

**République Algérienne Démocratique et Populaire**  
**Ministère de l'enseignement et de La Recherche Scientifique**  
**Université Blida 1**  
**Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie**  
**Département de Biologie de Population et Organisme**



Mémoire de fin d'étude en vue de l'obtention du diplôme de master

Option : biologie et physiologie de la reproduction

Thème

**Etude comparative entre deux méthodes de classification  
morphologique du spermatozoïde humain, manuelle classique  
et par le système CASA**

**Présenté par :**

LAIOURATE Fatna

Soutenu le 15/09/2018, Devant le jury :

Mr BESSAAD M.A.	Blida 1	M.A.A	président
Mr KAIDI R.	Blida 1	Professeur	promoteur
Mme BENAZOUZ F.	Blida 1	M.A.A	Examinatrice
Mme BOUCEKKINE N	Alger	Professeur / CAMP TIZIRI	Co-promotrice

Année universitaire: 2017/2018

## *Remerciements*

*Nous tenons tout d'abord à remercier Dieu le tout puissant de nous avoir donné la foi, la force et La patience pour réaliser ce modeste travail.*

*Nous tenons à exprimer nous sincères considérations et remerciements à notre promoteur Mr **KAIDI Rachid**, pour ses précieux conseils, son aide, son orientation, sa gentillesse et sa générosité Qu'il veuille bien agréer notre profonde et éternelle gratitude.*

*Nous sincère remerciements et nous gratitudes vont aussi au Madame **BOUCEKKINE Nadja**, soyez assuré de mon entière reconnaissance.*

*Nous tenons à remercier également les membres de jury : Mr **BESSAD Mohamed El Amine** de nous avoir fait l'honneur de présider ce travail et Mme **BENAZOUZ Fella** d'avoir accepté de consacrer son temps pour l'évaluation de ce travail.*

*Nous tenons à remercier Mr **AMMAR Kalem** , Mr **BEKARA Mohamed el amin** pour leur aide.*

*Nous remerciements s'adressent aussi à l'ensemble des personnels du laboratoire **LBRA**.*

*Nous tenant à remercier également l'ensemble des personnels de l'unité de spermologie au **CPMA TIZIRI**.*

*Enfin nous n'oublions pas de remercier tous ceux et celles qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.*

*Merci à tous.*

## *Dédicace*

*Toutes les lettres ne sauraient trouver les mots qu'il faut... Tous les mots ne sauraient exprimer la gratitude, l'amour, Le respect, la reconnaissance... Aussi, c'est tout simplement que je dédie ce mémoire*

*A Ma tendre Mère **Yamina** : Tu représentes pour moi la source de tendresse et l'exemple de dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager. Tu as fait plus qu'une mère puisse faire pour que ses enfants suivent le bon chemin dans leur vie et leurs études.*

*A Mon très cher Père **Ali**: Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, le dévouement et le respect que j'ai toujours pour vous. Rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien être. Ce travail et le fruit de tes sacrifices que tu as consentis pour mon éducation et ma formation le long de ces années.*

*Un spécial dédicace pour : Ma deuxième mère Khadidja et ma troisième mère Fatima el Zahra.*

*A mes chers frères : Abd elkader ,Abd elghani ,Sulaiman ,Mustafa ,zaïd ,salah el dine ,Mohamed, Youcef , Inaam elhassen .*

*Ames chères sœurs : Malika, Hanane, Khawla, Maroua, chaïmaa.*

*A ma petite fille Ranime je t'aime énormément.*

*A monsieur **BESSAAD, A** : qui ne cessé pas de m'encourager et me Conseillée. Cette humble dédicace ne saurait exprimer mon grand respect et ma profonde estime.*

*A tous mes enseignants surtout **Mme BENAZOUZ, Mme ZATRA**  
Depuis ceux qui mon appris à écrire mon nom, en signe de vive gratitude et reconnaissance.*

## Table des matières

Introduction .....	1
Chapitre I: données bibliographique	
I. Rappelles.....	2
1. Fertilité et infertilité.....	2
2. Fécondité et infécondité.....	2
II. Rappelles anatomique.....	2
1. Appareil génital masculin .....	2
1.1. Anatomie .....	2
A. Les testicules :.....	3
B. Les voies spermatiques.....	3
1.2. La spermatogénèse .....	5
2. Régulation hormonale de la spermatogénèse .....	6
2.1. Action des gonadotrophines.....	6
2.2. Contrôle de la sécrétion des gonadotrophines .....	7
3. Le sperme .....	7
3.1. Définition .....	7
3.2. Les différentes fractions du sperme .....	7
3.3. Le liquide séminal.....	8
4. Influence de certains facteurs sur la spermatogénèse.....	8
4.1 Facteurs physiologiques.....	8
4.2 Facteurs physiques .....	8
4.3 Facteurs pharmacologiques.....	9
4.4 Facteurs exogènes .....	9
5. Causes d'infertilité chez l'homme.....	9
6. Bilan de l'infertilité .....	11
6.1. Interrogatoire.....	11

6.2. Examen clinique.....	12
6.3. Bilan paraclinique de première intention.....	13
A. Spermogramme et spermocytogramme.....	13
A.1. Le recueil.....	13
A.2. L'examen macroscopique.....	13
A.3. L'examen microscopique.....	13
B. Le spermocytogramme.....	15
B.1. Classification de David.....	15
B.2. Classification de Kruger (critères stricts).....	16
7. Analyse semi-automatisée ou CASA (Computer-aided sperm analysis).....	18
1. Notion de CASA.....	18
2. Morphologie spermatique et revue de la littérature.....	18
3. CASA et revue de la littérature.....	19
Chapitre II : Matériels et méthodes	
1. Matériels.....	22
2. Cadre d'étude:.....	24
3. Spermocytogramme :.....	24
4. Méthodes :.....	24
5. RECUEIL DES DONNÉES ET ANALYSE STATISTIQUE.....	28
Chapitre III : Résultat et discussion	
I. Résultats globaux des données des spermocytogrammes:.....	30
1. La méthode manuelle selon la classification de David :.....	30
2. La méthode automatique selon la classification de David.....	31
3. La méthode automatique selon la classification de Kruger.....	31
II. Comparaison des deux méthodes d'analyse des spermatozoïdes manuel et par CASA selon la classification de David modifiée :.....	32

---

III. Comparaison des deux classifications d'évaluation de la morphologie spermatique par CASA : .....	35
Conclusion .....	38
Référence bibliographique.....	39
Annexe.....	

## Résumé

L'Analyse morphologique du spermatozoïde humain est un des éléments d'évaluation de son pouvoir fécondant. Cependant il existe une très grande variabilité dans les résultats observés, en relation avec des méthodologies différentes, une grande diversité des classifications proposées et une grande subjectivité dans l'interprétation de la morphologie. C'est dans cette perspective que nous avons orienté l'objectif de cette étude. Pour ce faire, nous avons effectué une comparaison entre les résultats de spermatocytogramme par la méthode automatisée (CASA), selon la classification de David modifiée et selon la classification de Kruger versus la méthode manuelle selon la classification de David modifiée.

L'étude a été accomplie au niveau du centre de procréation médicale assisté au niveau de la clinique TIZIRI sise à Alger sur une période de deux mois et au sein du Laboratoire de biotechnologie de la reproduction de l'institut vétérinaire LBRA. Cinquante et un (51) cas souffrant d'infertilité ont fait l'objet de cette étude.

Notre étude a montré, avec la méthode automatisée utilisant la classification de Kruger, des résultats meilleurs par rapport à ceux obtenus avec la méthode manuelle utilisant la classification de David modifiée. Quoique l'analyse automatisée des anomalies spermatiques paraît illusoire avec les systèmes actuels, la pièce intermédiaire et le flagelle étant de petites structures peu colorées et difficilement identifiables par l'ordinateur. De plus un consensus doit d'abord être recherché sur la définition des critères et des classes de spermatozoïdes anormaux.

Mots clés : spermatozoïde, spermatocytogramme, CASA, infertilité, procréation, fécondation, David, Kruger.

## Abstract

The morphological analysis of the human sperm is one of the elements of evaluation of its fertilizing capacity. However, there is a great deal of variability in the observed results, in relation to different methodologies, a great diversity of proposed classifications and a great subjectivity in the interpretation of morphology. It was in this perspective that we guided the objective of this study. According to the classification of David modified and according to the classification of Kruger versus the manual method according to the classification of David modified.

The study was carried out at the level of the assisted medical procreation center at the TIZIRI clinic located in Algiers over a period of two months and in the Biotechnology Laboratory of the LBRA Veterinary Institute. Fifty-one (51) infertility cases were included in this study.

Our study showed, with the automated method using the Kruger classification, better results than those obtained with the manual method using the modified David classification. Although the automated analysis of spermatic anomalies seems illusory with current systems, the intermediate piece and the flagellum are small structures with little color and difficult to identify by the computer. In addition, a consensus must first be sought on the definition of criteria and classes of abnormal spermatozoa.

Keywords: spermatozoa, CASA, infertility, procreation, fecundation, David, Kruger.

## المخلص

التحليل المورفولوجي للحيوانات المنوية البشرية هو احد عناصر تقييم قدرة التلقيح. ومع ذلك ، هناك قدر كبير من التباين في النتائج المرصودة ، فيما يتعلق بالمنهجيات المختلفة ، تنوع كبير في التصنيفات المقترحة وعلمية كبيرة في تفسير مورفولوجيا. من هذا المنظور ، قمنا بتوجيه هدف هذه الدراسة للقيام بذلك ، أجرينا مقارنة بين نتائج الخلايا المنوية عن طريق طريقة تلقائية (CASA) ، وفقا لتصنيف ديفيد المعدلة ووفقا لتصنيف كروجر مقابل الطريقة اليدوية وفقا لتصنيف ديفيد المعدل.

أجريت الدراسة على مستوى مركز الإنجاب الطبي بمساعدة في عيادة TIZIRI في الجزائر العاصمة على مدى شهرين وفي مختبر التكنولوجيا الحيوية التابع للمعهد البيطري LBRA. أدرج واحد وخمسون (51) حالة قحل في هذه الدراسة.

أظهرت دراستنا ، مع الطريقة الآلية باستخدام تصنيف كروجر ، نتائج أفضل من تلك التي تم الحصول عليها باستخدام الطريقة اليدوية باستخدام تصنيف ديفيد المعدل. مهما كان التحليل الآلي للتشوهات الحيوانات المنوية يبدو غير واقعي مع النظم الحالية ، وقطعة متوسطة والسوط كونها هياكل ملونة صغيرة صغيرة ويسهل التعرف عليها بواسطة الكمبيوتر. بالإضافة إلى ذلك ، يجب أولاً السعي للحصول على إجماع حول تعريف معايير وفئات الحيوانات المنوية غير الطبيعية.

الكلمات الرئيسية الحيوانات المنوية ، القحل ، الانجاب ، التلقيح ، دافيد ، كروجر .

---

## Liste des figures

<b>Figure 1:</b> L'appareil génital masculin (coupe sagittale) .....	3
<b>Figure 2:</b> La spermatogenèse .....	5
<b>Figure 3 :</b> Spermiogenèse .....	6
<b>Figure 4 :</b> Anomalies du spermogramme chez les hommes consultant pour infertilité.....	9
<b>Figure 5:</b> Anomalies des spermatozoïdes : classification de David.....	16
<b>Figure 6 :</b> Schéma de quelques anomalies des spermatozoïdes. (Extrait du manuel de l'OMS 2010).....	17
<b>Figure 7:</b> Computer-Assisted Sperm Analysis.....	20
<b>Figure 8 :</b> Organigramme montre la méthodologie du travail.....	21
<b>Figure 9 :</b> le lecteur manuel par le microscope optique.....	27
<b>Figure 10 :</b> le logiciel CASA.....	28
<b>Figure 11 :</b> Répartition des patients en fonction de la normalité ou l'anormalité des résultats du spermocytogramme par la méthode manuelle selon la classification de David. ....	31
<b>Figure 12 :</b> Répartition des patients en fonction de la normalité ou l'anormalité des résultats du spermocytogramme La méthode automatique selon la classification de David.....	32
<b>Figure 13 :</b> Répartition des patients en fonction de la normalité ou l'anormalité des résultats du spermocytogramme par la méthode automatique selon la classification de Kruger.....	32
<b>Figure 14 :</b> la concordance entre les résultats des deux méthodes (manuel, automatique).....	34
<b>Figure 15 :</b> Comparaison de la technique manuelle avec le SCA sur 51 patients (valeurs extrêmes mesurées : 0 à 19% de spermatozoïdes de formes typiques).....	35
<b>Figure 16:</b> la concordance entre les résultats des deux classifications (David, Kruger).....	36
<b>Figure 17 :</b> Concordance entre la classification de David et la classification de Kruger (graphique de Bland et Altman).....	37
<b>Figure 18 :</b> courbe ROC, valeur prédictive de la morphologie spermatique automatisé par les deux classifications (David, Kruger).....	38

---



## Liste des tableaux

<b>Tableau I :</b> Les principales causes d'hypofertilité chez l'homme.....	10
<b>Tableau II :</b> Normes des paramètres spermatiques (OMS 2010).....	14
<b>Tableau III:</b> La concordance entre les résultats des deux méthodes (manuel, automatique)..	33
<b>Tableau IV :</b> la concordance entre les résultats des deux classifications (David, Kruger)...	36

---



## ABREVIATION

OMS	Organisation mondial de la santé.
AMP	Assistance médicale à la procréation.
AI	Insémination artificiel.
FIV	Fécondation in Vitro.
CASA	Computer-aided sperm analysis.
FSH	Folliculo-stimulating hormone.
LH	Luteinizing hormone.
ABP	Androgen Binding protein.
Gn-RH	Realising-Hormone.
IST	Infection sexuellement transmissible.
ACBD	Agénésie congénitale bilatérale des défférents.
ACAS	Anticorps anti-spermatozoïde.
IAM	Indice d'anomalie multiple.
FT	Forme typique.
FA	Forme atypique.

# Introduction

L'organisation mondiale de la santé (OMS) définit l'infertilité d'un couple dont la femme est en âge de procréer (18–45ans) comme «l'incapacité à concevoir ou à obtenir une grossesse au-delà d'un délai de 12 mois de rapports sexuels réguliers non protégés. Dans le monde Elle touche 15% des couples et environ un couple sur six est confronté à une infertilité primaire ou secondaire [1] [2].

L'évaluation de la qualité de sperme est d'une importance majeure dans l'exploration de l'infertilité masculine dans les programmes d'insémination artificielle (AI) [3]. Le succès de cette dernière dépend en grande partie de la qualité du sperme, c'est pourquoi la précision dans sa mesure est importante et donc il est impératif de se disposer de techniques analytiques fiables et précises [4].

Notre travail a pour objectif principal, de comparer les résultats des méthodes d'analyse de la qualité du sperme : lecture de spermatocytogramme par méthode automatisé (CASA) selon la classification de Kruger et selon la classification de David modifiée vs la méthode manuel selon la classification de David modifié.

Ce travail est scindé en deux parties. Elle sera précédée par une synthèse bibliographique dans laquelle des rappels anatomophysiologiques de l'appareil reproducteur mâle seront expliqués succinctement. La deuxième représente la partie expérimentale comprenant la méthodologie de travail, la présentation et discussion des résultats et enfin la conclusion.

# **Chapitre I :**

## **Données bibliographiques**

## I. Rappelles

### 1. Fertilité et infertilité

La fertilité est l'aptitude à procréer. L'infertilité est l'incapacité à procréer et peut être :

- **Primaire**, c'est l'absence de grossesse après un minimum d'un an de rapports sexuels non protégés chez une femme qui n'a jamais eu de grossesse.
- **Secondaire**, c'est l'absence de grossesse après un minimum d'un an de rapports sexuels non protégés chez une femme qui a déjà eu une grossesse.

### 2. Fécondité et infécondité

La fécondité est le fait d'avoir procréé. L'infécondité est le fait de ne pas avoir procréé de façon volontaire ou involontaire.

Le concept est celui d'un état : avoir été impliqué (ou non) à un moment donné dans l'obtention d'une grossesse ou la naissance d'un enfant.

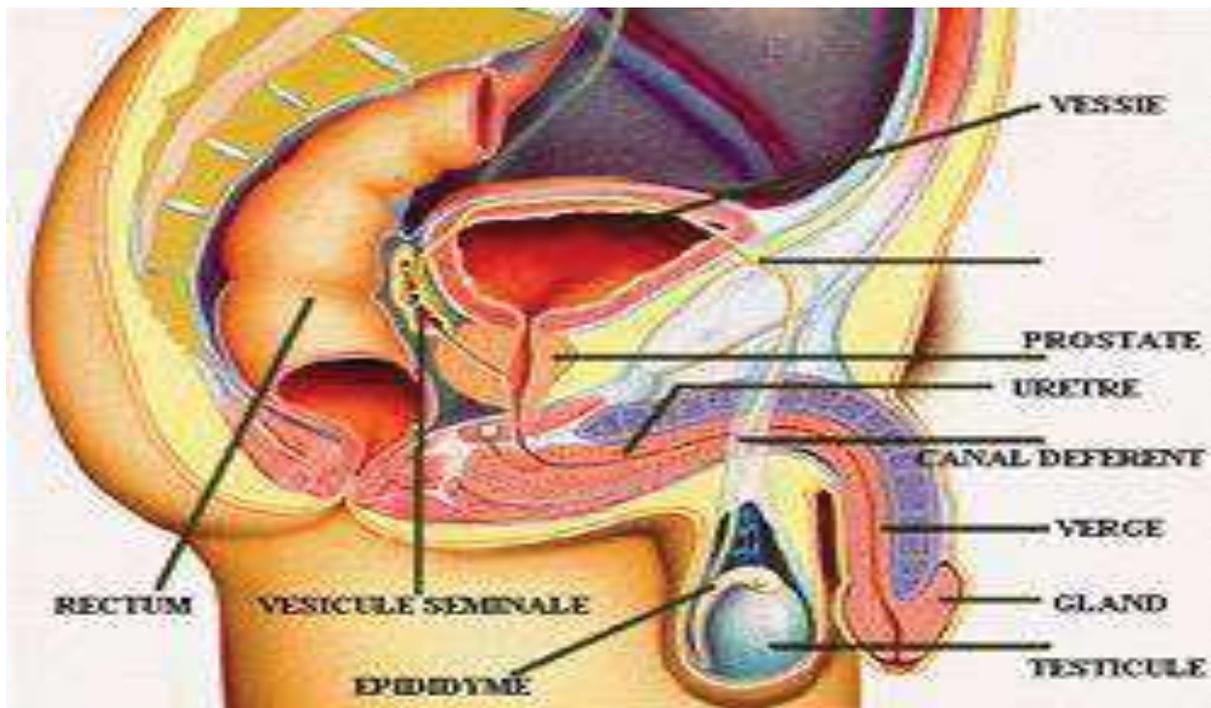
Selon l'OMS, l'infécondité est définie comme l'absence de survenue d'une grossesse après un an au moins de rapports sexuels réguliers non protégés. Cette définition demeure controversée pour ce qui est de la durée. La notion d'obtention de grossesse lors d'unions antérieures pour chacun des deux membres du couple est importante à savoir [5].

## II. Rappel anatomique

### 1. Appareil génital masculin

#### 1.1. Anatomie

La fonction génitale de l'homme est d'élaborer des gamètes mâles appelés spermatozoïdes, et de les introduire dans les voies génitales de la femme. L'appareil génital mâle est à cet effet constitué par un ensemble d'organes et de structures participant à la formation, la maturation et l'émission sous pression des différents constituants du sperme. Ces organes et structures sont les testicules, les voies spermatiques notamment l'épididyme, le canal déférent et l'urètre, les glandes annexes constituées par la prostate, les vésicules séminales et les glandes bulbo-urétrales ou glandes de Cowper (fig.1).



**Figure. 1** : L'appareil génital masculin (coupe sagittale) [6].

#### A. Les testicules :

Les testicules ou gonades mâles sont des organes pairs, normalement placés au-dessous de la verge, dans les bourses. Chaque testicule a la forme d'un ovoïde aplati transversalement, dont le grand axe est oblique de haut en bas et d'avant en arrière (fig. 1). Il mesure 4 à 5 centimètres de longueur, 2,5 centimètres d'épaisseur et 3 centimètres de hauteur, pesant en moyenne 20 grammes [7].

#### B. Les voies spermatiques

Les spermatozoïdes élaborés dans les tubes séminifères vont être évacués grâce à un système de canaux constituant les voies excrétoires du sperme. A ces conduits, sont annexés des glandes dont les produits de sécrétion participent à la constitution du sperme. On distingue :

- ❖ **Les tubes droits** : sont des conduits de 1mm de long, tapissés histologiquement d'un épithélium simple cubique ou aplati.
- ❖ **Le réte testis** : appelé aussi réseau de Haller constitue davantage des lacunes que des canaux creusés dans le corps d'Highmore. Il est recouvert d'un épithélium cubique simple.
- ❖ **Les cônes efférents** : Ils appartiennent à l'épididyme dont ils constituent le globus major, tapissés histologiquement d'un épithélium festonné reposant sur une membrane basale.

- ❖ **L'épididyme** : Il est placé sur le testicule à la manière d'un cimier de casque. Il décrit une courbe concave vers le bas, adaptée à la convexité du testicule. C'est un organe androgénodépendant qui concentre le sperme et permet aux spermatozoïdes d'acquérir leur mobilité et leur pouvoir fécondant.
- ❖ **Le canal déférent** : Il fait directement suite au canal épидидymaire : c'est un élément du cordon spermatique et il mesure environ 40cm de long pour un diamètre de 2mm. Partant de la queue de l'épididyme, il traverse le canal inguinal et la fosse iliaque, puis il se recourbe vers le bas fond vésical ou il se continue par le canal éjaculateur, il présente une dilatation allongée ; l'ampoule du canal déférent ou ampoule différentielle située au-dessus du point d'abouchement des vésicules séminales dans le canal déférent. Le canal déférent n'est pas une simple voie vectrice du sperme ; la présence de cellules de type glandulaire le rapproche du canal épидидymaire ; il est parcouru d'ondes péristaltiques qui assurent la progression des sécrétions testicule-épидидymaires. Quant à l'ampoule du canal déférent, elle apparaît comme un réservoir à l'intérieur duquel s'accumule le sperme dans l'intervalle des éjaculations.
- ❖ **Le canal éjaculateur** : Long de 2cm sur 1 mm de diamètre, il s'étend du point d'abouchement de la vésicule séminale dans le canal déférent à l'urètre prostatique ; son calibre diminue progressivement de son origine à sa terminaison. C'est un simple conduit vecteur [8].
- ❖ **Les glandes annexes** :  
Ces glandes produisent la majeure partie du sperme.
- **Les vésicules séminales** :  
Ce sont deux réservoirs membraneux dans lesquels s'accumule le sperme dans l'intervalle des éjaculations. Chacune d'elles est branchée sur l'extrémité terminale de l'un des canaux déférents et s'étend en dehors de lui, entre la vessie et le rectum, suivant une direction oblique en dehors, en arrière et un peu en haut. Elles sont longues de 5 à 7 centimètres, de la forme d'un petit doigt. Les vésicules séminales sécrètent un liquide clair, visqueux et alcalin, qui agit sur l'état physiologique des spermatozoïdes en maintenant normale leur mobilité et en leur assurant une vitalité maximale dans le sperme [9].
- **La prostate** :  
Elle apparaît comme un organe musculo-glandulaire, impair et médian, adhérent à la face inférieure de la vessie et entourant le carrefour urogénital à l'abouchement des vésicules séminales dans les canaux déférents.

- **Les glandes de Cowper :**

Elles sont constituées de deux petites masses glandulaires de la taille de petites noisettes situées à la jonction de l'urètre spongieux dans l'épaisseur de l'aponévrose pénienne moyenne. Elles possèdent un canal excréteur relativement long chez l'homme adulte, qui atteint 30 à 40 mm de long et il s'ouvre sur la paroi postérieure de l'urètre pénien au niveau de la partie antérieure du cul-de-sac du bulbe [8].

- **La verge ou pénis :**

C'est l'organe externe qui assure la copulation et la miction chez l'homme, cette double fonction est assurée grâce au tissu érectile et à l'urètre. Le pénis est situé au-dessus des bourses, à la partie antérieure du périnée, est constitué par deux corps caverneux et un corps spongieux

## 1.2. La spermatogénèse

La spermatogénèse est le processus de transformation de cellules souches appelées spermatogonies en gamètes males ou spermatozoïdes. Elle comporte plusieurs phases (fig. 2) :

- La phase de multiplication :** où une spermatogonie se divise en deux cellules toujours diploïdes ( $2n$  chromosomes) appelées spermatocytes de 1er ordre (I).
- La phase d'accroissement :** ces spermatocytes de 1er ordre (I) deviennent plus volumineux avec des transformations de la chromatine. Ceci correspond à la prophase de la première division de méiose.
- la phase de maturation :** le spermatocyte I se divise en deux spermatocytes de 2<sup>ème</sup> ordre (II) qui sont haploïdes ( $n$  chromosomes) par une mitose réductionnelle. Enfin, le spermatocyte II se transforme en spermatide qui ne se divisera plus.

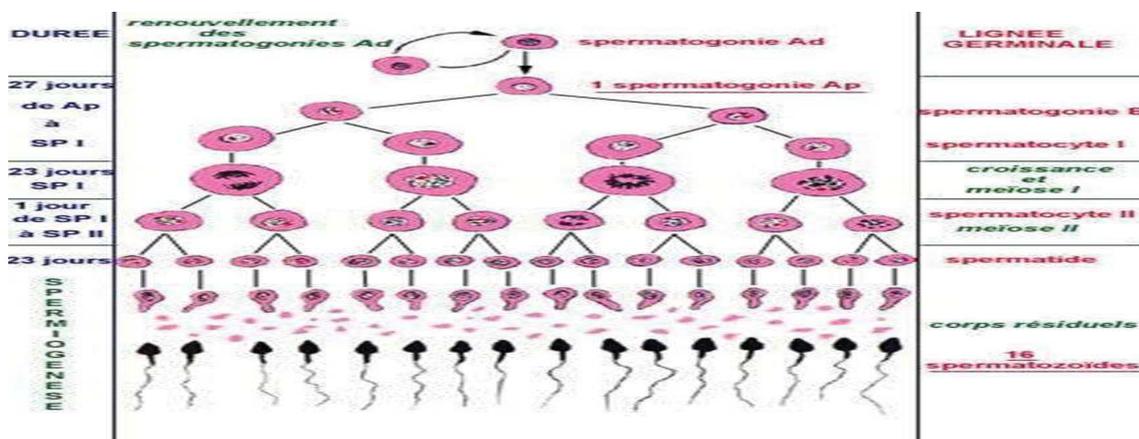


Figure. 2 : La spermatogénèse [6].

### d) La spermatogénèse (fig. 2 et 3) :

C'est la dernière phase de différenciation ; étape capitale pendant laquelle le spermatide se transforme en spermatozoïde définitif, c'est-à-dire il perd son cytoplasme superflu et est doté d'une queue. Les spermatozoïdes acquièrent leur mobilité ainsi que leur pouvoir fécondant au cours de la traversée de l'épididyme et du canal déférent. Ce pouvoir fécondant n'est d'ailleurs complet qu'après le parcours des voies génitales féminines (capacitation).

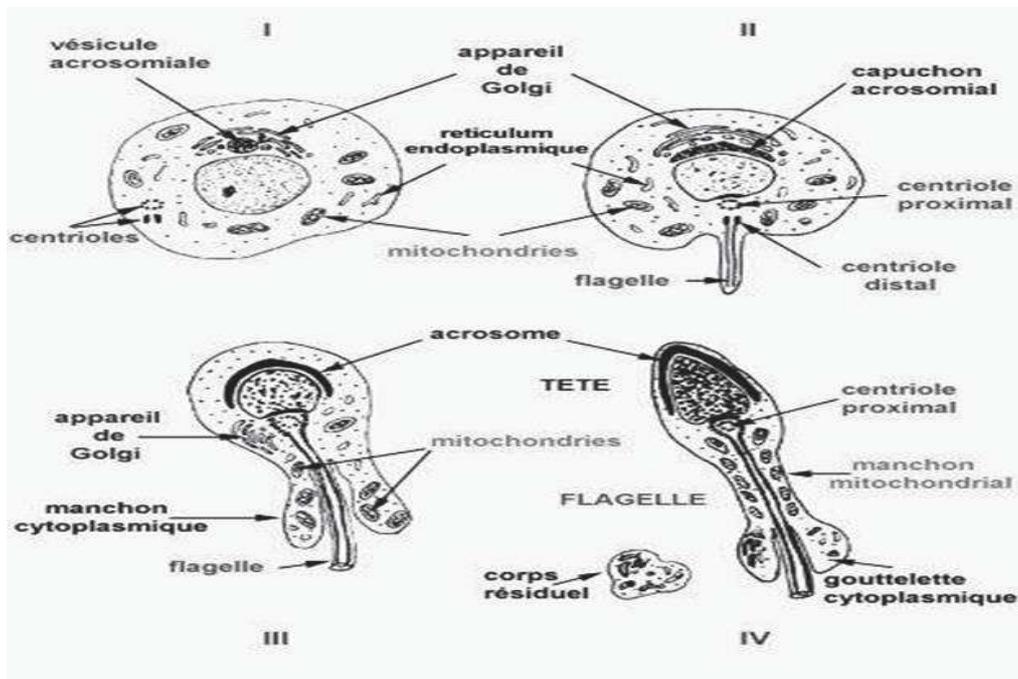


Figure 3: Spermiogénèse [6].

## 2. Régulation hormonale de la spermatogénèse

L'installation de la spermatogénèse à la puberté et son maintien dépendent d'un contrôle hormonal hypothalamo-hypophysaire.

### 2.1. Action des gonadotrophines

La FSH en est l'hormone hypophysaire essentielle. Elle est responsable du déclenchement et du maintien de la spermatogénèse. Elle agit sur les tubes séminifères par l'intermédiaire des cellules de Sertoli pour assurer le bon déroulement de la spermatogénèse. Elle agit aussi directement sur les multiplications goniales. La LH joue aussi un rôle indirect. Elle agit sur les cellules de Leydig qui produisent la testostérone. Celle-ci, en synergie avec la FSH, entraîne la production par la cellule de Sertoli d'une protéine de liaison appelée ABP (Androgen Binding Protein). La liaison de l'ABP aux androgènes permet le maintien d'une concentration

élevée d'androgènes dans le tube séminifère, nécessaire à la poursuite de la méiose et de la spermiogenèse.

## **2.2. Contrôle de la sécrétion des gonadotrophines**

Ce contrôle résulte de mécanismes complexes encore mal élucidés. Le contrôle principal est assuré par une neuro-hormone, la LH-RH ou Gn-RH (Releasing-Hormone) d'origine hypothalamique de sécrétion pulsatile et de demi-vie courte (4 minutes). La sécrétion de la LH est contrôlée par le taux de testostérone et de dihydrotestostérone. La testostérone agit au niveau central en diminuant la fréquence des pulsations sécrétoires de LHRH (feed back négatif). Elle exerce également un effet inhibiteur au niveau hypophysaire. En ce qui concerne la FSH, c'est une hormone d'origine tubulaire appelée « inhibine » qui est responsable de feed back négatif entre FSH et activité spermatogénétique [10].

## **3. Le sperme**

### **3. 1. Définition**

Le sperme résulte du mélange lors de l'éjaculation de différentes sécrétions du testicule, du tractus génital et des glandes annexes. Il comprend :

- Une phase cellulaire : les spermatozoïdes.
- Une phase liquidienne : le plasma séminal.

### **3.2. Les différentes fractions du sperme**

Lors de l'examen, le sperme est projeté par saccades et il a été ainsi démontré qu'il existe un fractionnement de l'éjaculat. Celui-ci comprendrait :

- Une fraction pré-spermatique (5 à 20 % du volume total) ; le liquide est très fluide et comprend les sécrétions mélangées des glandes de Cowper et des glandes urétrales. Elle peut contenir jusqu'à 5 % des spermatozoïdes.
- Une fraction spermatique (30 à 50 % du volume total) ; c'est la fraction principale de l'éjaculat contenant la grande majorité des spermatozoïdes (46 à 80 %). Les sécrétions proviennent de l'ampoule du canal déférent, de la prostate, des testicules et en partie des vésicules séminales.

- Une fraction post-spermatique (13 à 32 % du volume total) ; elle renfermerait les sécrétions des vésicules séminales. Elle peut aussi contenir les spermatozoïdes dont un fort pourcentage serait mort ou altéré. Toutefois, il est nécessaire de recueillir l'éjaculat total pour un bon examen du sperme [11].

### 3.3. Le liquide séminal

Il constitue la fraction liquidienne du sperme, très hétérogène. Il contient de nombreux constituants organiques, inorganiques et de multiples enzymes. Ces différents éléments proviennent des sécrétions des cellules glandulaires du tractus génital mâle. Le liquide séminal est obtenu par centrifugation du sperme ; il comprend les 9/10 èmes de l'éjaculat. Il reflète donc les sécrétions de l'ensemble des sécrétions des glandes accessoires et de tout l'épithélium glandulaire qui tapisse le tractus génital masculin : prostate, vésicules séminales, glandes de Cowper, ampoule du déférent, épидидyme, et autres glandes situées le long de la paroi du canal urétral et des voies génitales.

## 4. Influence de certains facteurs sur la spermatogenèse

### 4.1 Facteurs physiologiques

- **Nutrition** : le déroulement de la spermatogenèse humaine nécessite un rapport quantitatif et qualitatif convenable de protéines notamment certains acides aminés dont l'arginine, les acides gras et les vitamines (A, C, E par exemple).

- **Vascularisation testiculaire** : le testicule est vascularisé par l'artère testiculaire ; il est très sensible à l'ischémie [10], [12], [13].

### 4.2 Facteurs physiques

- **Température** : le testicule est très sensible aux variations de température. L'exposition de l'individu à de fortes chaleurs entraîne une oligospermie obtenue par des hyperthermies thérapeutiques [14].

- **Radiations et spermatogenèse** : on connaît très bien le rôle néfaste qu'entraîne l'irradiation testiculaire par certaines doses de rayons X ou de rayonnements gamma. Les lésions possibles peuvent aller depuis la destruction des spermatogonies jusqu'à l'apparition d'aberrations chromosomiques [13].

### 4.3 Facteurs pharmacologiques

Ils sont nombreux :

- les anti-mitotiques
- certains antibactériens : nitrofurantoïne, gentamicine
- les stéroïdes sexuels
- alcool, tabac, drogue.

### 4.4 Facteurs exogènes

Il s'agit du stress et des conflits socio-professionnels [15].

## 5. Causes d'infertilité chez l'homme

D'après une étude multicentrique [16], les principales anomalies du sperme en cause dans l'infertilité sont répertoriées sur la (fig.4).

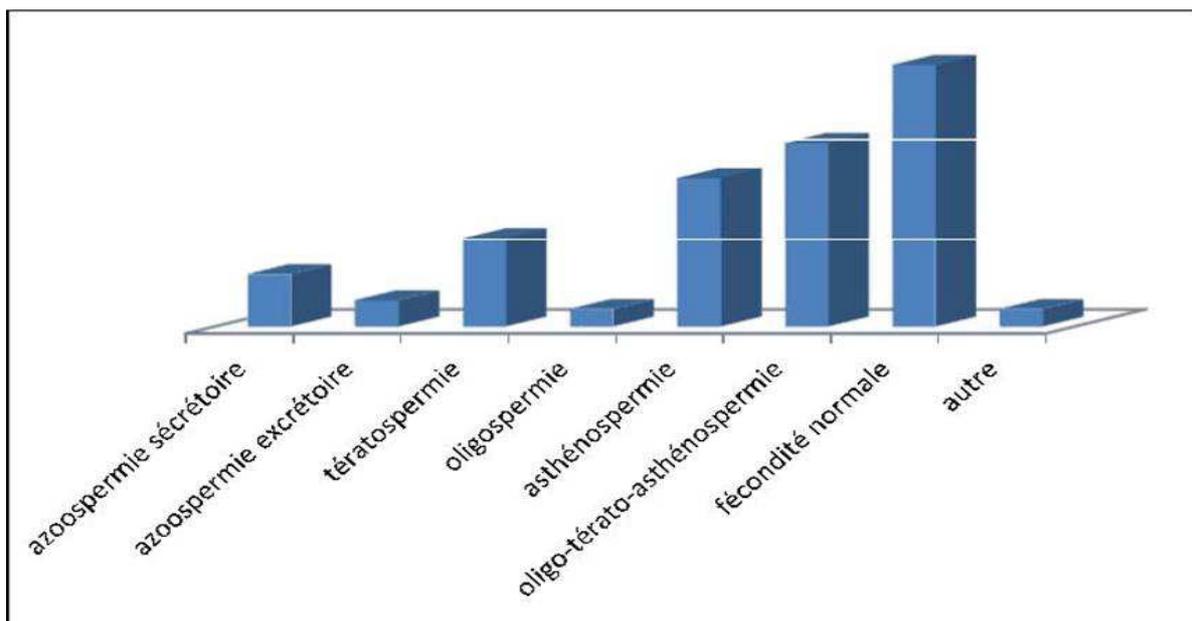


Figure 4. Anomalies du spermogramme chez les hommes consultant pour infertilité [16].

Les étiologies de l'infertilité chez l'homme sont répertoriées dans le tableau 1

**Tableau I. Les principales causes d'hypofertilité chez l'homme.**

Niveau de l'anomalie	Causes	
<b>Production des gamètes</b>	<b>Nulle</b>	<b>Azoospermie non obstructive :</b> -Cryptorchidie bilatérales -Orchite virale (oreillons) -Causes génétiques (Klinefelter) <b>Azoospermie obstructive :</b> -Agénésie bilatérale vésico-différentielle -Séquelles d'infection
	<b>insuffisante</b>	<b>Oligozoospermie :</b> -Cryptorchidie unilatérale -Causes hormonales -Prise de toxiques, de médicaments -Auto-immunisations (ACAS)
	<b>anormales</b>	<b>Tératozoospermie</b>
<b>Transit des gamètes</b>	<b>Azoospermie obstructive congénitale :</b> Agénésie bilatérale vésico-différentielle	
	Azoospermie obstructive acquise : Séquelles d'infection	
<b>Troubles de l'éjaculation : Anéjaculation, éjaculation rétrograde</b>	<b>Lésions neurologiques</b> (diabète, séquelles de chirurgie de la prostate, accident de la voie publique)	
	<b>Médicaments</b> (psychogènes par exemple)	

On distingue aussi des facteurs de risque d'infertilité chez l'homme [17]:

- **Des facteurs urologiques**

Les antécédents traumatiques, de torsion testiculaire uni- ou bilatérale, une cryptorchidie opérée ou non constituent un facteur de risque d'azoospermie (X5). La présence d'une varicocèle multiplie le risque d'oligoasthénospermie par 4. Les antécédents d'infection sexuellement transmissible (IST) multiplient le risque d'infertilité par 2.

- **Des facteurs liés au mode de vie**

L'absorption habituelle de toxiques (alcool, tabac, drogue) et la malnutrition (vitamines A, C, E, AA) entraînent d'une diminution de la numération spermatique. La spermatogenèse est aussi altérée par l'exposition prolongée à la chaleur et par la prise de certains médicaments et aux perturbateurs endocriniens (pesticides, bisphénol A, phtalates).

- **L'âge**

Ce facteur intervient mais de façon moins prépondérante que chez la femme : il existe une diminution du nombre de spermatozoïdes produits du fait de l'augmentation du tissu de soutien du testicule (albuginée principalement). Ces altérations spermatiques ne s'observent significativement qu'après 55 ans.

## **6. Bilan de l'infertilité**

Le bilan d'infertilité est une étape importante dans la prise en charge d'un couple infertile en vue d'une prise en charge en AMP. Aussi la question qui se pose est : quelle est la part respective des facteurs féminins et masculins contribuant à cette infécondité ? Les deux partenaires doivent être explorés de manière rationnelle et progressive. L'examen féminin est brièvement rappelé. Le bilan masculin sera ensuite détaillé, en particulier l'examen de la morphologie du sperme qui fait l'objet de ce travail.

### **6.1. Interrogatoire**

L'interrogatoire doit être méthodique, éventuellement structuré par l'utilisation d'un questionnaire-type, pour identifier tous les facteurs potentiels d'infertilité. Il précise tout d'abord la nature de l'infertilité : primaire ou secondaire en cas de paternité antérieure, sa durée, l'âge de la partenaire et les résultats des explorations et traitements déjà réalisés. Les

conditions et la qualité de la sexualité du couple doivent également être étudiées : contexte psychologique et social, fréquence des rapports sexuels au moment de l'ovulation, présence ou non de troubles érectiles et/ou éjaculatoires, utilisation de lubrifiants potentiellement toxiques pour les spermatozoïdes. Les antécédents familiaux d'infertilité, de fausses couches spontanées à répétition ou d'anomalies chromosomiques, les antécédents médicaux et chirurgicaux personnels peuvent orienter vers une cause congénitale ou génétique. Les prises médicamenteuses passées et actuelles peuvent modifier la libido, l'éjaculation et la spermatogenèse de manière plus ou moins définitive. Enfin, certaines expositions professionnelles ou toxiques environnementales (tabagisme, intoxication éthylique chronique, cocaïne, marijuana, etc.) sont à risque pour la fertilité masculine [18].

## 6.2. Examen clinique

- A l'inspection, on recherche des signes de carence androgénique et de dysfonction endocrinienne (répartition gynoïde des graisses, raréfaction de la pilosité pubienne et thoracique, gynécomastie...), ainsi que les cicatrices chirurgicales abdominales et inguinales.

- L'examen physique doit être général mais une attention particulière doit être donnée à l'examen des organes génitaux :

- L'examen du pénis : recherche un hypospadias très postérieur rendant l'éjaculation inefficace...

- La palpation des testicules et la mesure de leur taille : le volume de la glande testiculaire est lié à la spermatogénèse [19].

Ce volume peut être évalué à l'aide d'un orchimètre ou d'un pied à coulisse. Le testicule est hypotrophique si son volume est compris entre 6 et 15 ml et atrophique en deçà de 6 ml.

L'atrophie testiculaire permet de poser le diagnostic de l'infertilité sécrétoire (absence de production des spermatozoïdes). Cet examen permet parfois de découvrir un cancer testiculaire, une ectopie...

- La présence et la palpation des canaux déférents : à la recherche de signes obstructifs de la voie séminale. En effet, l'absence des déférents évoque une agénésie congénitale bilatérale des déférents (ACBD) alors que la présence de nodules avec une consistance dure des déférents évoque une cause infectieuse (tuberculose génitale...).

- La recherche de varicocèle, hydrocèle.
- Le toucher rectal est fortement recommandé : état de la prostate et des vésicules séminales.

### **6.3. Bilan para clinique de première intention**

#### **A. Spermogramme et spermocytogramme**

Le spermogramme est un élément incontournable de l'évaluation de la fertilité masculine. Le recueil du sperme doit être réalisé au laboratoire, par masturbation, après un délai de 2 à 5 jours d'abstinence. Des valeurs de référence ont été définies par l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) [2].

##### ***A.1. Le recueil***

Lors de la prise de rendez-vous le patient doit recevoir des informations claires sur les modalités du recueil. Il est impératif de recommander un délai d'abstinence sexuelle de 2 à 5 jours avec un maximum de 8 jours sans éjaculation car les paramètres du sperme varient en fonction de l'abstinence sexuelle. Le recueil s'effectue au laboratoire.

##### ***A.2. L'examen macroscopique***

- La viscosité : le sperme est normalement liquéfié au bout d'une demi-heure.
- Le volume normal est supérieur à 1,5 ml (OMS 2010) [2]. L'OMS recommande la pesée de l'éjaculat dans son réceptacle. Il peut être directement mesuré à la pipette graduée.
- Le pH est compris entre 7,2 et 8. Inférieur à 7, il évoque une atteinte des vésicules séminales (sécrétions basiques). Supérieur à 8, il oriente vers une pathologie prostatique.

##### ***A.3. L'examen microscopique***

- La numération des spermatozoïdes (normale supérieure à 15 M/ml)
- Oligozoospermie si concentration inférieure à 15 M/ml
- Azoospermie si aucun spermatozoïde n'est retrouvé sur au moins deux spermogrammes à trois mois d'intervalle.

- la numération des cellules rondes (cellules urétrales, cellules de la lignée germinale et leucocytes).

En cas de cellules de la lignée germinale supérieure à 10% de la numération des spermatozoïdes, il peut exister un trouble de la spermatogenèse. Un taux de leucocytes supérieur à 5% est une leucospermie et évoque une infection.

- Les agglutinats incitent à rechercher des anticorps anti-spermatozoïdes (ACAS).

- La vitalité : La nécrospermie (moins de 58% de spermatozoïdes vivants) évoque une infection.

-La mobilité : selon la classification de la dernière édition 2010 de l'OMS, le pourcentage normal de spermatozoïdes mobiles progressifs rapides et lents (a+b) est supérieur à 32% et supérieur à 40% de spermatozoïdes mobiles (a+b+c). En dessous c'est une asthénospermie.

Les valeurs normales des paramètres spermatiques sont récapitulées dans le tableau 3-4.

**Tableau II: Normes des paramètres spermatiques (OMS 2010) [2].**

Paramètres spermatiques	Normes OMS 2010
Volume	> 1,5 ml
Numération des spermatozoïdes (par ml)	> 15 millions/ml (M/ml)
Numération des spermatozoïdes (par éjaculat)	> 39 millions
Mobilité des spermatozoïdes à la première heure après l'éjaculation.	Mobilité progressive a+b : > 32 % Mobilité a+b+c : > 40 %
Morphologie normale des spermatozoïdes	> 4 % (critères stricts)
Leucocytes	< 1 million/ml
pH	entre 7,2 et 8
Vitalité des spermatozoïdes	> 58 %

## B. Le spermocytogramme

Le spermocytogramme est l'appellation usuelle pour définir l'analyse morphologique des spermatozoïdes humains qui évalue les anomalies morphologiques et notamment le pourcentage de formes typiques (FT). Plusieurs classifications sont utilisées dans le monde. Nous détaillons dans ce chapitre la classification de David qui est encore utilisée en France et la classification de Kruger, classification internationale recommandée par l'OMS.

### *B.1. Classification de David (David et al, 1975) [20].*

La méthode de David a été proposée en 1972 lors d'un colloque sur la fécondité et la stérilité masculine et a été publiée en 1975.

Cette classification comportait au départ treize anomalies, sept pour la tête et six pour le flagelle. L'originalité de la méthode repose sur la prise en compte de toutes les anomalies observées grâce à un système de classification à entrées multiples : un spermatozoïde porteur de plusieurs anomalies est défini par l'ensemble de ses anomalies c'est-à-dire qu'il figure plusieurs fois dans la grille de classement à chacune des anomalies concernées. Depuis les années 1970, de nombreux laboratoires français, publics et privés, ont adopté cette classification, et à l'initiative de plusieurs biologistes, elle a été modifiée et améliorée

Au début des années 1990 par l'équipe de Jouannet [21] qui a introduit l'IAM (Indiced'Anomalies Multiples) puis par Auger & Eustache, 2000[22]. L'IAM est systématiquement calculé et représente le nombre moyen d'anomalies associées par spermatozoïde anormal (normal <1,6).

La classification de David a été largement utilisée et l'est encore en France. Le pourcentage de FT normal est supérieur à 30% dans cette classification. En dessous de ce seuil on parle de détérioration de la spermatogenèse.

La classification de David recense en dehors des spermatozoïdes morphologiquement normaux :

- **sept anomalies de la tête** : têtes allongées, amincies, microcéphales, macrocéphales, multiples, acrosome anormal ou absent et base (région post acrosomique) anormale.
- **Trois anomalies de la pièce intermédiaire (PI)** : reste cytoplasmique, PI grêle et PI angulée.

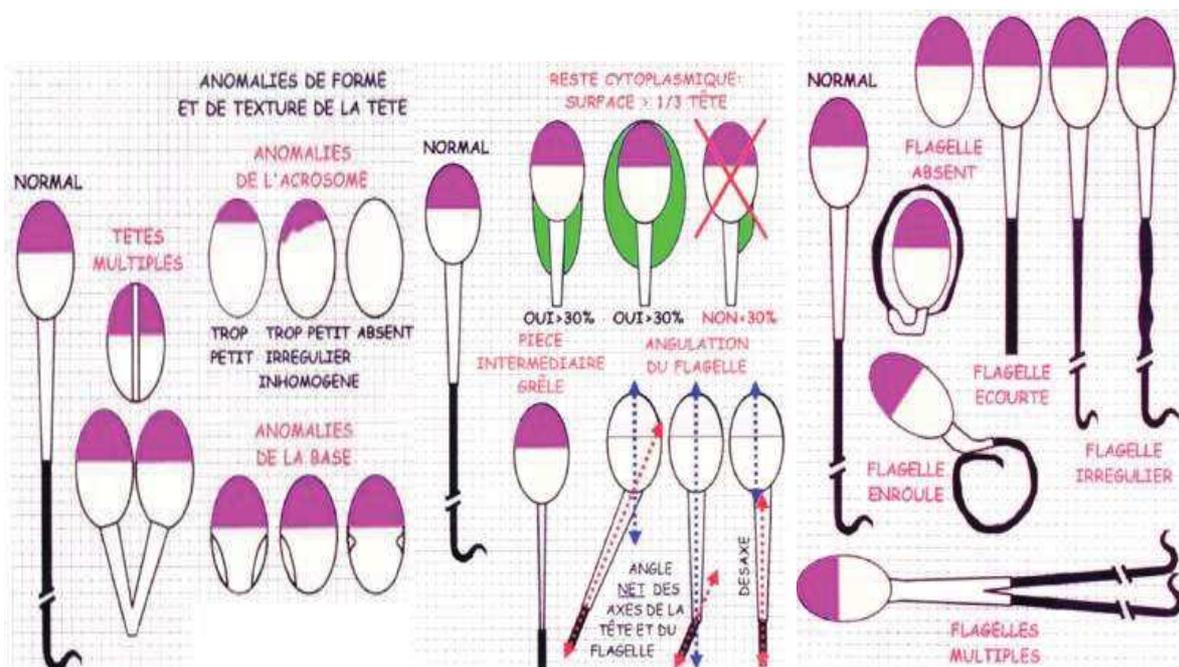
• **cinq anomalies de la pièce principale** : absente, écourtée, de calibre irrégulier, enroulé et multiple.

-**La tête** a un contour très régulier ovalaire avec un grand axe mesurant 5µm et un petit axe mesurant 3µm. (Rapport grand axe/petit axe=1,66). L'acrosome doit couvrir 40 à 70% de la surface de la tête, avoir un contour régulier et une texture homogène.

-**La pièce intermédiaire** normale peu visible en microscopie conventionnelle. Elle mesure 1,5fois la longueur de la tête, a un diamètre de 0,6 à 0,8 µm. Son grand axe est dans le prolongement du grand axe de la tête. Elle présente un contour régulier et une texture homogène.

-**La pièce principale**, c'est-à-dire le reste du flagelle mesure environ 45 µm (soit environ 10fois la longueur de la tête), a un diamètre de l'ordre de 0,4 à 0,5 µm et doit avoir un contour régulier et un aspect homogène.

**Figure 5 : Anomalies des spermatozoïdes : classification de David.**



### **B.2. Classification de Kruger (critères stricts)**

La classification de Kruger (du nom de son inventeur) apporte des critères très stricts pour définir un spermatozoïde normal. Par ordre d'importance, l'anomalie est recensée d'abord sur la tête, puis viennent dans l'ordre les anomalies de l'acrosome, de la pièce intermédiaire et du flagelle. C'est la classification recommandée par l'OMS.

**La tête** doit être lisse, avec un contour régulier, ovale et symétrique. Elle mesure de 3 à 5 µm de grand axe et de 2,5 à 3,5 µm de petit axe. La région acrosomique doit représenter entre 40 et 70% de la tête [23]. La région acrosomiale ne doit contenir aucune grande vacuole et pas plus de deux petites vacuoles qui ne doivent pas occuper plus de 20% de la tête du spermatozoïde. La région post acrosomique ne doit contenir aucune vacuole.

**La pièce intermédiaire** doit être mince, régulière et implantée dans l'axe médian de la tête du spermatozoïde. Elle mesure de 5 à 8 µm et a une épaisseur de 0,5 µm. Le résidu cytoplasmique est considéré comme anormal lorsqu'il est supérieur au tiers de la taille de la tête du spermatozoïde [24].

**La pièce principale** doit avoir un calibre uniforme sur toute sa longueur, plus mince que la pièce intermédiaire et mesure environ 45 µm de long.

L'index de tératozoospermie (TZI) peut être calculé. Il correspond au nombre moyen d'anomalies par spermatozoïde anormal. Une valeur supérieure à 1,46 va dans le sens d'une hypofertilité [23].

Trois groupes ont ainsi été individualisés en fonction du pourcentage de spermatozoïdes typiques et la valeur pronostic sur leur pouvoir fécondant [25 ,26]:

- ✓ FT > 14 % : sperme normal
- ✓ 4 % < FT < 14 % : groupe G-pattern (groupe de bon pronostic)
- ✓ FT < 4 % : groupe P-pattern (groupe de mauvais pronostic).

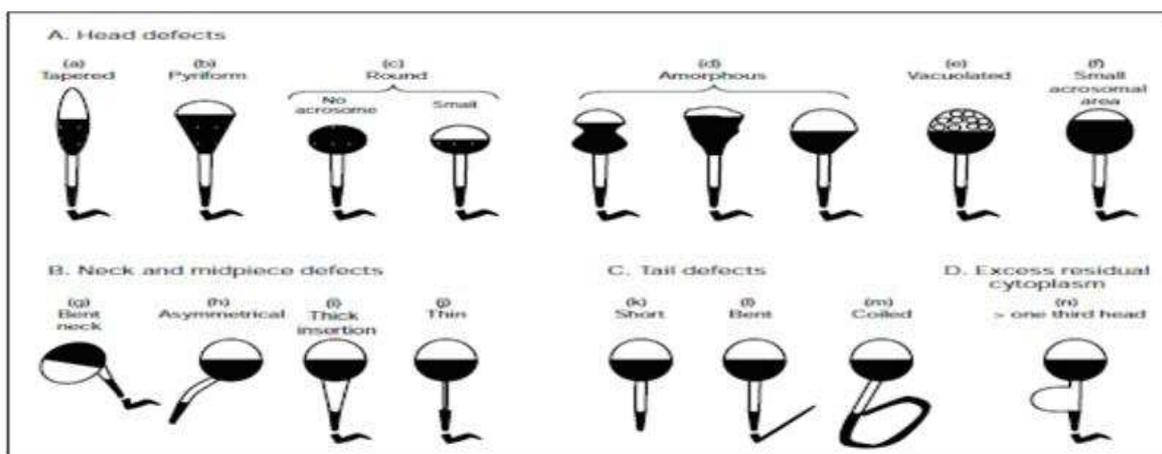


Figure 6 : Schémas de quelques anomalies des spermatozoïdes. (Extrait du manuel del'OMS 2010).

## **7. Analyse semi-automatisée ou CASA (Computer-aided sperm analysis)**

Le principe d'analyse d'images au potentiel d'apporter des avancées majeures en termes de quantification, d'objectivité et de reproductibilité pour l'analyse de la morphologie spermatique. Plusieurs systèmes sont actuellement commercialisés. Ils réalisent l'analyse de la morphologie de la tête et de la pièce intermédiaire du spermatozoïde et parfois de la pièce principale. Le système CASA (Computer-assisted sperm analysis) classe généralement la tête et la pièce intermédiaire du spermatozoïde comme normale ou anormale. Le résultat donne aussi la moyenne des dimensions de la tête et de la pièce intermédiaire, l'ellipticité et la régularité de la tête ainsi que la mesure de l'aire de l'acrosome, cette dernière étant très dépendante de la qualité de la coloration (seules les colorations Diff-Quick ou de Papanicolaou sont recommandées) [26]. Dans notre étude, nous utilisons le système commercialisé par MICROPTIC.

### **1 .Notion de CASA**

CASA (figure 7) est l'acronyme de « Computer-Assisted Semen Analysis » en Anglais qui peut se traduire en français par système informatisé d'analyse de sperme. Il constitue un outil qui est de plus en plus intégré dans les laboratoires de biologie médicale, permettant la réalisation de spermogrammes. Cet appareil facultatif est surtout utile dans les centres effectuant un grand volume d'analyses ou les centres spécialisés de fertilité (OPTMQ 2016)

Les systèmes CASA sont constitués d'un microscope optique, d'une caméra et d'un processeur (ordinateur). Les plus récents appareils permettent la mesure et le calcul de nombreux paramètres du spermogramme : la motilité, la concentration des spermatozoïdes, les caractéristiques morphométriques (telle la longueur, la largeur, le périmètre et surface de la tête, la longueur du flagelle) et les anomalies morphologiques (flagelle enroulé, cassé, vacuoles).

### **2. Morphologie spermatique et revue de la littérature**

La morphologie du spermatozoïde constitue un paramètre important dans l'exploration de la qualité du sperme d'un homme infertile. Cependant son évaluation est dépendante de la méthodologie utilisée et de l'entraînement de l'observateur. Le spermatozoïde est l'aboutissement d'un long processus de différenciation survenant au cours de la spermiogenèse et de la maturation durant le transit épидидymaire. Chacune de ces étapes peut être altérée avec pour conséquence une production excessive de spermatozoïdes anormaux

appelée tératozoospermie. Le seuil pathologique pour définir la tératozoospermie dépend des classifications utilisées. On parle de tératozoospermie isolée, lorsque les autres paramètres spermatiques sont normaux.

L'analyse de la morphologie spermatique est soumise à un nombre important de difficultés comme le manque d'objectivité avec des variations d'interprétation entre les différents laboratoires mais aussi dans un même laboratoire imputable à la subjectivité de la lecture humaine [2, 27]. Les variations observées sont également liées au manque de standardisation des méthodes d'examen [28] et au choix de la classification [29]. Il existe de nombreuses classifications dans le monde ce qui rend la standardisation de cet examen difficile. En 2010, l'OMS a publié un nouvel ouvrage qui a essayé de standardiser les pratiques et ainsi rendre à cet examen son intérêt diagnostique qui a baissé au fil des modifications des classifications.

### **3. CASA et revue de la littérature**

Les variations intra laboratoire et inter laboratoires pour l'analyse de la morphologie spermatique sont un phénomène bien connu pour toutes les classifications y compris pour les critères stricts [26]. Les études réalisées sur le sujet montrent que le personnel réalisant quotidiennement des spermocytogrammes a une nette tendance à être de plus en plus strict dans sa lecture au fil du temps [24, 30, 31, 32].

La comparaison entre les méthodes conventionnelles manuelles et l'analyse assistée par ordinateur a été effectuée pour l'examen morphologique des spermatozoïdes [30, 31]. La variation intra-opérateur est beaucoup plus élevée pour les méthodes conventionnelles que pour le CASA (coefficient de variation = 0,43 pour les méthodes conventionnelles contre 0,08 pour le CASA dans l'étude réalisée par Marnet B.). Cette étude a conclu que l'analyse par le CASA a une valeur prédictive légèrement supérieure aux techniques manuelles (critères stricts).

Quelques études ont montré que l'utilisation des systèmes automatisés (CASA) pour la morphologie spermatique permet une meilleure corrélation entre celle-ci et les résultats en FIV par rapport aux méthodes manuelles [33, 34] sans avoir les biais de reproductibilité et de répétabilité de ces dernières [27, 35]. Ces équipes ont montré de bons taux de fécondation pour un seuil de FT supérieur ou égal à 5%. Cependant des études complémentaires sont nécessaires pour confirmer ces travaux [33].

La reproductibilité et la précision des méthodes automatisées peuvent cependant être compromises par des défaillances méthodologiques comme la mise au point, l'illumination, la préparation de l'échantillon et la coloration [36] ainsi que par des difficultés techniques qui peuvent altérer la distinction entre la tête d'un spermatozoïde et un débris cellulaire, en particulier lorsque la concentration en spermatozoïdes est basse [35, 36]. Il semble que l'automate ne puisse pas compenser les défauts de préparation des lames d'échantillons de sperme ni les artefacts. De petites différences de niveau de gris de l'arrière-plan par rapport à la coloration des cellules peuvent aboutir à une classification incorrecte ou une incapacité à identifier les cellules comme des spermatozoïdes, ce qui aura pour conséquence l'altération de la fiabilité des résultats. De plus l'analyse du flagelle par ces méthodes est incomplète. L'argument de la société de commercialisation de l'appareil est que le flagelle est mieux analysé par l'étude de la mobilité [30]. Enfin le système ne peut pas réaliser l'analyse lorsque les numérations en spermatozoïdes sont trop basses.

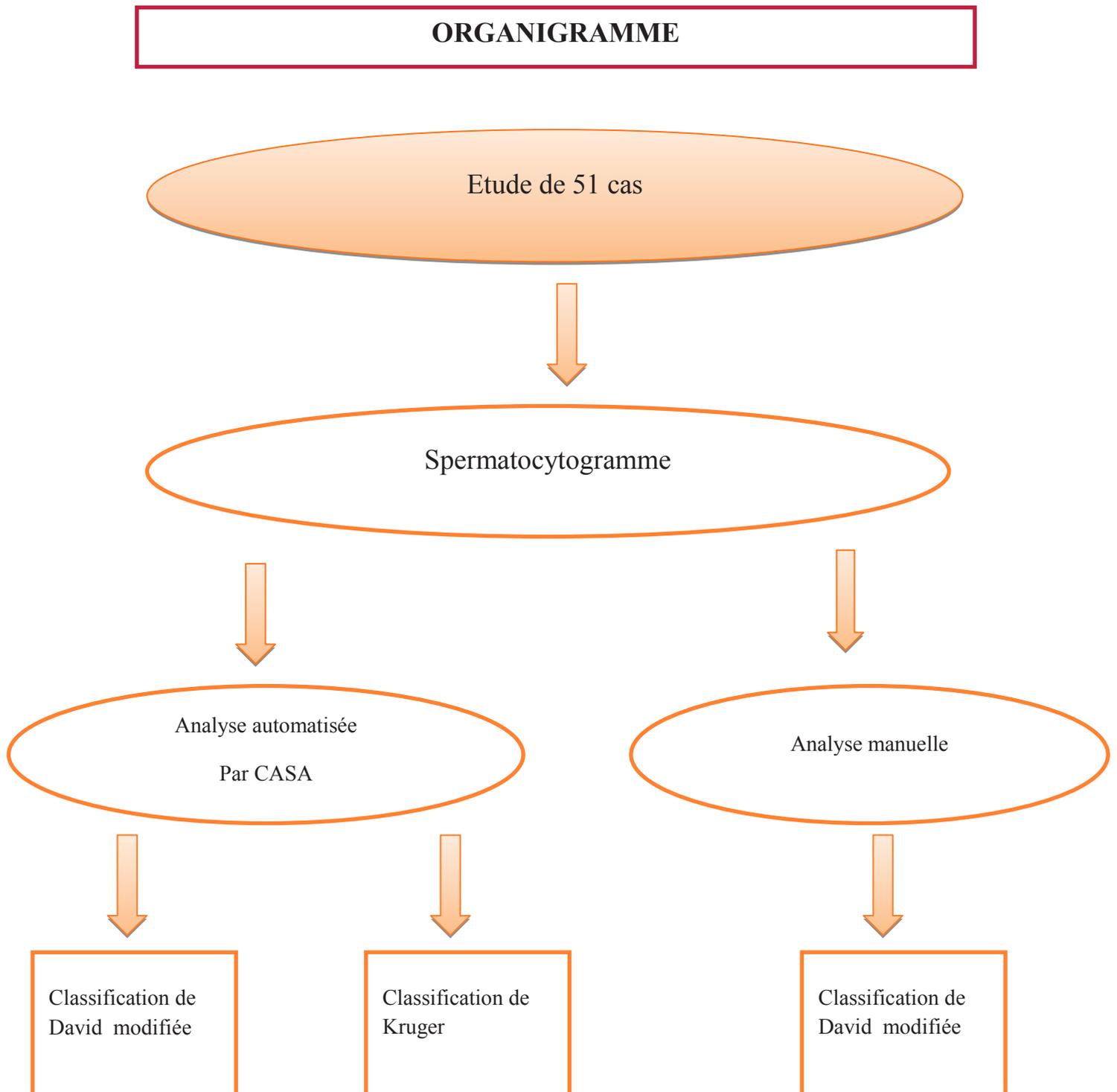
La préparation du sperme pour l'analyse sur CASA doit être réalisée selon un protocole bien précis (détaillé dans l'OMS 2010, 5ème édition et dans l'étude de Coetzee et al, 1997) [37] et il est recommandé d'analyser au moins 200 spermatozoïdes [35] pour pallier à ces biais.



**Figure 7 : Computer-Assisted Sperm Analysis**

# **Chapitre II:**

## **Matériel et méthodes**



**Figure 8:** Organigramme montre la méthodologie du travail.

**Pour ce travail nous avons utilisé le matériel suivant :****1. Matériels**

## 1) Appareillage :

1. **CASA** : Nous avons utilisé l'analyseur automatisé du sperme SCA v.5.4 dans notre étude.

Le système SCA est composé d'un microscope équipé, d'une caméra numérique, d'une platine chauffante motorisée, et d'un logiciel d'analyse d'images (Microptic SL\*) équipé d'un filtre analytique qui permet d'éliminer les événements d'analyse incohérents (débris cellulaires, têtes ou flagelle isolés).

2. microscope olympus

3. Etuve.

4. Agitateur vortex.

5. spermoscore 104

## 2) matériel biologique :

1) le sperme

## 3) petits matériels :

1. Micropipette : 10 $\mu$ .

2. Lame et lamelle.

3. porte-lames

4. Pot stérile.

5. Des gants stériles

## 4) Réactifs et milieux :

1. Ethanol.
2. L'eau.
3. L' Hématoxyline de Harris.
4. Alcoolammniacal.
5. Colorant Shorr
6. Embouts stériles.

## 2. Cadre d'étude:

Notre étude prospective a été menée au service de spermiologie de centre de procréation médicale assisté TIZIRI et au laboratoire de biotechnologie de la reproduction de l'institut vétérinaire LBRA, pendant une période de deux mois (Avr - Mai, 2018).

### Objectif :

L'objectif du présent travail est :

- L'automatisation de l'analyse de la morphologie du sperme par le système sperme class analyser «SCA ».

### Sujets :

Tous les sujets (n=51) impliqués dans cette étude étaient des partenaires masculins de couples venus consulter pour infertilité au service de spermiologie de centre de procréation médicale assisté TIZIRI.

## 3. Spermatocytogramme :

### But :

Evalue la forme et permet de comptabiliser le nombre de spermatozoïdes typique et atypique.

Les Anomalies des différentes parties des spermatozoïdes : tête, pièce intermédiaire et flagelle.

### Principe :

C'est un examen cytologique après coloration du frottis spermatique.

## 4. Méthodes :

Les analyses étaient effectuées après :

- ❖ Un délai d'abstinence de 3 à 5 jours ;
- ❖ Un lavage du gland avec du savon antiseptique ;
- ❖ Un prélèvement au laboratoire par une stimulation manuelle des organes génitaux (Masturbation).

Les éjaculats étaient gardés à 37°C dans l'étuve pendant vingt minutes pour permettre la liquéfaction du sperme.

Nous avons effectué pendant la période d'étude 51 examens de sperme portant sur le spermocytogramme.

### **Mode opératoire :**

La détermination de la morphologie des spermatozoïdes comprend les étapes suivantes :

- Réalisation de frottis
- Séchage à l'air
- Coloration
- Examiner le frottis sous l'huile à immersion
- Evaluer au moins 100 spermatozoïdes selon la classification de David par la méthode manuelle et automatisé et 200 spermatozoïdes selon la classification de Kruger par CASA.

#### **1. Réalisation de frottis :**

- Sur une lame avec bord, nous avons identifié l'échantillon par son numéro d'ordre attribué, à l'aide d'un crayon, car plus stable pendant la fixation avec l'alcool.
- Nous avons déposé une goutte de 10 $\mu$  de sperme
- Nous avons étalé la goutte de sperme avec le bord arrière de la lamelle inclinée (45°) et tiré vers l'avant, ne pas laisser la goutte plus que quelques secondes.
- 

#### **2. Séchage de frottis :**

Nous avons séché les lames à l'air libre pendant de 6 à 24 H

#### **3. Coloration de frottis :**

C'est la coloration de SHORR qui est utilisée.

La coloration de HARRIS SHORR a montré un pourcentage similaire de forme normale que la coloration de papanicolaou [38] OMS 2010.

Nous avons déposé les lames sur le porte-lame.

Il est nécessaire de plonger et de déplacer brièvement les lames porte-lame dans les solutions ; une simple introduction donne des résultats de coloration insuffisants. Les lames porte-lame doivent être égouttées conformément aux procédures de coloration

pour éviter tout transfert non nécessaire des solutions. Pour obtenir un résultat de coloration optimal, il convient de respecter les durées indiquées.

#### 4. Lecture de frottis :

##### A. Classification de David modifiée :

Un spermatozoïde est défini comme étant normal lorsque :

-La tête a un contour très régulier ovalaire avec un grand axe mesurant  $5\mu\text{m}$  et un petit axe mesurant  $3\mu\text{m}$ . (Rapport grand axe/petit axe=1,66). L'acrosome doit couvrir 40 à 70% de la surface de la tête, avoir un contour régulier et une texture homogène.

-La pièce intermédiaire normale peu visible en microscopie conventionnelle. Elle mesure 1,5 fois la longueur de la tête, a un diamètre de  $0,6$  à  $0,8\mu\text{m}$ . Son grand axe est dans le prolongement du grand axe de la tête. Elle présente un contour régulier et une texture homogène.

-La pièce principale, c'est-à-dire le reste du flagelle mesure environ  $45\mu\text{m}$  (soit environ 10 fois la longueur de la tête), à un diamètre de l'ordre de  $0,4$  à  $0,5\mu\text{m}$  et doit avoir un contour régulier et un aspect homogène.

##### B. Classification de Kruger :

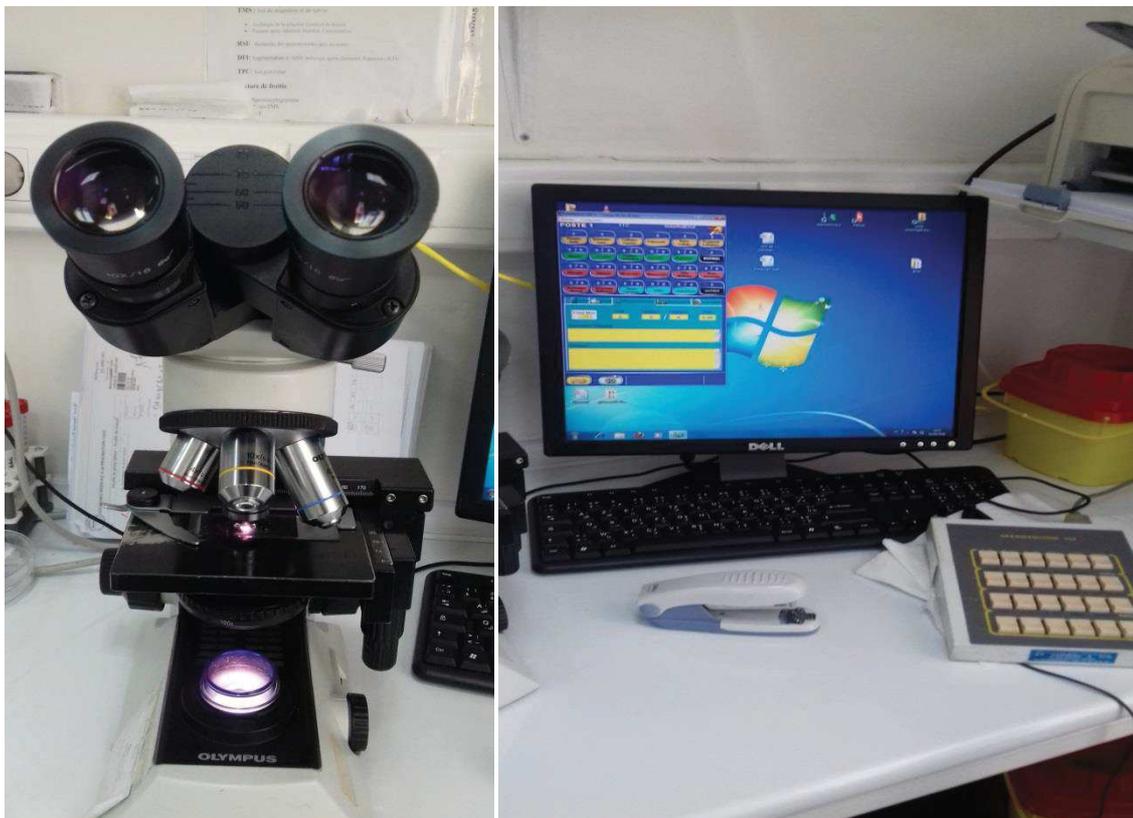
La tête doit être lisse, avec un contour régulier, ovalaire et symétrique. Elle mesure de  $3$  à  $5\mu\text{m}$  de grand axe et de  $2,5$  à  $3,5\mu\text{m}$  de petit axe. La région acrosomique doit représenter entre 40 et 70% de la tête [23]. La région acrosomiale ne doit contenir aucune grande vacuole et pas plus de deux petites vacuoles qui ne doivent pas occuper plus de 20% de la tête du spermatozoïde. La région post acrosomique ne doit contenir aucune vacuole.

La pièce intermédiaire doit être mince, régulière et implantée dans l'axe médian de la tête du spermatozoïde. Elle mesure de  $5$  à  $8\mu\text{m}$  et a une épaisseur de  $0,5\mu\text{m}$ . Le résidu cytoplasmique est considéré comme anormal lorsqu'il est supérieur au tiers de la taille de la tête du spermatozoïde [24].

La pièce principale doit avoir un calibre uniforme sur toute sa longueur, plus mince que la pièce intermédiaire et mesure environ  $45\mu\text{m}$  de long.

❖ **Lecture manuelle selon la classification de David modifiée:**

Au moins 100 spermatozoïdes, doivent être analysés. Les préparations colorées doivent être évaluées en lumière transmise, avec un objectif  $\times 100$  à immersion, sans anneau de phase. Pour une bonne évaluation morphologique détaillée, seules les cellules clairement reconnues comme spermatozoïdes sont comptées (fig. 8)



**Figure 9 :** le lecteur manuel par le microscope optique.

❖ **Lecteur automatisée selon la classification de David modifiée :**

La lame colorée est déposée sur la platine motorisée. L'analyse est effectuée sur 100 spermatozoïdes par le SCA en champ clair à l'objectif  $\times 100$  avec une caméra haute résolution à champ large qui permet la visualisation du flagelle. Après capture et analyse une vérification rapide des spermatozoïdes sélectionnés est effectuée.

### ❖ Lecteur automatisée selon la classification de Kruger :

Après l'analyse automatique de spermatozoïdes par la classification de David modifiée et l'enregistrement des résultats il nous suffit de changer la classification sur l'écran pour qu'apparaisse la modification dans les rapports (fig. 9). Sauf que l'analyse est effectuée sur 200 spermatozoïdes.

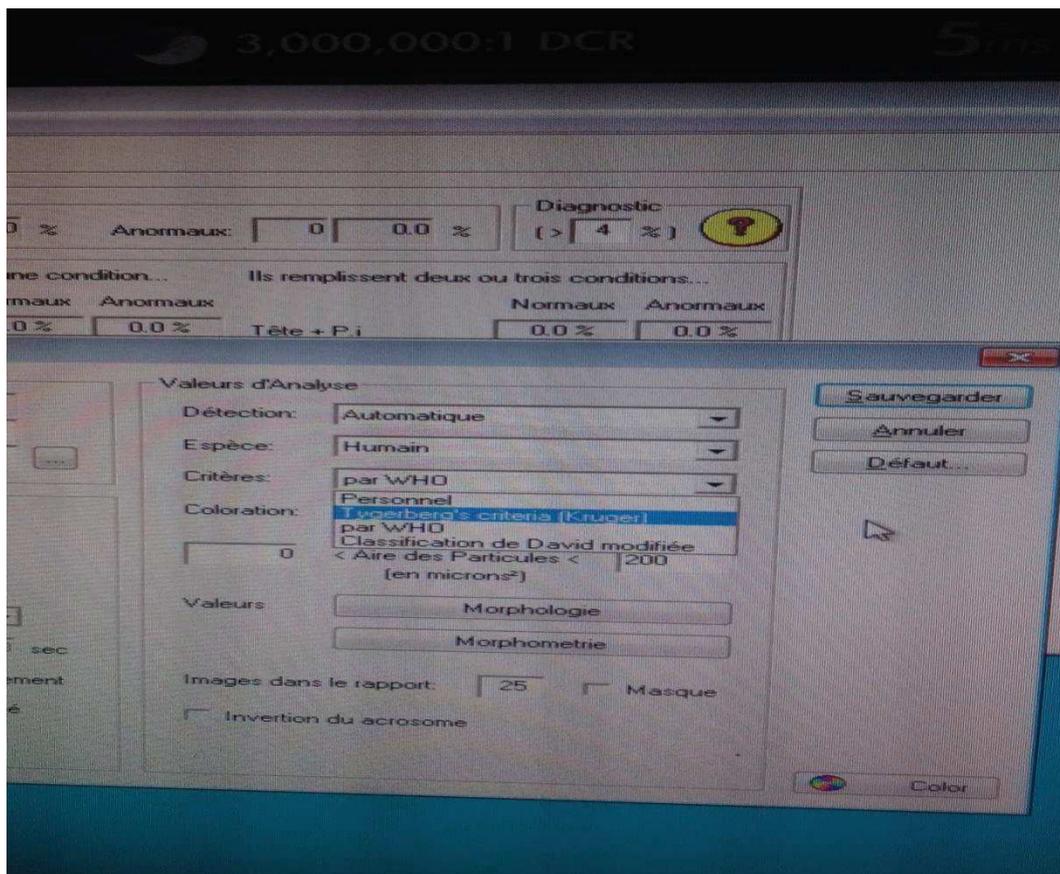


Figure 10 : le logiciel CASA

## 5. RECUEIL DES DONNÉES ET ANALYSE STATISTIQUE :

Les données ont été colligées dans un fichier Excel, et l'analyse statistique a été effectuée à l'aide d'un logiciel Statview® .

Description des variables qualitatives avec pourcentage, des variables quantitatives avec moyenne.

L'analyse comparative entre les méthodes concernant les variables quantitatives a fait appel à l'analyse de variance suivie du test de corrélation (pour des effectifs supérieurs à 30).

La comparaison des pourcentages a été faite par le test Khi2. Le test de corrélation de Spearman a été utilisé pour étudier une possible corrélation entre les méthodes d'analyses. La puissance et le sens de la corrélation sont connus grâce à la valeur du coefficient  $r$  (corrélation négative si  $r < 0$ , corrélation positive si  $r > 0$ ) ;

Les courbes de ROC ont été établies pour le nombre de spermatozoïdes typique, afin d'étudier les variations de la spécificité et de la sensibilité pour différentes valeurs seuils de discrimination.

Une analyse de régression logistique multinomiale (AUC : aire sous la courbe de ROC) a été utilisée pour déterminer le pouvoir de discrimination du pourcentage de l'analyse manuelle et l'analyse automatique.

L'interprétation de l'AUC s'effectue de la manière suivante [14] :

- parfaite séparation : 0,9-1 ;
- Excellente discrimination : 0,8-0,9 ;
- Discrimination acceptable : 0,7-0,8 ;
- Faible discrimination : 0,6-0,7 ;
- Absence de discrimination : 0,5-0,6.

Pour chacun des tests réalisés, une valeur de  $p$  inférieur à 5 % ( $p < 0,05$ ) a été considérée comme significative.

# **Chapitre III:**

## **Résultat et discussion**

Dans ce chapitre nous avons exposé l'ensemble des résultats et la discussion obtenus dans notre travail.

Le but principal de notre étude prospective était d'évaluer la morphologie des spermatozoïdes par la méthode manuelle selon la classification de David utilisé dans le CAMP TIZIRI et par la méthode automatisée par CASA selon la classification de David modifiée et la classification de Kruger.

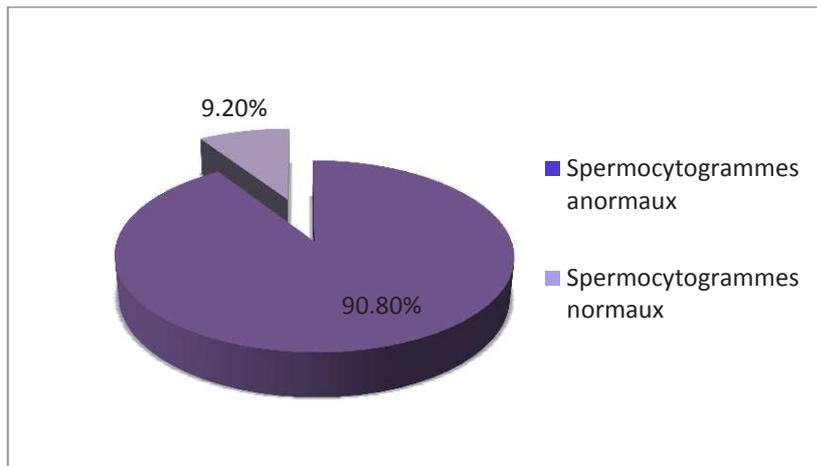
Nous nous sommes aussi intéressés au nombre des spermatozoïdes à analyser pour rendre un taux de FT fiable et à la concordance possible entre les deux classifications (David et critères stricts de Kruger en CASA).

La première partie de ce travail a consisté à utiliser la méthode d'analyse de la cytologie par la classification de David pour l'analyse de 100 spermatozoïdes. Le nombre de spermatozoïdes examinés est un élément important dans la standardisation de l'analyse du sperme. En 1994, Davis et Gravance [29] montrent qu'entre différents observateurs, le taux de FT atteint une stabilité avec l'analyse d'au moins 200 spermatozoïdes. Kruger et al. (1996) [34] indiquent que l'analyse d'au moins 100 spermatozoïdes est nécessaire. L'OMS 2010 et le manuel Bioforma (structure nationale qui organise la formation continue des biologistes) recommandent l'analyse d'au moins 100 spermatozoïdes et de préférence jusqu'à 200 spermatozoïdes afin d'améliorer la fiabilité du résultat.

## **I. Résultats globaux des données des spermocytogrammes:**

### **1. La méthode manuelle selon la classification de David :**

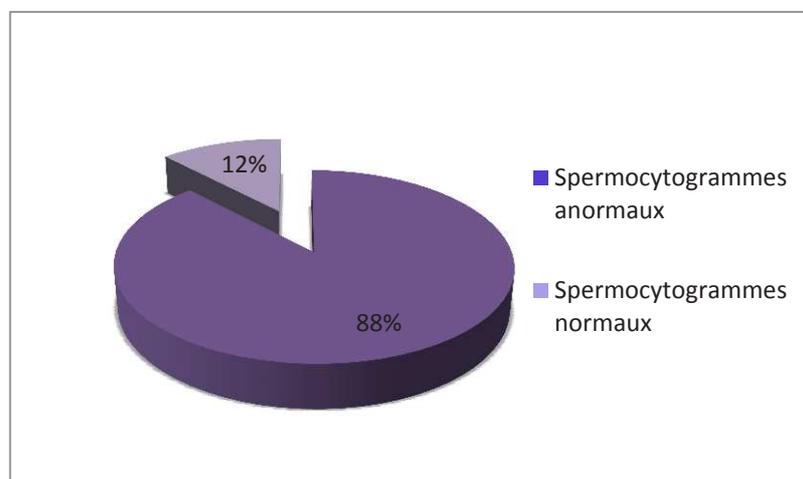
Nous avons constaté au cours de notre étude que sur les 51 patients, selon la classification de David modifiée, cinq (5) patients avaient des spermocytogrammes normaux ( $FT \geq 15\%$ ) soit 9.20% et 46 patients avaient des spermocytogrammes anormaux ( $FT \leq 15\%$ ) (Fig11).



**Figure 11 :** Répartition des patients en fonction de la normalité ou l'anormalité des résultats du spermocytogramme par la méthode manuelle selon la classification de David.

### 2. La méthode automatique selon la classification de David :

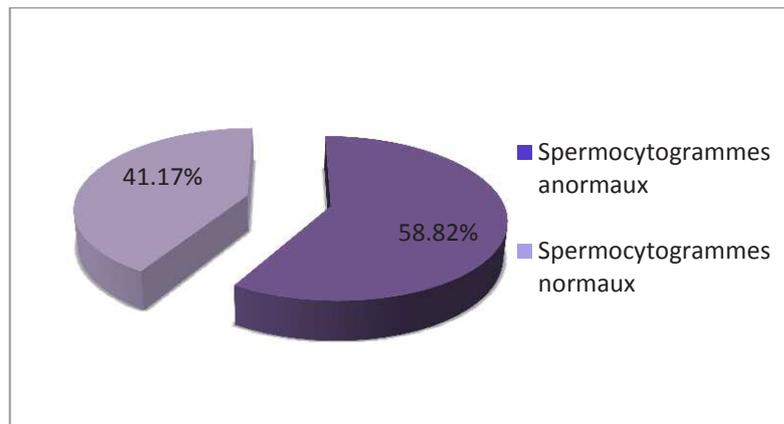
Sur les 51 patients, et selon la classification de David modifiée 6 patients ayant des spermocytogrammes normaux soit 12% .alors que 45 Patients ont présenté des spermocytogramme anormaux soit 88% (Fig12).



**Figure 12 :** Répartition des patients en fonction de la normalité ou l'anormalité des résultats du spermocytogramme La méthode automatique selon la classification de David.

### 3. La méthode automatique selon la classification de Kruger :

Par rapport à la classification de Kruger selon la méthode automatisée ,30 patients ayant des spermocytogrammes normaux soit 58.82% et 21 patients ont présenté des spermocytogrammes anormaux soit 42.18% (Fig13).



**Figure 13 :** Répartition des patients en fonction de la normalité ou l'anormalité des résultats du spermocytogramme par la méthode automatique selon la classification de Kruger.

## II. Comparaison des deux méthodes d'analyse des spermatozoides manuelles et par CASA selon la classification de David modifiée :

Dans un premier temps, nous avons cherché à savoir la concordance entre les patients ayant un spermocytogramme normal ou anormal par les deux méthodes selon la classification de David Modifiée (Tableau 7). Les résultats obtenus par le test de KH12 de Mc Nemer, démontrent une différence non significative ( $P=0,849$ ).

**Tableau III :** La concordance entre les résultats des deux méthodes (manuel, automatique).

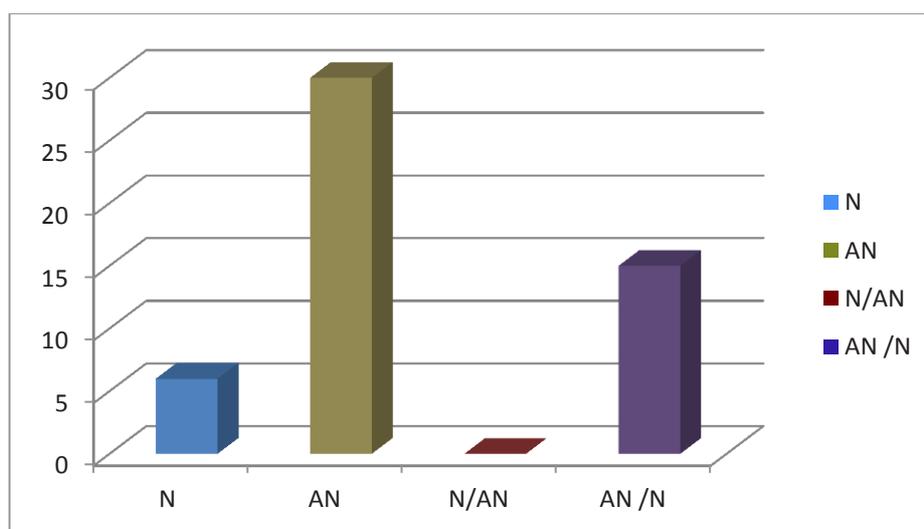
méthode Manuel	Méthode automatique	effectif
Normaux	Normaux	2
anormaux	anormaux	42
Normaux	anormaux	3
anormaux	normaux	4
total	total	51

La comparaison des résultats ne montre pas une différence significative, quoi que, nous constatons une discordance dans 07 cas, soit un pourcentage de 13,72% (tableau n illustré par la figure n). Ceci pourrait être expliqué par des mauvaises manipulations, une mauvaise interprétation ou encore comme il a été signalé dans la bibliographie, des petites différences

du niveau du gris de l'arrière-plan par rapport à la coloration des cellules peuvent aboutir à une classification incorrecte ou une incapacité à identifier les cellules comme des spermatozoïdes, ce qui aura pour conséquence l'altération de la fiabilité des résultats.

Une particularité de la classification de David est qu'elle inclut l'analyse du flagelle. Cette analyse du flagelle n'est pas complète avec le CASA. Par exemple l'IVOS reconnaît les spermatozoïdes avec un flagelle enroulé à son extrémité mais ne reconnaît pas ceux avec le flagelle complètement enroulé autour de la tête du spermatozoïde. On peut se demander si l'absence d'analyse du flagelle peut avoir une conséquence sur la qualité de nos résultats. Les anomalies du flagelle sont étroitement liées à la mobilité des spermatozoïdes. Blanchard et al. (2010)[30] considèrent que l'évaluation de la mobilité réalisée systématiquement lors du spermogramme suffit à déceler des anomalies flagellaires. Marnet et al. (2000)[31] trouvent une bonne corrélation entre le pourcentage d'anomalies du flagelle et le pourcentage de spermatozoïdes mobiles ( $r=-0,613$ ). Ce manque d'analyse du flagelle des spermatozoïdes par le CASA n'est donc pas considéré comme un facteur altérant la qualité des résultats par tous les auteurs.

Par ailleurs, compte tenu de la discordance au niveau des résultats dans les deux cas pour les deux méthodes, il se pourrait que la classification de David modifiée ne soit pas fiable. La raison qui a poussé, probablement, l'OMS d'opter pour la classification de Kruger. Pour ce, nous avons jugé opportun de faire une autre comparaison entre la classification de David et Kruger.

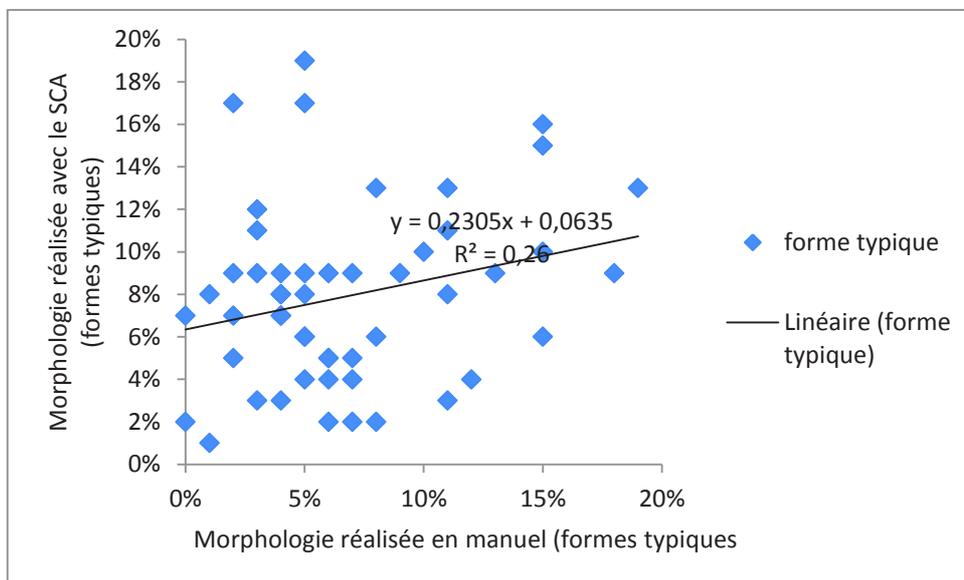


**Figure 14 :** la concordance entre les résultats des deux méthodes (manuel, automatique)

Dans un deuxième temps, nous avons cherché à savoir la corrélation entre ces deux méthodes.

Pour évaluer cette corrélation, nous avons utilisé le principe de régression linéaire qui consiste en présence de deux variables quantitatives, à tester l'hypothèse de l'existence d'une relation de proportionnalité entre elles.

L'analyse automatique montre une corrélation faible avec la technique manuelle pour le paramètre de la morphologie ( $R^2 = 0,26$  pour 51 spermatozoïdes analysés) avec un p value a  $0.064^{NS}$ . La technique automatique n'est pas comparable à la technique manuelle pour le paramètre de la morphologie.



**Figure 15 :** Comparaison de la technique manuelle avec le SCA sur 51 patients (valeurs extrêmes mesurées : 0 à 19% de spermatozoïdes de formes typiques).

Des études précédentes ont montré une bonne corrélation entre la morphologie spermatique réalisée avec la méthode manuelle et celle réalisée avec le CASA.

L'équipe de Kruger (1995) [39] a montré un très bon coefficient de corrélation (0,83) entre la méthode manuelle et la méthode automatisée mais avec une meilleure répétabilité (proche de 0,85) pour le CASA.

En effet, pour les éjaculats ayant une faible numération, il est nécessaire d'avoir recours à la méthode manuelle car l'utilisation de CASA dans ces situations n'est pas possible (limites techniques).

En ce qui concerne les variations inter et intra opérateurs, nous avons confirmé dans notre étude une bonne répétabilité ainsi qu'une bonne reproductibilité des résultats obtenus avec le CASA. Ce qui répond au besoin de standardiser l'analyse des paramètres spermatiques.

Plusieurs études ont, auparavant, montré une faible variation inter et intra laboratoires du CASA par rapport à la méthode manuelle [27].

### III. Comparaison des deux classifications d'évaluation de la morphologie spermatique par CASA :

Pour savoir quelle est la classification la plus adaptable pour l'analyse automatisée, Nous avons évalué la concordance entre les classifications de David et les critères stricts de Kruger par rapport à l'analyse automatisée.

Des lames d'échantillons de sperme (n=51, échantillon considéré comme suffisant statistiquement). Chaque lame a été analysée à la fois par les deux classifications (David et Kruger). Pour évaluer cette concordance nous avons utilisé un graphique de Bland et Altman.

Dans notre évaluation, le graphique de Bland et Altman (figure 1) montre que 4 points sur 51 sont situés en dehors des deux limites de concordance, ce qui représente 7,84% des points (acceptable quand <5%). Cela signifie qu'il existe dans notre étude une concordance faible entre les deux classifications (critères stricts et David).

Nous constatons une moyenne des différences à 0,82% avec des limites de concordance très Larges allant de à -7,48% à 9,12%.

**Tableau IV:** la concordance entre les résultats des deux classifications (David, Kruger)

méthode automatique selon David	Méthode automatique selon Kruger	effectifs
Normaux	Normaux	6
anormaux	anormaux	30
Normaux	anormaux	0
anormaux	normaux	15
total	total	51

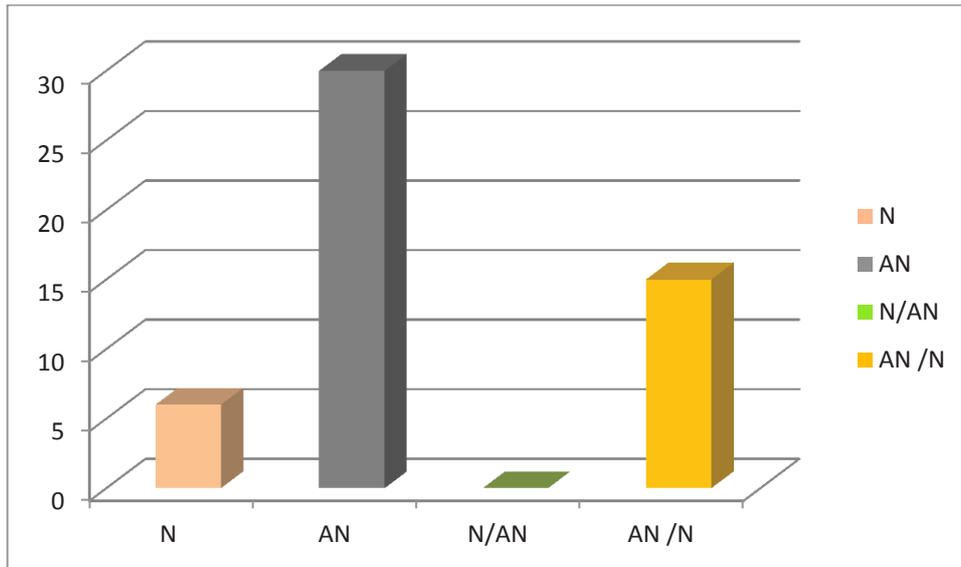


Figure16 : la concordance entre les résultats des deux classifications (David, Kruger)

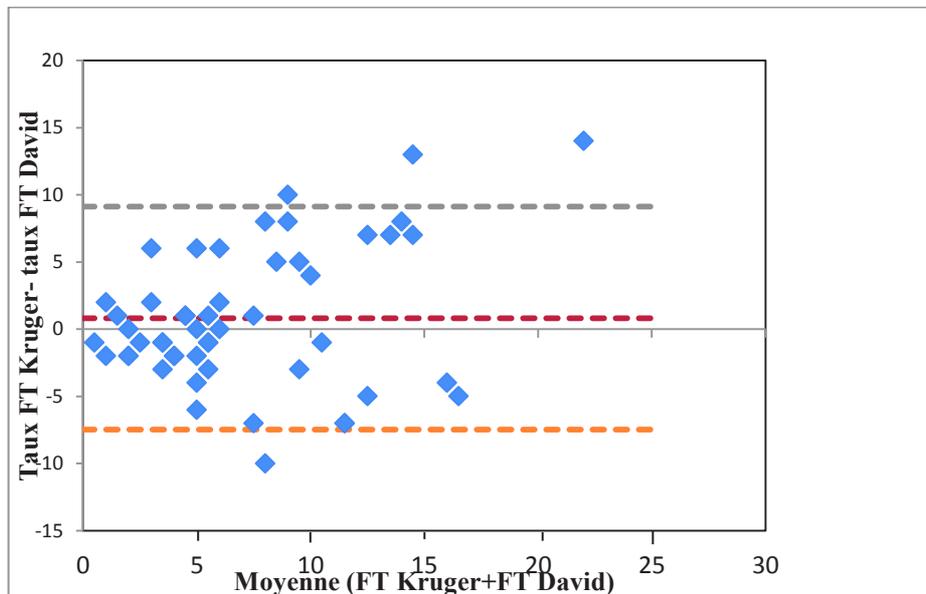


Figure 17 : Concordance entre la classification de David et la classification de Kruger (graphique de Bland et Altman).

Le taux de concordance calculé est à 0,29 ce qui confirme une concordance faible (concordance parfaite à 1).

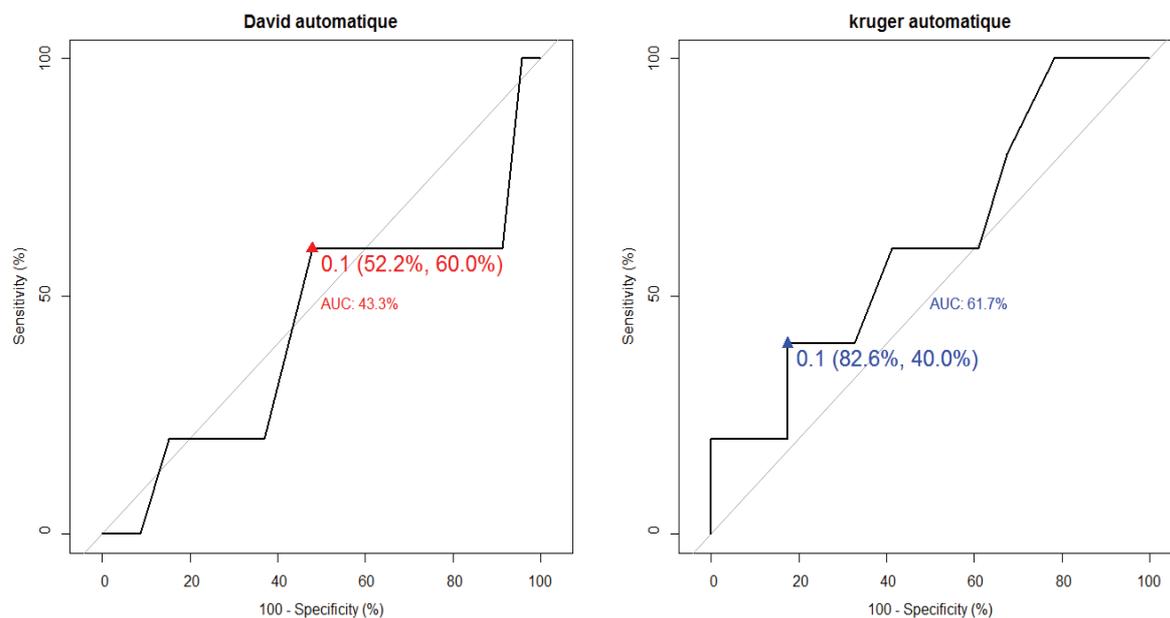
La moyenne des FT est de 6% pour la classification de David ce qui est plus bas que la moyenne des FT avec la classification de Kruger qui est de 7%. Nous observons que les valeurs de FT en David ont tendance à être plus basses que celles en critères stricts.

Par ailleurs à l'échelon individuel nous avons constaté un nombre maximal de formes typique allant jusqu'à 29 avec la classification de Kruger, versus la classification de David avec un nombre maximale de formes typique limité à 19.

Ces observations démontrent que l'analyse automatisée selon la classification de Kruger nous a donné des résultats plus significatifs que ceux obtenus par l'analyse automatisée selon la classification de David.

#### ✓ Courbe de ROC :

Nous avons utilisé la courbe de roc pour déterminer la valeur prédictive de la morphologie spermatique automatisé par les deux classifications (David, Kruger)



**Figure 18 :** courbe ROC, valeur prédictive de la morphologie spermatique automatisé par les deux classifications (David, Kruger).

La figure à gauche (David automatique) montre que ce test a une mauvaise capacité discriminatoire (aire sous la courbe (AUC) < 50%). Cependant, la courbe à droite (Kruger automatique) montre que ce test a une capacité discriminatoire (entre les patients ayant un spermatocytogramme normaux et les patients un spermatocytogramme anormaux), plus ou moins moyenne (AUC = 62% > 50%). De plus, selon la courbe à droite, nous observons que le point optimum pour la méthode de Kruger est 10% avec des valeurs de 82.6% et 40% pour la spécificité et la sensibilité respectivement.

# Conclusion

---



## CONCLUSION

Le but de notre étude prospective était d'évaluer la morphologie spermatique par deux méthodes, manuel et par CASA selon la classification de David modifiée et selon la classification de Kruger, et son éventuelle valeur prédictive (VP) sur les résultats de FIV et d'IUI du centre d'AMP de TIZIRI.

Nous avons d'abord comparé, dans un premier temps, les deux méthodes d'analyse des spermatozoïdes manuel et par CASA selon la classification de David modifiée. Mise à part une faible corrélation ainsi qu'une faible concordance qui existe entre les deux taux de formes typique, l'étude comparative a révélé une différence non significative entre les résultats totaux. Dans un deuxième temps, nous avons comparé les deux classifications d'évaluation de la morphologie spermatique par CASA. L'étude comparative a mis en évidence une concordance faible entre les deux classifications (critères stricts et David).

Notre travail a permis de mettre en évidence une influence significative de la morphologie spermatique évaluée en critères stricts avec le CASA pour la spécificité et la sensibilité respectivement. Ce qui conforte la nécessité de l'abandon de la classification de David dans le CAMP TIZIRI.

Tous ces changements devront être évalués pour en vérifier l'efficacité ou non avec une préoccupation constante d'améliorer la prise en charge des couples en AMP.

Notre étude suggère une utilisation bénéfique du CASA dans l'examen de spermatocytogramme au niveau de CAMP TIZIRI.

# **Références**

## **Bibliographique**

1. **Brzakowski, M., E. Lourdel, R. Cabry, M.-F. Oliéric, C. Claeys, A. Devaux, H. Copin, et P. Merviel. 2009.** Épidémiologie du couple infertile. *Journal de Gynécologie Obstétrique et Biologie de la Reproduction* 38 (janvier): F3-7.
2. **WHO. (2010)** World Health Organisation laboratory Manual for the Examination of Human Semen and Semen-Cervical Mucus Interaction. 5th ed, Cambridge University Press, Cambridge, UK.
3. **Le Goff, S, N Lédée, et G Bader. 2008.** Obesity and reproduction: a literature review.  
*Gynécologie, obstétrique & fertilité* 36 (5): 543-50.
4. **SPIRA A. Epidemiology of human reproduction. Hum Reprod, 1986, 1(2): p. 111-5.**
5. **Anzar M, Kroetsch T, Buhr MM. 2009.** Comparison of Different Methods for Assessment of Sperm Concentration and Membrane Integrity with Bull Semen. *J Androl* [Internet]. 30:661-668. Available from: <http://doi.wiley.com/10.2164/jandrol.108.007500>
6. **Vacheret N. 2005.** Histologie fonctionnelle des organes. Consulté le septembre 8.
7. **Rouvière H, Delmas A. 1992.** Anatomie humaine, descriptive topographique et fonctionnelle. In, Masson. Vol. 564-96.
8. **Langman J. 1984.** *Developpement normal et pathologique.* Edition Masson. Embryologie
9. **Valeri A, Joulin V, Fournier G. 1998.** Prostatites. *Encycl Méd Chir (Elsevier, Paris).*
10. **Coulibaly A. Oumar. 2000.** Caractéristiques cytospermiologiques de la stérilité masculine à propos de 598 examens. Thèse Méd, Bamako.
11. **Mbacker F. 1984.** Essai de détermination des normes du spermogramme et du spermocytogramme en milieu africain sénégalais. Thèse Méd, Dakar.
12. **Alexandre C. 1981.** Stérilités masculines. *EMC, Paris, Gynécologie* édition.
13. **Bakonde bakoe. 1983.** Contribution à l'étude de la stérilité masculine. Thèse Med, Dakar.
14. **Afoutou J.M. 1984.** Les normes du spermogramme et du spermocytogramme en milieu Africain. Exposé de titres et travaux pour M.C.
15. **Fernandez H., Ville Y. 1989.** Prévention de la stérilité. 84: 271-78.

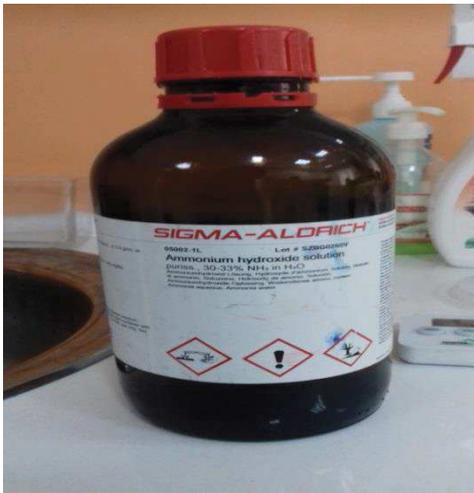
16. **THONNEAU P., MARCHAND S., TALLEC A., et al.** Incidence and main causes of infertility in a resident population (1, 850,000) of three French regions (1988-1989). *Hum Reprod*, 1991, 6(6): p. 811-6.
17. **THONNEAU P., QUESNOT S., DUCOT B., et al.** Risk factors for female and male infertility: results of a case-control study. *Hum Reprod*, 1992, 7(1): p. 55-8.
18. **Schlosser J, Nakib I, Carré-Pigeon F, Stearman F.** 2007. Infertilité masculine: stratégie de prise en charge. *EMC Urologie* 12: 18-760 - A -.
19. **Jockenhovel F.** 2004. Male hypogonadism, Uni-Med Science édition.
20. **DAVID G B.J., CZYGLIK F, JOUANNET P, et al.** Anomalies morphologiques du spermatozoïde humain. 1) Propositions pour un système de classification. *J Gyn Obstet Biol Reprod.*, 1975, 4 (suppl.1) : p. 17-36.
21. **JOUANNET P., DUCOT B., FENEUX D., et al.** Male factors and the likelihood of pregnancy in infertile couples. I. Study of sperm characteristics. *Int J Androl*, 1988, 11(5): p. 379-94.
22. **AUGER J. and EUSTACHE F.** Standardisation de la classification morphologique des spermatozoïdes humains selon la méthode de David modifiée. *Andrologie*, 2000, 10: p.p.358-25.
23. **MENKVELD R., WONG W.Y., LOMBARD C.J., et al.** Semen parameters, including WHO and strict criteria morphology, in a fertile and subfertile population: an effort towards standardization of in-vivo thresholds. *Hum Reprod*, 2001, 16(6): p. 1165-71.
24. **MORTIMER D M.R.** Sperm morphology assessment--historical perspectives and current opinions. *J Androl.* , 2001, 22(2): p. 192-205.
25. **KRUGER T.F., ACOSTA A.A., SIMMONS K.F., et al.** Predictive value of abnormal sperm morphology in in vitro fertilization. *Fertil Steril*, 1988, 49(1): p. 112-7.
26. **MENKVELD R., STANDER F.S., KOTZE T.J., et al.** The evaluation of morphological characteristics of human spermatozoa according to stricter criteria. *Hum Reprod*, 1990, 5(5): p. 586-92.
27. **BARROSO G., MERCAN R., OZGUR K., et al.** Intra- and inter-laboratory variability in the assessment of sperm morphology by strict criteria: impact of semen preparation, staining techniques and manual versus computerized analysis. *Hum Reprod*, 1999, 14(8): p. 2036-40.

28. **OMBELET W., POLLET H., BOSMANS E., et al.** Results of a questionnaire on sperm morphology assessment. *Hum Reprod*, 1997, 12(5): p. 1015-20.
29. **DAVIS RO G.C.** Consistency of sperm morphology classification methods. *J Androl.*, 1994, 15: p. 83-91.
30. **BLANCHARD M., HAGUENOER K., APERT A., et al.** Sperm morphology assessment using David's classification: time to switch to strict criteria? Prospective comparative analysis in a selected IVF population. *Int J Androl*, 2011, 34(2): p. 145-52.
31. **MARNET B., VIEITEZ G., MILHET P., et al.** Computer-assisted assessment of sperm morphology: comparison with conventional techniques. *Int J Androl*, 2000, 23(1): p. 22-8.
32. **FRANKEN D.R., MENKVELD R., KRUGER T.F., et al.** monitoring technologist reading skills in a sperm morphology quality control program. *Fertil Steril*, 2003, 79 Suppl 3: p. 1637-43.
33. **COETZEE K., KRUGE T.F. and LOMBARD C.J.** Predictive value of normal sperm morphology: a structured literature review. *Hum Reprod Update*, 1998, 4(1): p. 73-82.
34. **KRUGER L.** The functional morphology of thin sensory axons: some principles and problems. *Prog Brain Res*, 1996, 113: p. 255-72.
35. **COETZEE K., KRUGER T.F., LOMBARD C.J., et al.** Assessment of interlaboratory and intralaboratory sperm morphology readings with the use of a Hamilton Thorne Research integrated visual optical system semen analyzer. *Fertil Steril*, 1999, 71(1): p. 80-4.
36. **MENKVELD R., LACQUET F.A., KRUGER T.F., et al.** Effects of different staining and washing procedures on the results of human sperm morphology evaluation by manual and computerised methods. *Andrologia*, 1997, 29(1): p. 1-7.
37. **COETZEE K., KRUGER T.F., VANDENDAEL A., et al.** Comparison of two staining and evaluation methods used for computerized human sperm morphology evaluations. *Andrologia*, 1997, 29(3): p. 133-5.
38. **Meschede D, Dworniczak B, Behre HM, Kliesch S, Claustres M et al.** 1997. CFTR gene mutations in men with bilateral ejaculatory- duct obstruction and anomalies of the seminal vesicles. *Am J Genet* 61: 1200-1202.

- 39. KRUGER T.F., DU TOIT T.C., FRANKEN D.R., et al.** Sperm morphology: assessing the agreement between the manual method (strict criteria) and the sperm morphology analyzer IVOS. *Fertil Steril*, 1995, 63(1): p. 134-41.

# **Annexes**

Hématoxyline de Harris



Hydroxyde d'ammonium

Colorant Shorr





Les bains de coloration

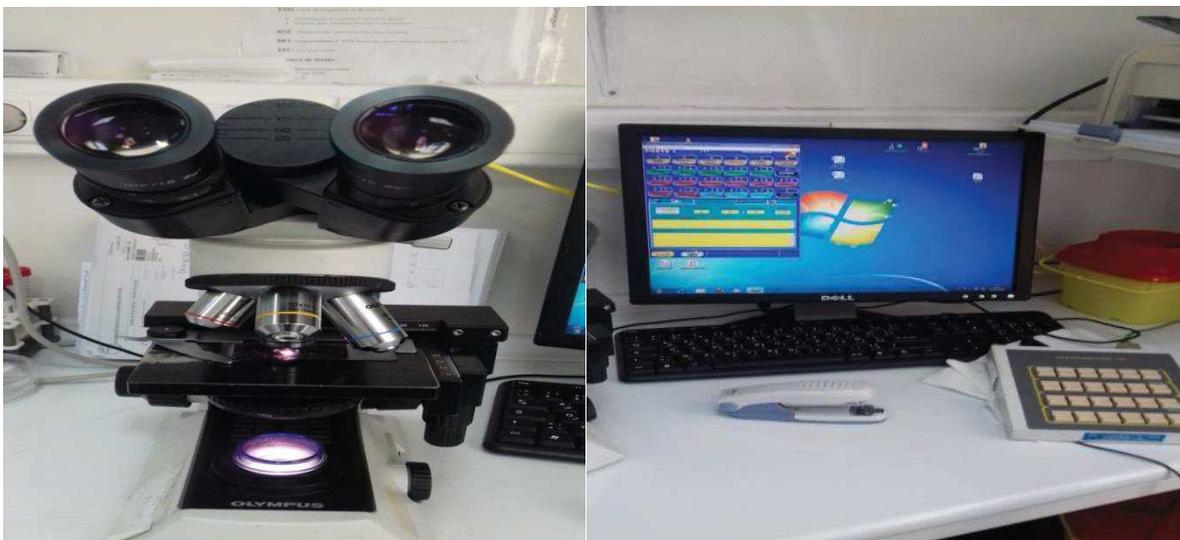
Agitateur vortex



Étuve



Systeme CASA



Microscope optique avec l'ordinateur et le spermoscore

**Tableau : Coloration de Shorr.**

<b>Porte lame avec frottis fixé</b>	
<b>Ethanol 75%</b>	30 à 60 mn p
<b>Lavage : l'eau</b>	10 à 12 passages
<b>Héματοxyline de Harris</b>	10 à 15 mn
<b>Lavage : l'eau</b>	10 à 12 passages
<b>Alcoolammoniacal (95 ml d'éthanol 75% 5ml d'ammoniaque</b>	1 mn bleuissement des frottis
<b>Lavage : l'eau</b>	10 à 12 passages
<b>Ethanol 50%</b>	5 mn
<b>Colorant Shorr</b>	10 à 15 mn
<b>Ethanol 50%</b>	5 mn
<b>Ethanol 75%</b>	5 mn
<b>Ethanol 95%</b>	5mn

**Tableau :** Résultats globaux des données des spermocytogrammes par La méthode manuelle selon la classification de David :

Résultats	Effectifs	Pourcentages (%)
<b>Spermocytogrammes anormaux (FT<math>\leq</math>15%)</b>	<b>46</b>	<b>90.80</b>
<b>Spermocytogrammes normaux (FT<math>\geq</math>15%)</b>	<b>5</b>	<b>9.20</b>
<b>Total</b>	<b>51</b>	<b>100</b>

**Tableau :** Résultats globaux des données des spermocytogrammes par La méthode automatique selon la classification de David :

Résultats	Effectifs	Pourcentages (%)
<b>Spermocytogrammes anormaux (<math>\leq</math>15%)</b>	<b>45</b>	<b>88</b>
<b>Spermocytogrammes normaux (<math>\geq</math>15%)</b>	<b>6</b>	<b>12</b>
<b>Total</b>	<b>51</b>	<b>100</b>

**Tableau VI :** Résultats globaux des données des spermocytogrammes par la méthode automatique selon la classification de Kruger :

Résultats	Effectifs	Pourcentages (%)
<b>Spermocytogrammes anormaux (<math>\leq</math>4%)</b>	<b>30</b>	<b>58.82</b>
<b>Spermocytogrammes normaux (<math>\geq</math>4%)</b>	<b>21</b>	<b>41.17</b>
<b>Total</b>	<b>51</b>	<b>100</b>

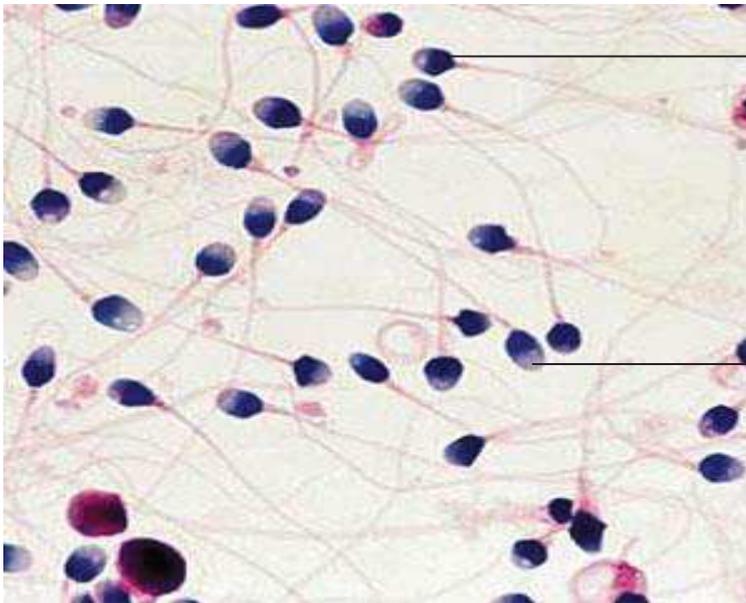
Photos pour quelque anomalie de la morphologie spermatique



Double tête avec  
flagelle enroulé

Microcéphalé

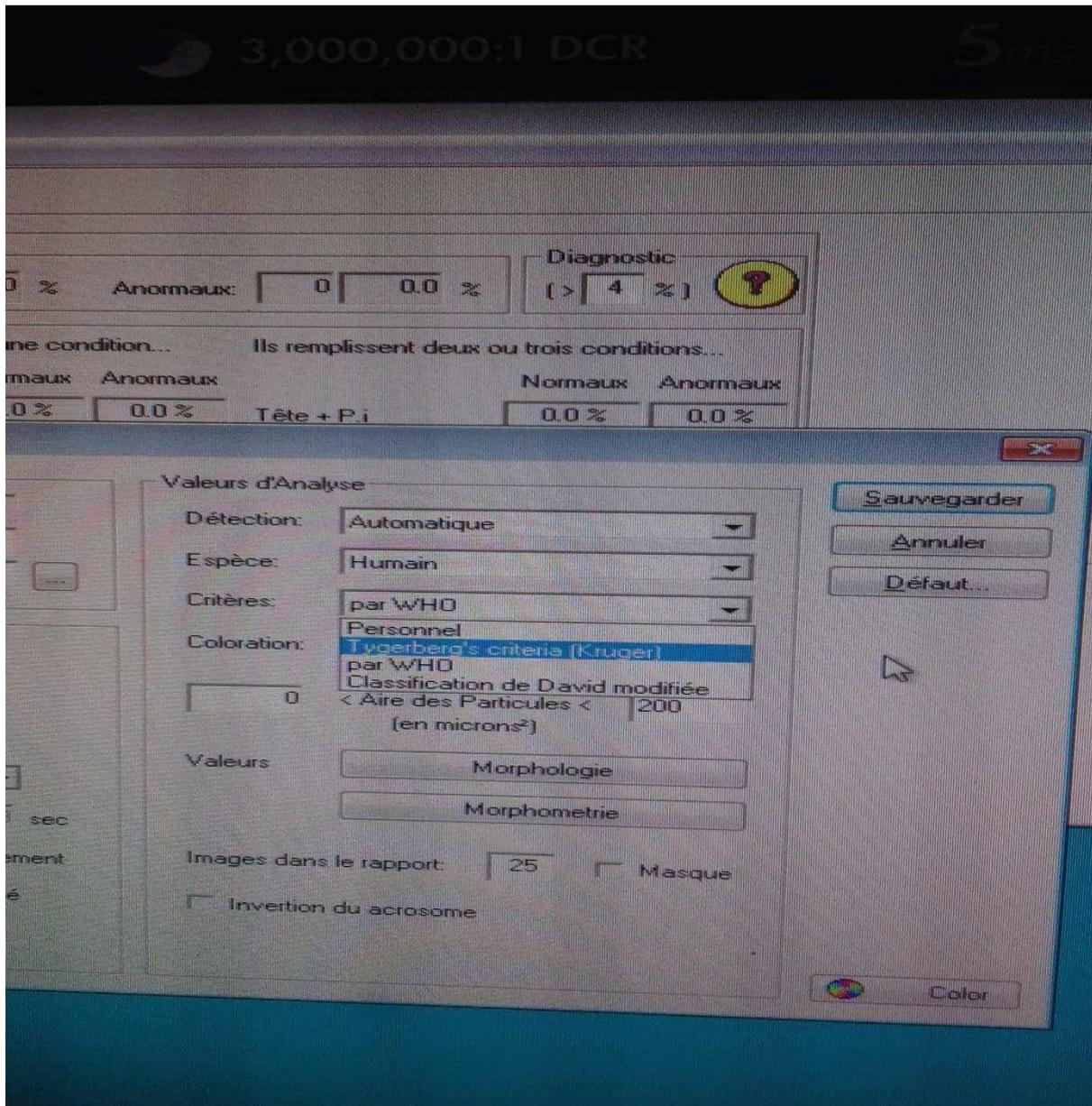
Reste cytoplasmique



Acrosome anormal

Macrocéphalé

Photo montre le choix de classification par le système CASA



La morphométrie d'un spermatozoïde définit comme étant normal selon la classification de David modifiée et anormal selon la classification de Kruger par le CASA.

The screenshot displays a software interface for sperm analysis. The main window shows a grayscale image of a sperm cell with its head, midpiece, and tail segmented into colored regions (blue, yellow, green, red). The interface includes a 'Caractéristiques' (Characteristics) panel with detailed morphometric data for each part of the sperm. On the right, there are dropdown menus for 'Morphologie' (Morphology) and 'Spermatozoïde' (Spermatozoïde) settings. At the bottom, there is a progress bar and a 'RÉSULTATS' (RESULTS) button.

**Morphométrie**

**TÊTE**

Taille (1)  
\* Longueur: 4,10 microns  
\* Largeur: 2,99 microns  
\* Aire: 10,36 microns<sup>2</sup>  
\* Périmètre: 12,12 microns

Forme (2)  
\* Ellipticité: 1,37  
\* Elongation: 0,16  
\* Rugosité: 0,89  
\* Régularité: 0,93

Vacuoles: 0  
\* Aire: 0,00 %

ACROSOME (3): 51,94 %

**PIÈCE INTERMÉDIAIRE**

Taille (4)  
\* Aire: 2,56 microns<sup>2</sup>  
\* Largeur: 0,53 microns

Insertion (5)  
\* Distance: 0,41 microns  
\* Angle: 4,17 degrés

**FLAGELLE**

\* Longueur: 28,78

**Morphologie**

Tête  
NORMAL (1)  
NORMAL (2)  
 Acrosome  
NORMAL (3)  
 Pièce intermédiaire  
NORMAL (4)  
NORMAL (5)

Flagelle  
NORMAL

**Spermatozoïde**

< 59 >  
Voir Caractéristiques  
Eliminer

**Champ**

< 39 >

Rapport  
Propriétés

Espermatozoides  
55 / 200

RÉSULTATS

La morphométrie d'un spermatozoïde définit comme étant normal selon la classification de Kruger et anormal selon la classification de David Modifiée par le CASA.

The screenshot displays a software window for sperm analysis. The main window has three tabs: 'Acquisition', 'Visualisation champ', and 'Caractéristiques'. The 'Caractéristiques' tab is active, showing a central image of a sperm cell with a yellow head, a blue midpiece, and a green tail. A red crosshair is overlaid on the head. To the right of the image are two main panels: 'Morfometrie' and 'Morphologie'. The 'Morfometrie' panel lists parameters for different parts of the sperm: 'TÊTE' (Size, Length, Width, Area, Perimeter), 'Forme' (Ellipticity, Elongation, Rugosity, Regularity), 'Vacuoles' (Area %), 'ACROSOME' (Area %), 'PIÈCE INTERMÉDIAIRE' (Size, Area, Width), 'Insertion' (Distance, Angle), and 'FLAGELLE' (Length). The 'Morphologie' panel has a 'NORMAL' dropdown menu and checkboxes for 'Tête', 'Acrosome', and 'Pièce intermédiaire', each with a 'NORMAL' dropdown. Below these are 'Spermatozoïde' and 'Champ' sections with navigation buttons and a 'RÉSULTATS' button. At the bottom, a progress bar shows 'Espermatozoides 4 / 200'.

La morphométrie d'un spermatozoïde définit comme étant normal selon la classification de Kruger et selon la classification de David Modifiée par le CASA.

Acquisition Visualisation champ Caractéristiques

NORMAL

Morphométrie

**TÊTE**

Taille (1)  
\* Longueur: 4,13 microns  
\* Largeur: 2,81 microns  
\* Aire: 9,99 microns<sup>2</sup>  
\* Périmètre: 12,07 microns

Forme (2)  
\* Ellipticité: 1,47  
\* Elongation: 0,19  
\* Rugosité: 0,86  
\* Régularité: 0,91

Vacuoles: 1  
\* Aire: 2,74 %

ACROSOME (3): 40,83 %

PIÈCE INTERMÉDIAIRE

Taille (4)  
\* Aire: 2,46 microns<sup>2</sup>  
\* Largeur: 0,92 microns

Insertion (5)  
\* Distance: 0,42 microns  
\* Angle: 6,67 degrés

FLAGELLE

\* Longueur: 34,77

Morphologie

Tête  
NORMAL (1)

Acrosome  
NORMAL (2)

Pièce intermédiaire  
NORMAL (3)

NORMAL (4)

NORMAL (5)

Flagelle  
NORMAL

Spermatozoïde

< 95 >

Voir Caractéristiques

Eliminer

Champ

< 65 >

Rapport

Propriétés

Espermatozoides 87 / 200

RÉSULTATS

## Fiche de spermogramme :

**NOM TEST**  
Service du docteur Test  
Service du 2  
Service du 4

23 Bd de Paris 75000 Paris  
Tél : 0102030405 Fax : 0102030499 Email : Info@xxxx.fr

Nom : **benmedjoub** Date : **23/05/2018**  
Prénom : **larbi** Délai d'abstinence : **0** jour(s)  
Né le : **02/04/1977** Lieu de prélèvement :  
Dossier : **258** Opérateur : **LAHMEL** Médecin :

**TEST DE SELECTION DES SPERMATOZOÏDES**

METHODE: Volume : 0,00 ml Volume utilisé 0,00 ml

**Avant Sélection** Concentration : 0,00 10<sup>6</sup> spermatozoïdes / ml

	Rapide/Progressif (A)	Lent/Progressif (B)	A+B	Mobile (C)	Immobile (D)
Mobilité après	0	0	0	0	0
Mobilité après	0	0	0	0	0

**Après Sélection** Concentration : 0,00 10<sup>6</sup> spermatozoïdes / ml Volume : 0

	Rapide/Progressif (A)	Lent/Progressif (B)	Mobile (C)	Immobile (D)
Mobilité après	0	0	0	0
Mobilité après	0	0	0	0

Nombre Total de Spermatozoïdes Mobiles Sélectionnés : 0,00 x 10<sup>6</sup>

**SPERMOCYTOGRAMME APRES SELECTION :**

SUR 100 SPERMATOZOÏDES OBSERVES, on a relevé : 17 formes TYPHIQUES  
83 formes ATYPHIQUES

Index d'anomalies multiples : 1,22

<b>TETE</b>		<b>PIECE INTERMEDIAIRE</b>	
Allongée : 0 / 0		Reste cytoplasmique : 0 / 0	
Amincie : 5 / 0		Grêle : 0 / 0	Flagelles isolés
Microcéphale : 17 / 12		Angulation : 7 / 3	Spermatozoïdes en lyse
Macrocéphale : 0 / 0		<b>FLAGELLE</b>	Cellules de la lignée germinale
Têtes multiples : 0 / 0		Absent : 0 / 0	Polynucléaires
Base anormale : 43 / 8		Ecourté : 0 / 0	Autres cellules
Acrosome absent : 6 / 6		Calibre irrégulier : 0 / 0	Fragments cellulaires
Acrosome Malformé : 16 / 4		Enroulé : 7 / 3	
		Multiple : 0 / 0	

**Conclusion :**

Imprimé le 28/05/2018 à 14:06