaborated. The fifth edition includes new information on sperm preparation for clinical use or specialized assays and on cryopreservation, an expanded section on quality control in the semen analysis laboratory and evidence-based reference ranges and reference limits for various semen characteristics. The methods described are intended to improve the quality of semen analysis and the comparability of results from different laboratories.



[Add to your order](#)

[Proceed to checkout](#)



**Removal of spermatozoa with externalized phosphatidylserine
from sperm preparation in human assisted medical
procreation : effects on viability, motility and mitochondrial
membrane potential.**

Corinne de Vantéry Arrighi, Hervé Lucas, Didier Chardonens, Ariane de
Agostini

Genva University Hospitals and University of Geneva

(Reproductive Biology and Endocrinology 2009, 7:1-12.)

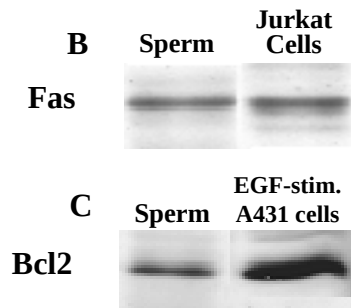
**Exposition des phosphatidylsérines
sur la surface membranaire externe
des spermatozoïdes
comme élément de diagnostic et pronostic
de la fertilité masculine**

Présence de marqueurs d'apoptose des cellules somatiques dans les spermatozoïdes éjaculés

- Protéines pro-apoptotiques : Fas, Bax et anti-apoptotiques : Bcl2
- Chute de la différence de potentiel transmembranaire mitochondrial (MMP)
- Activation des caspases (-9, -8, -3), cytochrome c, facteur d'induction de l'apoptose (AIF)
- Externalisation des phosphatidylsérines (PS)
- Fragmentation de l'ADN

Fragmentation de l'ADN (Nicks) et mauvaise compaction de la chromatine (CMA3)

Présence de protéines anti-apoptotique (Bcl2) et pro-apoptotique (Fas)



(C. de Vantéry et Grace Bianchi)

Sperm parameters	n=34
Concentration (M/ml) Ejaculated sperm	37.6 ± 6.8 * (2-170) §
Motility (% progressive) Ejaculated sperm	45.2 ± 4.0 (5-84)
Morphology (% normal forms) Ejaculated sperm	9.5 ± 0.7 (0-30)
Morphology (% normal forms) DGC prepared sperm	13.6 ± 2.0 (0-44)
% CMA3+ DGC prepared sperm	35.2 ± 3.4 (9-85)
% DNA Nicks+ DGC prepared sperm	23.0 ± 3.5 (0-88)

* values are means±SEM

§ minimum-maximum values

Spermatozoïdes apoptotiques dans les éjaculats ?

Hypothèses :

- Rescapés de l'apoptose lors de la spermatogenèse = « Apoptose avortée »
- Réponse aux ROS « Reactive Oxygen Species » et toxines
- Mécanisme de fécondation = « apoptotic-like mechanism »
- Mécanisme d'élimination des spermatozoïdes

Les phosphatidylsérines exposées sur la surface membrane externe des spermatozoïdes (EPS) sont des marqueurs :

- d'apoptose ?
- de capacitation ?
- de réaction acrosomiale ?
- Signal de pénétration du spermatozoïde dans l'ovocyte
= Signal de « phagocytose » du spermatozoïde par l'ovocyte ?

Constatation: un taux plus élevé dans les éjaculats d'hommes infertiles.

EPS : élément de diagnostic et pronostic de la fertilité masculine ?

Détection des Phosphatidylsérines par l'Annexin V

❖ Phosphatidylsérines (PS)

- Phospholipides, composants de la membrane plasmique
- Rôle dans :
 - la coagulation
 - la fusion membranaire
 - la reconnaissance cellulaire
 - l'apoptose

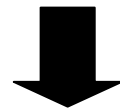
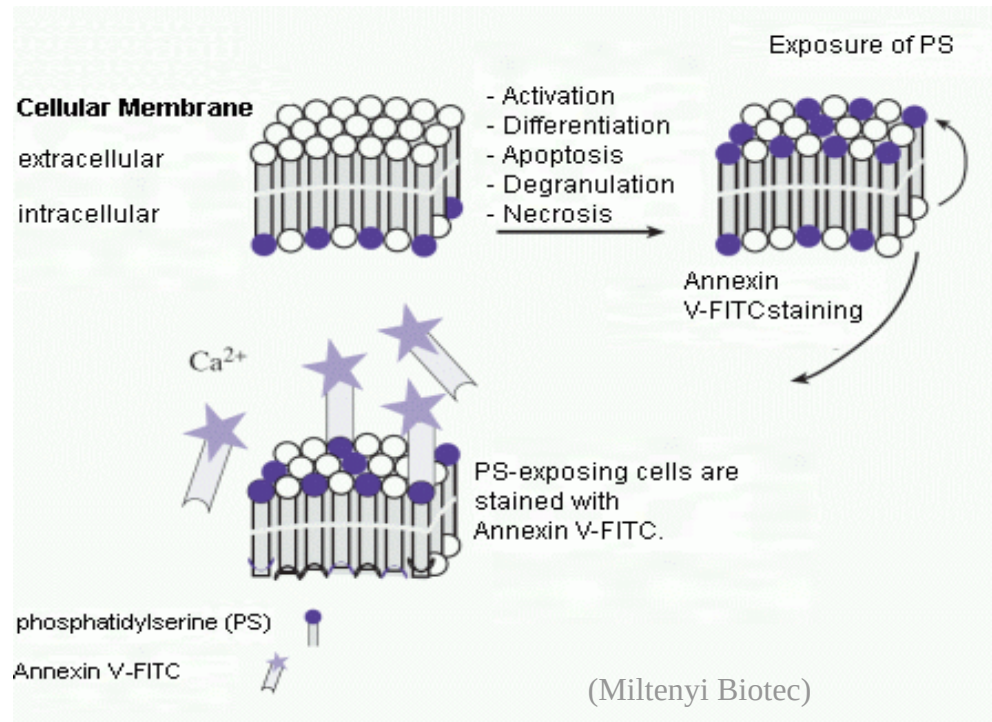
❖ Annexin V (A)

- Protéine anticoagulante de 35 kDa
- Haute affinité pour les PS en présence de calcium
- Couplée à un fluorochrome (FITC) permet d'identifier les spermatozoïdes apoptotiques, à membranes endommagées et nécrotiques

Mise en place d'un test diagnostique pour :

Déterminer le taux de spermatozoïdes apoptotiques, à membranes plasmiques endommagées et nécrotiques dans les éjaculats

Marquage à l'Annexin V-FITC



Observation au microscope à fluorescence

Identification et quantification des spermatozoïdes EPS-positifs par l'Annexin V - FITC

Subpopulations of spermatozoa	DGC-prepared sperm Noncapacitated sperm (n=17)	DGC-prepared sperm Capacitated sperm (n=17)
Annexin V- /Hoechst – (%A-/H-)	70.2±5.8 (18-96)	66.2±5.3 (25-91) ^S
Annexin V- /Hoechst + (%A-/H+)	15.7±4.1 (1-52)	13.8±3.6 (2-52) ^{NS}
Annexin V+/Hoechst – (%A+/H-)	2.9±0.8 (0-15)	3.6±0.6 (1-8) ^{NS}
Annexin V+/Hoechst + (%A+/H+)	11.2±2.4 (1-34)	16.4±2.7 (4-39) ^S
Total Annexin V + (%A+) (%A+/H-)+(%A+/H+)	14.2±2.7 (2-38)	20.1±2.8 (5-41) ^S
Apoptotic index (A+/H-)/total (H-)	4.5±1.2 (0-22)	5.7±0.9 (1-11) ^{NS}

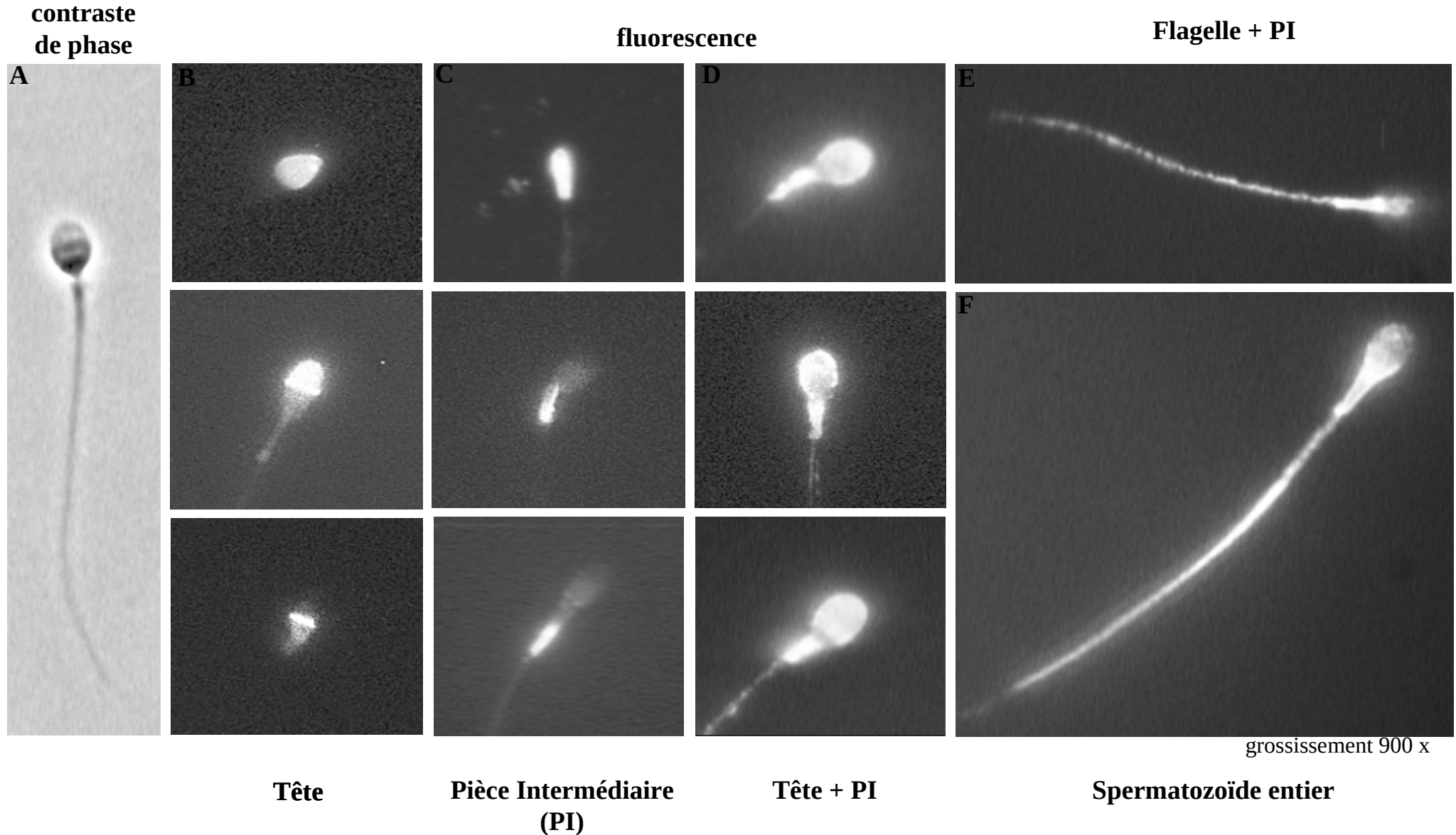
Sperm were prepared by density gradient centrifugation (DGC)

values are mean percentages±SEM (minimum-maximum values)

NS=statistically not significant compared to noncapacitated sperm (paired t-test)

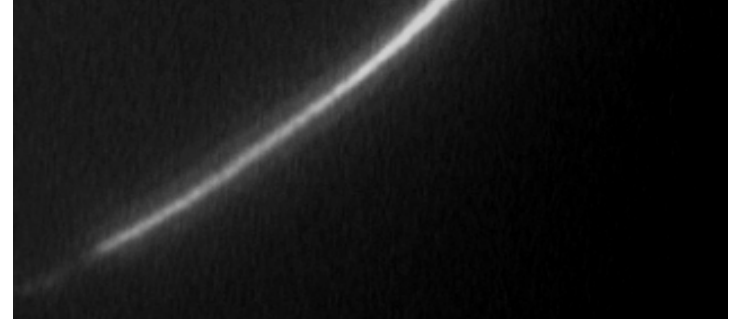
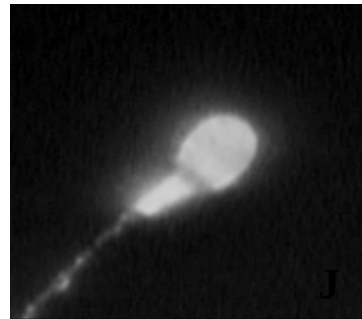
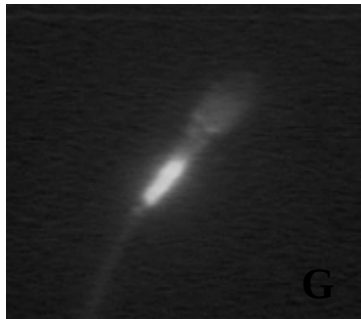
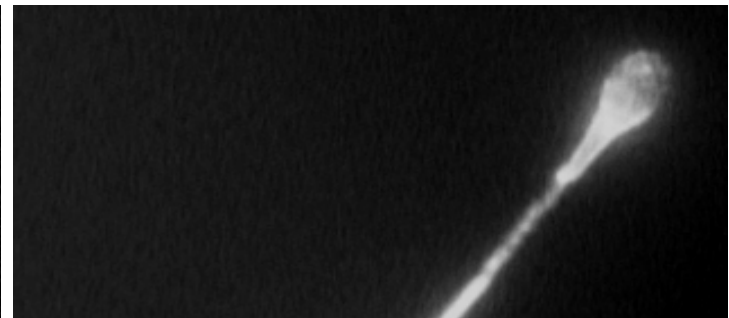
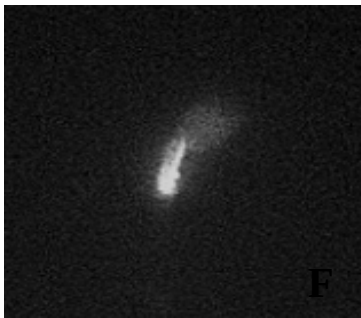
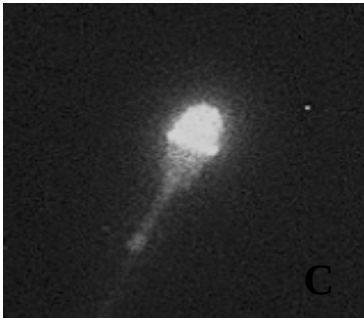
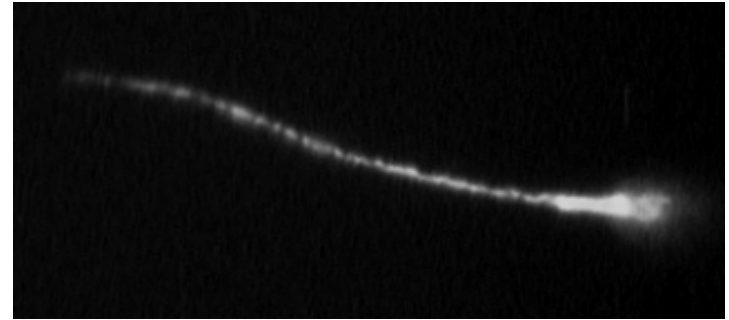
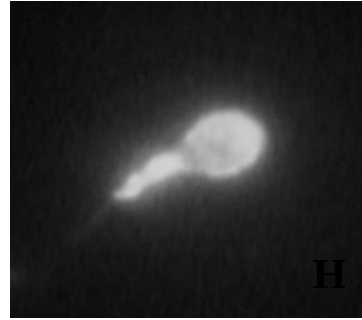
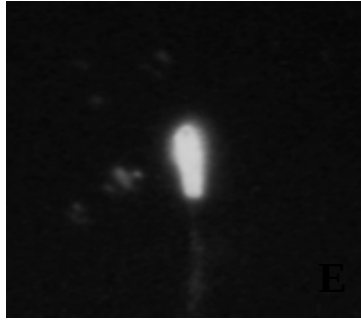
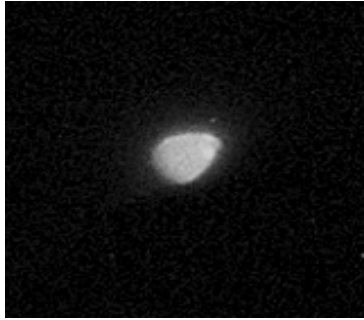
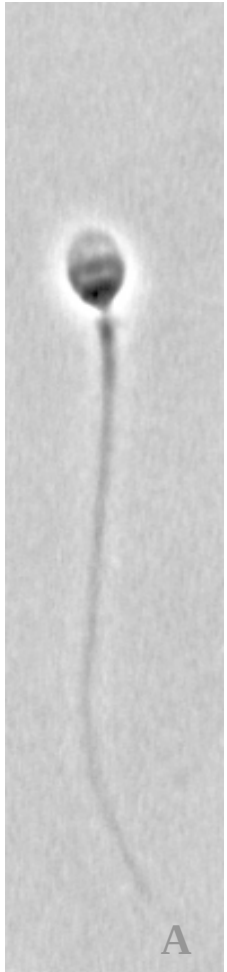
S=statistically significant compared to noncapacitated sperm with p<0.05 (paired t-test)

Localisation des PS sur les spermatozoides humains : marquage à l'Annexin V-FITC



Marquage à l'Annexin V-FITC (B-L)

Flagelle + PI



Tête

**Pièce Intermédiaire
(PI)**

Tête + PI

Spermatozoïde entier

Localisation des PS sur les spermatozoïdes marqués par l' Annexine V - FITC

PS localization	DGCprepared sperm Noncapacitated Sperm	(n=29)	DGC-prepared sperm Capacitated Sperm	(n=29)
Total (%A-) + (%A+)	100		100	
Annexin V- (%A-)	86.7±1.8 (61-98)		83.7±1.8 (55-98)	
Annexin V+ (%A+)	13.3±1.8 (2-39)	100	16.3±1.8 (2-45) ^S	100
Head		14.7±2.2 (0-46)		18.6±2.0 (0-57) ^S
Head and Midpiece		11.5±1.9 (0-38)		15.4±1.8 (0-44) ^S
Midpiece		7.7±1.4 (0-27)		7.8±1.3 (0-22) ^{NS}
Tail		4.7±1.2 (0-33)		5.1±1.4 (0-33) ^{NS}
Entire spermatozoon		61.4±3.6 (25-100)		53.1±3.5 (18-89) ^S

values are mean percentages±SEM (minimum-maximum values)

NS=statistically not significant compared to noncapacitated sperm (paired t-test)

S=statistically significant compared to noncapacitated sperm with p<0.05 (paired t-test)

Préparation des spermatozoïdes pour la PMA par sélection magnétique MACS en utilisant l'Annexin V (ANMB) = MACS-ANMB

MACS : Magnetic Activated Cell Sorting

ANMB : Annexin V-labeled magnetic microbeads

Éliminer les spermatozoïdes apoptotiques, à membranes plasmiques endommagées et nécrotiques des préparations de sperme en vue d'une PMA afin d'augmenter les taux de fécondation et grossesse

Techniques actuelles

- Filtration sur gradients de densité, « SpermFilter » : sélection selon densité, taille
- Migration ascendante, « Swim-up » : sélection selon mobilité

Technique MACS-ANMB

Séparation magnétique à l'aide de Microbilles d'Annexin V des spermatozoïdes avec PS exposées sur la surface mb externe

La préparation de sperme est lavée avec le tampon de liaison pour l'Annexin V (400g, 5 min).

Les spermatozoïdes sont incubés avec les Microbilles d'Annexin V (15 min).

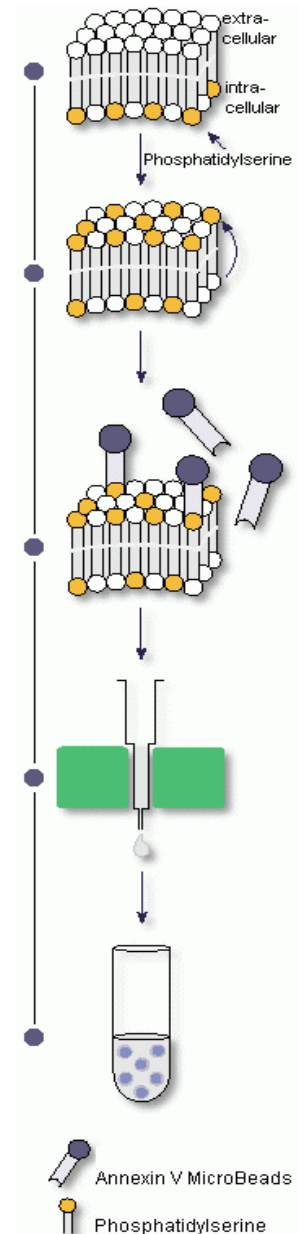


Les cellules magnétiquement marquées (ANMB-positives) sont retenues dans la colonne qui est placée dans un champs magnétique.

Les cellules non marquées (ANMB-négatives) passent à travers.

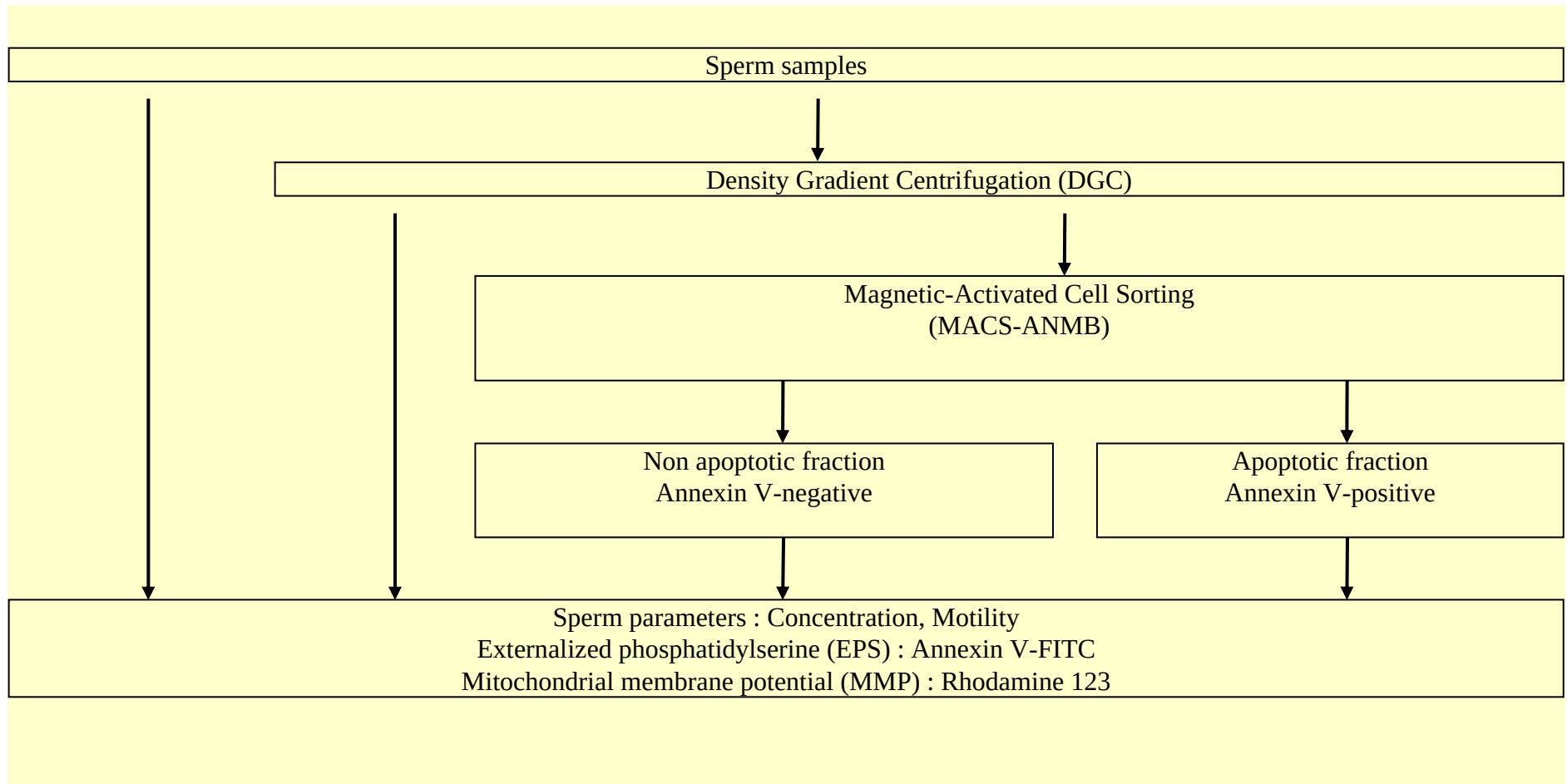


Après retrait de la colonne du champs magnétique, les cellules ANMB-positives sont éluées de la colonne.



(Miltenyi Biotec)

Schéma Experimental



Number of semen samples analysed for each experimental set: total sperm samples: 44,
DGC-EPS: 36, DGC combined with MACS-EPS: 21, DGC-MMP: 31,
DGC combined with MACS-MMP: 15, DGC combined with MACS-Motility: 28,
DGC combined with MACS-Survival at 24h: 20.

Paramètres des spermés

Raw sperm Patients, Subgroups	Volume	Concentration (10 ⁶ /ml)	Total Count (10 ⁶ /ejaculate)	Motility (%progressive)	Morphology (%normal forms)
n=44, All sperms	3.7±0.2	75.7±7.0	259.1±23.3	49.1±1.9	7.8±0.9
n=36, EPS	3.8±0.2	80.3±7.9	278.1±25.1	50.1±0.2	8.3±1.0
n=21, EPS / MACS	4.1±0.3	85.0±12.3	294.3±29.3	49.2±2.7	7.5±1.0
n=31, MMP	3.9±0.3	82.6±9.1	293.1±28.6	49.4±2.2	8.4±1.2
n=15, MMP / MACS	3.9±0.4	98.0±15.3	320.8±35.1	49.3±3.5	7.9±1.2
n=28, Motility / MACS	3.7±0.2	77.4±10.0	255.3±27.1	48.4±2.4	7.0±0.9
n=20, Survival at 24h / MACS	3.9±0.3	75.3±11.5	273.8±36.2	48.9±3.0	7.6±1.0

All sperm parameters are statistically not significantly different between the subgroups (p>0.05, non-paired t-test)
values are means±SEM

EPS, MMP and progressive motility in raw sperm, in sperms prepared by DGC or DGC + MACS-ANMB

Criteria, subgroups	Raw sperm	DGC sperm	DGC+MACS sperm Non Apoptotic Fraction	DGC+MACS sperm Apoptotic Fraction
EPS (%A+), n=36	20.0±2.3 (5-68)	11.8±1.4 (1-32)	-	-
EPS (%A+), n=21	22.1±3.4 (5-68)	13.1±2.0 (1-32)	6.7±1.2 (1-22) *	67.8±4.2 (25-94)
MMP disruption (%MMP-), n=31	61.7±3.2 (30-95)	44.2±3.7 (16-86)	-	ND
MMP disruption (%MMP-), n=15	57.9±4.5 (30-91)	37.0±5.0 (16-86)	24.7±5.6 (6-82)*	ND
Motility, n=28 (%progressive)	48.4±2.4 (17-71)	64.4±3.8 (22-91)	67.9±5.4 (0-97)	8.0±2.6 (0-53)

Values are means±SEM (minimum-maximum values)

* p<0.05, paired t-test

Survie à 24h des spermatozoïdes préparés par DGC ou par DGC plus MACS-ANMB

n=20	Raw sperm	DGC sperm	DGC+MACS sperm Non Apoptotic Fraction	DGC sperm Survival at 24h	DGC+MACS sperm Non Apoptotic Fraction Survival at 24h
Motility (%progressive)	48.9±3.0 (17-71)	69.3±4.2 (22-91)	75.6±5.2 (20-97)	32.4±6.1 (0-78)	47.5±7.0 (0-88)

Values are means±SEM (minimum-maximum values)

All values are statistically significantly different ($p < 0.05$, paired t-test)

Récupération des spermatozoïdes

Sperm n=28	Loaded on MACS	Recovered from both fractions	Recovered from the Non Apoptotic Fraction	Recovered from the Apoptotic Fraction
Million	6.74±0.63 (0.5-10)	5.30±0.62 (0.28-10)	4.87±0.1 (0.24-9.95)	0.43±0.1 (0.01-1.5)
%	100%	75.8±3.7*		
%		100%	89.2±2.2*	10.8±2.2*

Values are means±SEM in million spermatozoa (minimum-maximum values)

Conclusions

- ❖ La détermination des taux de spermatozoïdes avec translocation des PS dans le sperme natif pourrait permettre de sélectionner les patients qui bénéficieraient d'une préparation de sperme visant à les éliminer.
- ❖ La technique MACS-ANMB permet de diminuer la charge en spermatozoïdes Annexin V-positifs dans les préparations de sperme pour la PMA, à partir de 10 millions de spermatozoides mobiles.
- ❖ Pour éviter l'utilisation de champs magnétiques pour MACS-ANMB, une technique de purification de billes sur laine de verre est proposée.



Amélioration potentielle des taux de fécondation et grossesse