

***INTRODUCTION
GENERALE***

CHAPITRE I :
Rappels
bibliographiques

CHAPITRE II :
Matériel et méthodes

CHAPITRE III :
Résultats et discussions

Conclusion

*Références
bibliographiques*

Annexes

***INTRODUCTION
GENERALE***

CHAPITRE I :
Rappels
bibliographiques

CHAPITRE II :
Matériel et méthodes

CHAPITRE III :
Résultats et discussions

Conclusion

*Références
bibliographiques*

Annexes

Liste des abréviations

TMS : Test de migration survie.

ADN : Acide désoxyribonucléique.

IMC : Indice de masse corporelle.

AMP : Assistance médicale à la procréation.

ICSI : Intracytoplasmic sperm injection.

FIV: Fécondation in vitro.

OAT: Oligo-astheno-tétratospermie.

OMS: Organisation mondiale de santé.

NIMPS: Nombre inséminé de spermatozoids mobiles et progressifs.

DE: Dysfonction erectile.

IAC: Insemination artificielle intraconjugale.

IAD: Insemination artificielle avec donneur.

FT: Formes typiques.

IIU: Isémination intra uterine.

FSH : Folliculo-stimulating hormone

WHO: World Health Organization

LH : Luteinizing hormone

Sommaire

CHAPITRE I : RAPPELS BIBLIOGRAPHIQUES

INTRODUCTION	1
I. Anatomie-physiologie des appareils reproducteurs.....	3
I.1. Anatomie de l'appareil reproducteur féminin.....	3
I.1.1. Les voies génitales de la femme	3
I.1.2. Les cycle menstruel	3
I.2. Anatomie-physiologie de l'appareil reproducteur masculin.....	4
I.2.1. Les testicules.....	4
I.2.2. Les glandes annexes	5
I.2.3. Les voies spermatiques.....	5
I.2.4. L'organe copulateur.....	5
I.2.5. La spermatogenèse	6
I.2.6. La maturation post-testiculaire.....	9
I.3. Infertilité humaine.....	9
I.3.1. Infertilité féminines.....	10
I.3.2. Infertilité masculine.....	11
I.3.3. Infertilité idiopathique.....	17
I.3.4. Infertilité mixte.....	17
I.4. Les technique de PMA.....	17
I.4.1. l'insemination artificielle.....	17
I.4.2. La fecondation in vitro FIV.....	18
I.4.3. L'injection intra cytoplasmique du spermatozoïde ICSI.....	18

CHAPITRE II : MATERIEL ET METHODES

II.1. Matériels d'études.....	19
II.1.1. Matériel biologique.....	19
II.1.2. Matériel non biologique	19
II.2. Méthodes.....	19
II.2.1. L'anamnèse.....	19
II.2.2. L'examen clinique.....	19
II.2.3. La stimulation ovarienne.....	20
II.2.4. Le spermogramme.....	21

Sommaire

II.2.5. Le spermocytogramme.....	24
II.2.6. La spermoculture.....	26
II.2.7. Le TMS.....	26

CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSIONS

III.1. Resultats et discussion de l'anamnèse et des paramètres cliniques.....	29
III.1.1. Résultats obtenus chez les femmes	29
III.1.1.1. Répartition des femmes selon les tranches d'âge.....	29
III.1.1.2. Répartition des femmes selon l'IMC.....	30
III.1.1.3. Antécédents médicaux et chirurgicaux	30
III.1.2. Résultats obtenus chez les hommes.....	31
III.1.2.1. Répartition des hommes selon les tranches d'âge.....	31
III.1.2.2. Antécédents médicaux et chirurgicaux	31
III.1.3. Répartition des couples selon le type d'infertilité.....	32
III.1.4. Origines des causes d'infertilité.....	33
III.1.5. Répartition des couples selon la durée d'infertilité.....	33
III.2. Résultats et discussions des paramètres biologiques.....	34
III.2.1. Analyse quantitative et qualitative du sperme après spermogramme et TMS.....	35
III.2.2. Age des hommes et paramètres spermatiques.....	35
III.2.2.1. Corrélation entre l'âge des hommes et les spermatozoïdes mobiles et progressifs.....	36
III.2.2.2. Corrélation entre l'âge des hommes ou le pourcentage de formes typique.....	37
III.3. Taux de réussite des IUI.....	38
III.3.1. Corrélation entre l'âge des femmes et le taux de réussite des IUI.....	38
III.3.2. Corrélation entre l'IMC et le taux de réussite des IUI.....	39
III.3.3. Grossesses obtenues en fonction du pourcentage de formes typiques et du NIMPS.....	39
<i>CONCLUSION</i>	41

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

ANNEXES

Résumé

Notre mémoire est une étude rétrospective sur les causes d'infertilité du couple qui par sa fréquence et son impact sur la qualité de vie, représente un problème important de santé publique (10 à 15% de couples en algériens souffrent d'infertilité).

Lors de notre stage nous avons cerné les causes d'infertilité du couple, l'étude des différents paramètres quantitatifs et qualitatifs du sperme après spermogramme et test de migration survie qui est considéré comme étant un test de choix afin d'orienter les patients soit vers une fécondation in vitro soit vers une insémination intra utérine.

Afin de déterminer l'impacte du Test de migration survie sur l'augmentation des taux de réussite des inséminations intra utérines nous avons réalisé une étude sur une série de 160 patients consultants pour une infertilité au sein de la clinique THIZIRI.

Selon nos résultats 65,6% des femmes ayant consulté étaient âgées de moins de 35 ans, tandis que 58,7% des hommes avaient un âge qui variait entre 36 et 49 ans. Près de 73% de ces couples indiquaient une infertilité primaire, alors que l'infertilité secondaire n'a été observée que dans 27% des cas. 53% des causes d'infertilité étaient exclusivement masculines, tandis que seulement 30% étaient d'origine féminine.

Sur le plan quantitatifs et qualitatifs et après spermogramme seulement 9% des patients avaient un sperme normal, 75% étaient atteints de teratozoospermie selon la classification de David modifiée, ces pourcentages se sont améliorés après TMS avec 34% de sperme normal et une diminution de la teratozoospermie jusqu'à 49%.

Une corrélation positive a été observée entre l'âge des femmes et les taux de réussite des inséminations intra utérines avec $r= 0,9$ ainsi qu'entre l'âge des hommes et les paramètres spermatique.

Une concentration minimale d'1 millions de spermatozoïdes mobiles et progressifs doit être inséminée avec un pourcentage de formes typiques supérieur à 4% afin d'optimiser les chances de grossesse.

Mots clés : infertilité du couple, paramètres du sperme, insémination intra utérine, spermogramme, test de migration survie.

ملخص

من خلال عملنا قمنا بدراسة رجعية لأسباب عقم الزوجين، والتي من خلال تواترها وتأثيرها على نوعية الحياة هي مشكلة صحية عامة مهمة (10 إلى 15% من الأزواج في الجزائر يعانون من العقم).

خلال التدريب حددنا أسباب عقم الزوجين، قمنا بدراسة الكمية والنوعية للحيوانات المنوية بعد فحص الحيوانات المنوية و بعد فحص الهجرة و البقاء على قيد الحياة الذي يعد اختيارا من أجل توجيه المرضى نحو أنسب طريقة للإنجاب. من أجل تحديد تأثير اختبار البقاء على قيد الحياة على معدلات الحمل أجرينا دراسة على سلسلة من 160 الأزواج الذين استشاروا عيادة تيزيري.

ووفقا لنتائجنا، كانت نسبة 65.6 في المائة من النساء اللاتي تمت استشارتهن دون سن 35 سنة، في حين أن 58.7 في المائة من الرجال تتراوح أعمارهم بين 36 و 49 سنة. حوالي 73% من هؤلاء الأزواج تم تشخيصهم بالعقم الأولي، في حين لوحظ العقم الثانوي فقط في 27% من الحالات. 53% من أسباب العقم كان مصدرها الذكور، في حين أن 30% فقط من أسباب العقم كان مصدرها الإناث.

على المستوى الكمي والنوعي للحيوانات المنوية لوحظ تحسن في جودتها بعد اختبار هجرة البقاء على قيد الحياة كما تم العثور على ارتباط إيجابي بين عمر المرأة ومعدلات نجاح التلقيح داخل الرحم وكذلك بين سن الرجال ومعلومات الحيوانات المنوية.

ينبغي تلقيح أكثر من مليون من الحيوانات المنوية المتحركة والتقدمية مع نسبة نموذجية من أشكال أكبر من 4% من أجل تحسين فرص الحمل.

الكلمات الرئيسية: العقم من الزوجين، الحيوانات المنوية، التلقيح داخل الرحم، سبيرموغرام، اختبار الهجرة البقاء على قيد الحياة

Abstract

Our work is a retrospective study of infertility causes, which by their frequency and impact on quality of life is an important public health problem (10 to 15% of couples in Algeria suffer from infertility).

During our internship we identified the causes of infertility of couples, the study of the various quantitative and qualitative parameters of sperm after spermogram and survival migration test which is considered as a test of choice in order to orient the patients towards either in vitro fertilization or intrauterine insemination

. In order to determine the impact of the Migration Survival Test on pregnancy rates we conducted a study on a series of 160 patients consulting within THIZIRI clinic.

According to our results, 65.6% of the women who consulted were under 35 years of age, while 58.7% of men had an age range of 36-49 years. Nearly 73% of these couples reported primary infertility, while secondary infertility was only observed in 27% of cases. 53% of the causes of infertility were exclusively male, while only 30% were of female origin.

On the quantitative and qualitative level and after spermogram only 9% of the patients had normal sperm, 75% had teratozoospermia according to David's modified classification, these percentages were improved after TMS with 34% of normal sperm and a decrease of teratozoospermia up to 49%.

A positive correlation was found between the age of women and success rates of intrauterine inseminations with $r = 0,9$ as well as between men's age and sperm parameters

A minimum concentration of 1 million of mobile and progressive spermatozoa should be inseminated with a percentage of typical forms above 4% in order to optimize the chances of pregnancy.

Key words: infertility of the couple, sperm parameters, intrauterine insemination, spermogram, survival migration test.

Introduction

L'infertilité du couple est par sa fréquence et l'impact sur la qualité de vie, un problème important de santé publique. En effet, il est connu que 70 millions de couples souffrent d'infertilité dans le monde (**Boivin et al., 2007**). Elle est définie par l'organisation mondiale de la santé (OMS) par l'absence de grossesse chez les couples en âge de procréer (femme âgée de 18 à 45 ans) au bout de 24 mois de rapports sexuels réguliers non protégés (**Brzakowski et al, 2009**).

Au sein d'un couple, l'infertilité peut être d'origine exclusivement féminine ou masculine mais être aussi souvent, la conséquence d'une hypofertilité des 2 membres du couple qui, par synergie altère leur capacité à procréer (**Young, 2014**). Une composante masculine serait en cause dans 20 à 70% des cas. Ces simples données expliquent pourquoi l'évaluation de l'homme doit être, non seulement systématique mais aussi très soignée (**Agarwal et al, 2015**).

Le spermogramme permet d'évaluer la quantité et la qualité des spermatozoïdes selon certains critères mis en évidence par l'OMS (**Johanne Dussault, 2009**), tandis que le Test de Migration Survie (TMS) permet de faire la sélection des spermatozoïdes en fonction de leur mobilité et de leur morphologie (**Mahadevan, 1984**).

L'Assistance Médicale a la Procréation (AMP), notamment l'Insémination Intra-Utérine (IIU), est l'ensemble des moyens et des techniques mis en œuvre pour pallier à l'hypofertilité féminine et masculine ; d'un ou des deux membres du couple. (**Roulet, 2013**). Les progrès récents en biologie de la reproduction ont amélioré la compréhension de la physiologie des spermatozoïdes et des mécanismes impliqués dans la fécondation (**Sergrie et al, 2005**).

Le présent travail a pour objectif l'étude de l'infertilité masculine et l'IIU. Dans cette optique, nous nous sommes posé les problématiques suivantes : Quel est l'intérêt du TMS ainsi que son impacte sur l'amélioration des taux de grossesse

Existe-t-il une corrélation entre l'âge des hommes et les différents paramètres spermatiques ?

Pour répondre à notre problématique nous avons réalisé une étude sur 160 couples algériens issus de différentes wilayas, présentant une infertilité et tracé les objectifs suivants :

- ✓ Étudier les cas d'infertilités des couples à fin de déterminer leur origine (masculine, féminine, mixte ou idiopathique).
- ✓ Évaluer la valeur des différents paramètres quantitatifs et qualitatifs du sperme effectués lors du spermogramme et après TMS.

Introduction

- ✓ Evaluer l'impacte du TMS sur les grossesses obtenues.

I. Anato-mo-physiologie des appareils reproducteurs

I.1. Anato-mo-physiologie de l'appareil génital féminin

I.1.1. Les voies génitales de la femme

L'appareil génital féminin est constitué de plusieurs parties :

Les glandes génitales(ou gonades: les ovaires), les voies génitales internes et les organes génitaux externes.

Il comprend donc :

- les ovaires (gonades féminines).
- le tractus génital: trompes utérines, utérus (associé au col de l'utérus) et vagin.
- les organes génitaux externes (la vulve) qui comprennent le vestibule avec les glandes de Bartholin, les petites lèvres, les grandes lèvres et le clitoris.

L'ensemble constitue le sexe phénotypique féminin.

Les organes génitaux externes sont constitués par le clitoris et les lèvres génitales chez la femme (les bourses et le pénis chez l'homme). C'est la même ébauche au stade indifférencié, le tubercule génital, qui donnera le pénis chez le garçon et le clitoris chez la fille.

Les tubercules labio-scrotaux, donneront les bourses (ou « scrotum ») chez le garçon et les grandes lèvres chez la fille. (Troglia ; 2014)

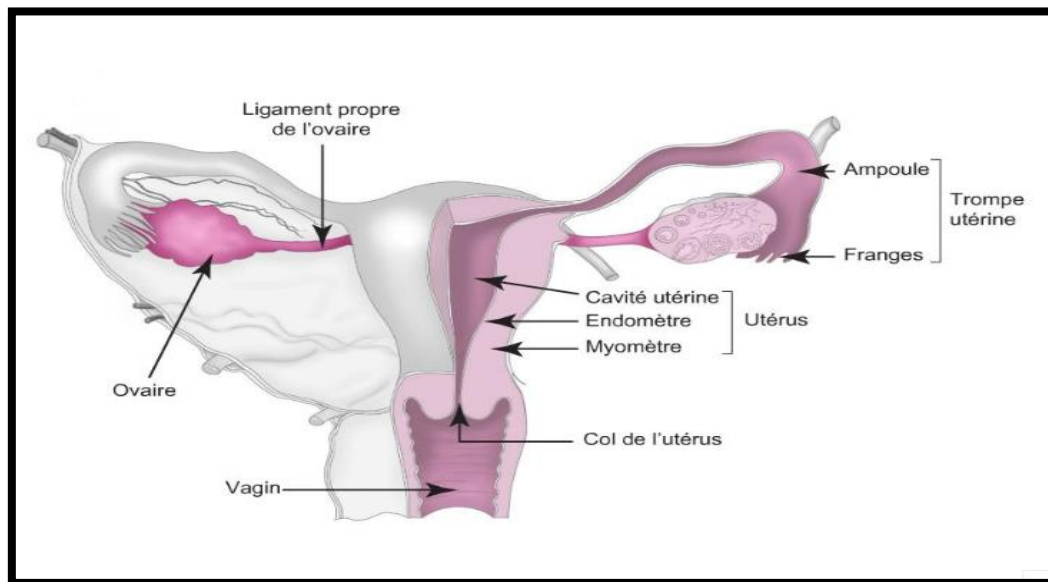


Figure 01 : Appareil génital féminin vu de face (vu antérieure) (Patrick Troglia, 2014)

I.1.2. Le cycle menstruel

Le cycle menstruel regroupe l'ensemble des modifications anatomiques et physiologiques de l'axe hypothalamo-hypophysio-ovarien et du tractus génital du début d'une menstruation à la suivante. Sa durée normale est de 28 ± 4 jours. (Cole LA, Ladner DG, 2009.)

On divise le cycle menstruel en 2 périodes :

- La phase folliculaire où dominant les effets des hormones œstrogènes et qui va de la fin des règles à l'ovulation.
- La phase folliculo-progestative où les deux hormones agissent conjointement et qui va de l'ovulation aux règles. La durée de cette phase est remarquablement fixée à 14 jours à partir de l'ovulation. (**LORNAGE J 2002**).

I.2. Anatomie-physiologie de l'appareil génital masculin

L'appareil génital masculin est l'organe de la reproduction. Il assure :

La production des gamètes mâles ou spermatozoïdes ; leur transport ; leur nutrition ; leur stockage dans les voies génitales masculines ; ainsi que leur expulsion dans les voies génitales féminines lors de l'éjaculation. (**Patrick Troglia, 2014**)

I.2.1. Les testicules

Gonades mâles productrices de spermatozoïdes (**Marieb et al, 1999**). Les testicules sont enveloppés dans un sac de peau appelé scrotum (**Van de Graff et Rhees, 2002**), chaque testicule est recouvert de deux couches de tissu ; la tunique vaginale externe et la tunique albuginée interne (**Van de Graff et Rhees, 2002**).

Des projections de l'albuginée forment les cloisons de testicule, qui divisent celui-ci en 250 à 300 lobules dont chacun renferme de un à quatre tubules séminifères contournés qui fabriquent les spermatozoïdes (**Marieb et al, 1999**).

Les tubules séminifères contournés de chaque lobule convergent vers un tubule séminifère droit qui transporte les spermatozoïdes jusqu'au rete testis (**Marieb et al, 1999**).

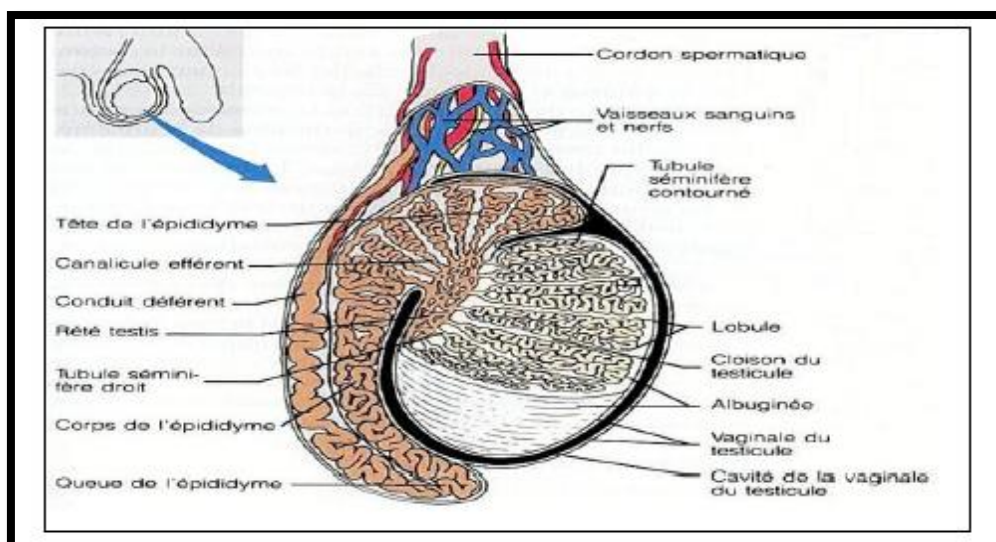


Figure02 : Structure anatomique d'un testicule humain (**Nazzal, 2002**).

I.2.2. Les glandes annexes

L'éjaculat est constitué par un mélange de sécrétions s'effectuant en 4 fractions et les deux tiers des spermatozoïdes sont contenus dans la première moitié de l'éjaculat :

- Fraction pré-éjaculatoire : au moment de l'excitation sexuelle, les sécrétions proviennent des glandes de Cowper qui sembleraient jouer un rôle de lubrification pour l'écoulement du sperme.
- Provenant des glandes prostatiques contient des enzymes qui permettant une liquéfaction de l'éjaculat.
- Fraction principale : un mélange de sécrétions prostatiques et vésicules séminales impliqués dans la formation du coagulum séminal.

Fraction terminale : constituée des sécrétions des vésicules séminales et est plus fluide **(Jouannet, 2001)**.

I.2.3. Voies spermatiques

Le tractus génital formé des voies spermatiques intra-testiculaires et des voies spermatiques extra-testiculaires, système de canaux pairs (canaux ou cônes efférents, épидидyme, canal déférent, canal éjaculateur) qui assurent le transport des spermatozoïdes **(Patrick Troglia, 2014)**.

I.2.4. L'organe copulateur :

Le pénis est l'organe de la copulation, destiné à déposer les spermatozoïdes dans les voies génitales de la femme **(Mariebet al, 1999)**.

Le pénis comprend une racine fixe, un corps mobile et se termine par un renflement, le gland du pénis. Le pénis est un organe spécialisé composé de trois colonnes de tissus érectile qui se remplissent de sang, permettant la pénétration du pénis dans le vagin pendant les rapports sexuels **(Van de Graff et Rhee, 2002)**.

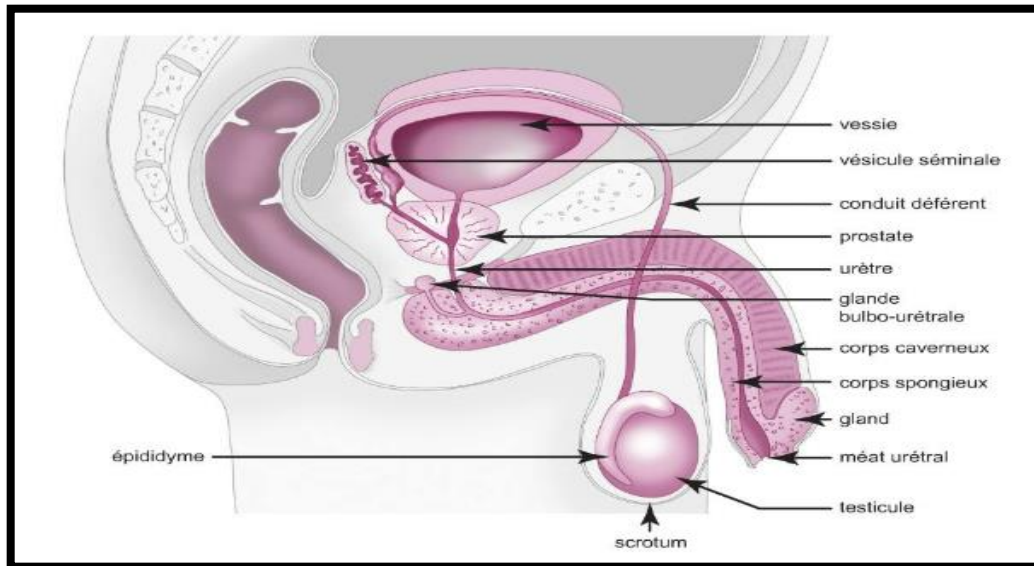


Figure 03 : Anatomie de l'appareil génital chez l'homme (Patrick Troglia, 2014)

I.2.5 La spermatogenèse

La spermatogenèse est un phénomène continu depuis la puberté jusqu'à un âge très avancé de la vie. Sa durée est constante : 74 jours entre les stades spermatogonie et spermatozoïde et 15 jours de transit dans les voies génitales masculines. (Patrick Troglia, 2014)

C'est un processus combiné de prolifération cellulaire, de division méiotique et de maturation cellulaire qui aboutira à la formation de spermatozoïdes matures; lesquels acquerront leur pouvoir fécondant dans l'épididyme (Kerr *et al*, 2006).

La spermatogenèse a lieu dans les tubules séminifères à l'intérieur desquels les cellules de Sertoli, par le biais de leurs extensions cytoplasmiques, assurent un support au développement des cellules germinales (Clermont, 1972).

Les spermatozoïdes matures sont ensuite relâchés dans la lumière des tubules séminifères d'où ils seront acheminés et conservés dans l'épididyme en attendant l'éjaculation (Volg, 1988).

I.2.5.1. Etapes de la spermatogenèse

a. Phase de multiplication

Les spermatogonies subissent une série de divisions mitotiques permettant ainsi de maintenir leur nombre. Chez l'humain, on distingue deux types de spermatogonies; le type A et le type B (Clermont 1972).

Les spermatogonies de type A sont dites Apâles ou Afoncées selon leurs caractéristiques morphologiques (Clermont, 1972).

A partir des cellules souches, se forment plusieurs générations de spermatogonies : (Amann, 2008).

- **Spermatogonies souches** : Ad (d=dark) : noyau foncé, à chromatine finement granuleuse, avec au moins une vacuole centrale claire.
- **Spermatogonies poussièreuses**: Ap (p=pâle) : noyau clair, à chromatine fine renfermant un ou plusieurs nucléoles.
- **Spermatogonies croûteuse**: (B) : noyau plus au moins foncé, à chromatine disposée en bloc.

Les spermatogonies se multiplient par mitoses normales, la cellule de base est la spermatogonie Ad qui se divise en 2 :

- Spermatogonie Ad : reste cellule souche (pool de réserve).
- Spermatogonie Ap qui elle-même se divise en deux. Elle donne deux Spermatogonies B

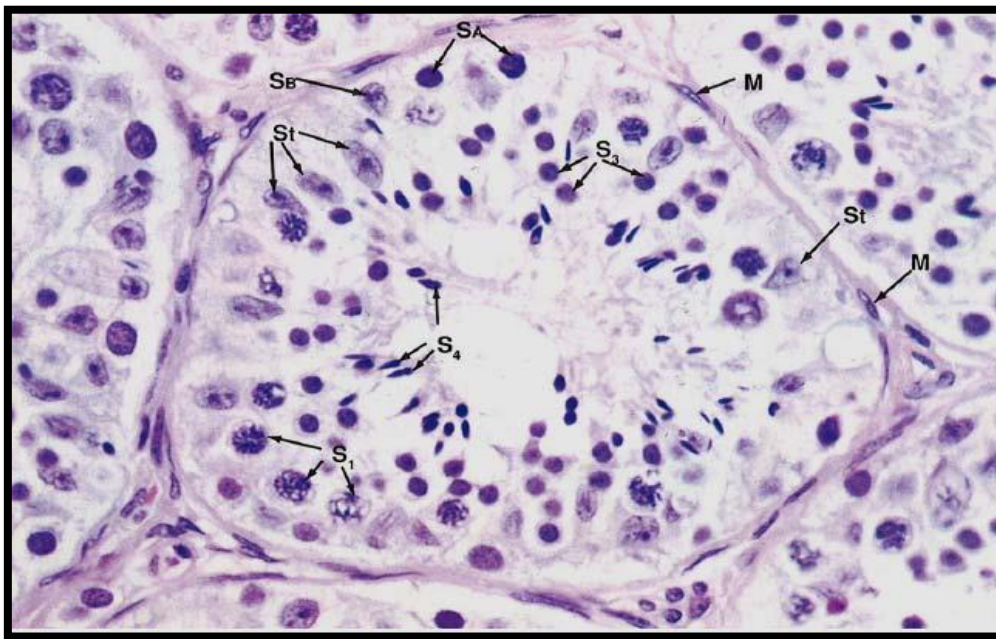


Figure 04 : Coupe transversale d'un tubule séminifère (Young et Heath 2001).

Sa : spermatogonies de type a, **Sb** : spermatogonies de type b, **MB** : membrane basale ,
St : cellules de sertoli, **S1 et S2** : spermatozoïdes du premier et deuxième ordre ,
S3 : spermatoïdes , **S4** : spermatozoïdes

b. La phase d'accroissement

Les spermatogonies de dernière génération cessent de se diviser, augmentent de volume et se transforment en spermatozoïdes de premier ordre (cellules diploïdes), qui se bloquent dans les stades initiaux de la prophase méiotique jusqu'à la puberté.

c. Phase de maturation

Les spermatocytes I subissent la méiose: deux divisions successives qui vont entraîner la réduction de moitié du nombre des chromosomes et de la quantité d'ADN.

➤ Première division de méiose ou division réductionnelle

Les spermatocytes I ($2n$ chromosomes, $2q$ ADN) doublent leur quantité d'ADN ($4q$ ADN) puis subissent cette première division qui va aboutir à la formation de 2 spermatocytes II (cellules haploïdes) mais à $2q$ ADN et ne contenant qu'un seul chromosome sexuel (X ou Y). Cette phase est longue et dure plusieurs jours (23 jours) (Amann, 2008), (De Krester, 2007).

➤ Deuxième division de méiose ou division équationnelle

Elle aboutit, à partir d'un spermatocyte II à 2 spermatides à (n chromosomes, q ADN). Elle est courte et dure quelques heures.

I.2.5.2. La spermiogénèse

La spermiogénèse est un processus de maturation et de métamorphose cellulaire permettant la transformation des spermatides rondes en une structure ultra organisée : le spermatozoïde mobile. Cette étape ne comporte aucune division cellulaire, mais concerne plutôt la morphogénèse de l'acrosome, la condensation nucléaire, le développement du flagelle, la réduction du cytoplasme, la réorganisation de ses organites et la spermiation (Kerr et coll. 2006).

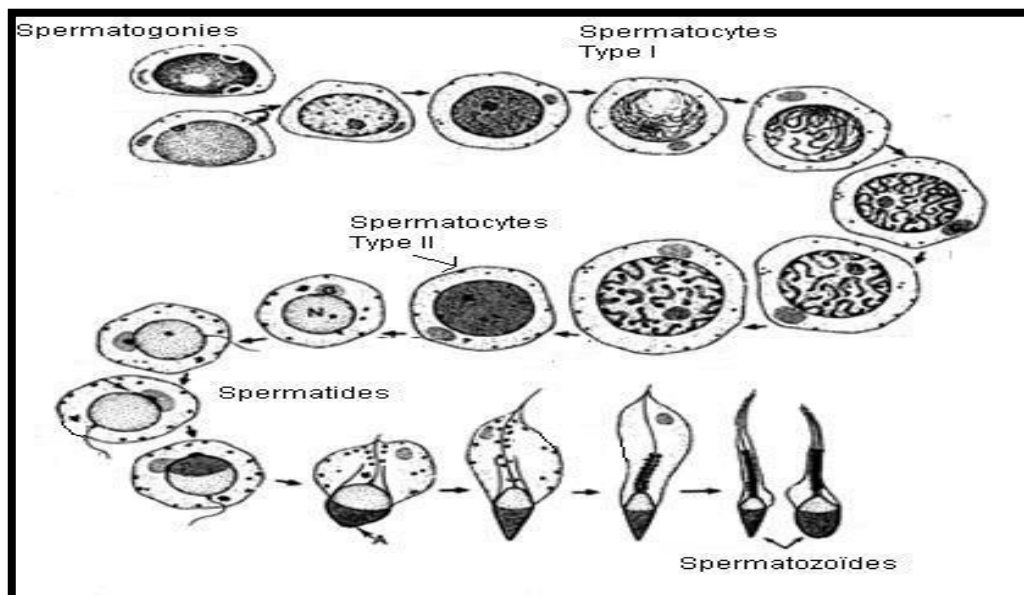


Figure 05 : Schéma des caractéristiques morphologiques des cellules tout au long du processus de la spermatogénèse et de la spermiogénèse. (Hermo et Clemont, 1995)

I.2.6. Maturation post-testiculaires

Les spermatozoïdes relâchés dans la lumière des tubules séminifères ne sont pas encore fonctionnels et, de ce fait, sont incapables de féconder un ovocyte. C'est lors de leur passage dans l'épididyme qu'ils subiront une série de changements qui leur permettront d'acquérir leur pouvoir fécondant (mobilité progressive, habileté à féconder un ovocyte).

Un de ces changements implique une modification, par des protéines de l'épididyme, de l'emplacement des lipides et des protéines de la membrane plasmique des spermatozoïdes afin de former des complexes de signalisation essentiels à la fécondation (**Cornwall 2009**).

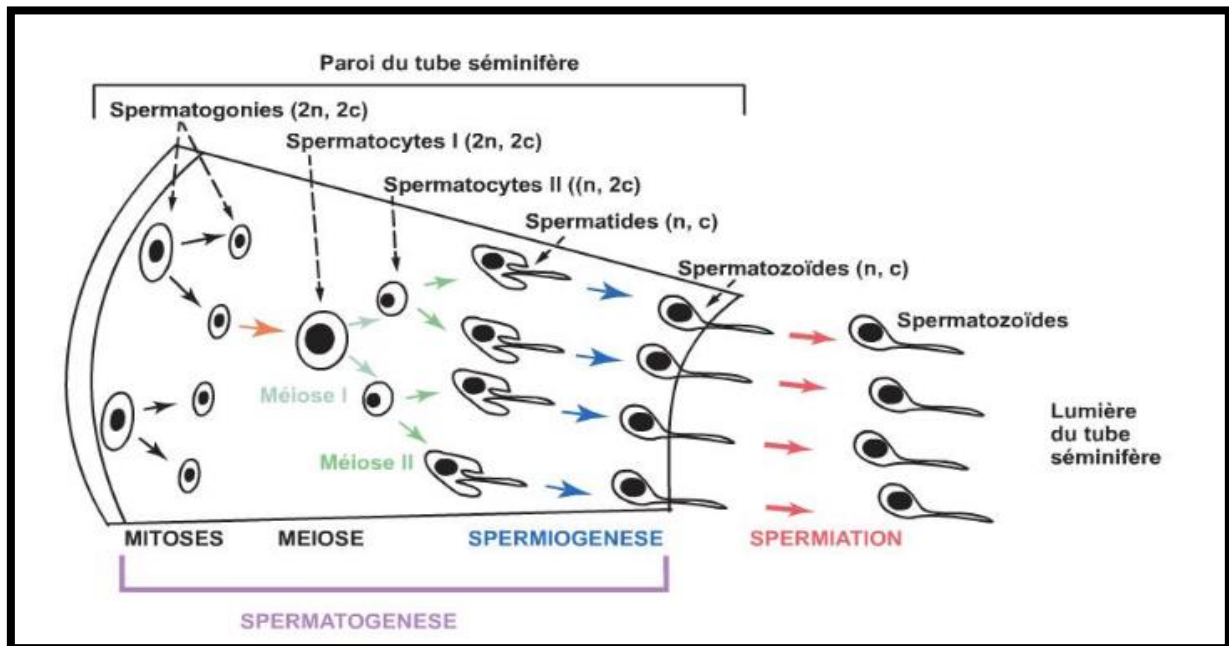


Figure 06: la spermatogenèse (**Patrick Troglia, 2014**)

I.3. infertilité humaine

L'infertilité est comme définie précédemment est caractérisée par la difficulté ou l'incapacité d'un couple à concevoir un enfant. (**Brzakowskiaet al, 2009**).

un couple sur dix est confronté à une infertilité primaire quand il n'y a jamais eu de grossesse, et secondaire si après une ou plusieurs grossesses, la femme ne parvient pas à redevenir enceinte lorsqu'elle la désire Les causes de l'infertilité peuvent être multiples ou secondaire (**Courchesne,2009**).

Au sein d'un couple, l'infertilité peut être d'origine exclusivement féminine ou masculine mais être aussi, souvent, la conséquence d'une hypofertilité des 2 membres du couple qui, par synergie, altère leur capacité à procréer. (**Jacques Young ,2016**).

I.3.1. Infertilité féminine

Dans un couple infertile, l'infécondité est d'origine féminine dans un tiers des cas l'âge de la femme est un facteur important, du fait de la diminution importante de la fécondité après l'âge de 35 ans, nettement aggravée après 40 ans. De simples modifications d'attitudes comme la fréquence et l'horaire des rapports sexuels modifient le taux de conception **(Pouquet et al., 2008)**.

Chez la femme, les facteurs d'infertilité se regroupent principalement en :

✓ L'âge

La fécondabilité naturelle d'un couple est de 25 % par cycle à l'âge de 25 ans pour la femme, 12 % à 35 ans et seulement 6 % à 42 ans. À 25 ans, après six mois d'exposition optimale, les chances de grossesse sont de 60 %, après un an de 80 % et de 90 % après deux ans. Ces taux sont diminués de 50 % chez les femmes de 35 ans et de 75 % à l'âge de 42 ans Or, les femmes ont tendance à retarder leur maternité ce qui explique l'augmentation du nombre de femmes de 40 ans et plus venant consulter pour infertilité. **(Merviel P et al., 2008)**

✓ Poids

L'indice de masse corporelle (IMC) est un indicateur fréquemment utilisé pour évaluer le poids .Une femme est en surpoids lorsque l'IMC est entre 25 et 29,9 kg/m² et obèse au-delà de 30 kg/m².L'obésité peut affecter la fertilité en causant un déséquilibre hormonal et une dysovulation. **(Barton JR et al , 2014)**

L'obésité est alors un cofacteur qu'il faut prendre en compte dans la prise en charge de l'infertilité. En effet, le surpoids et l'obésité diminuent les chances de naissance suite à un traitement d'AMP **(Cédric-Durnerin, 2015)**

✓ Facteurs ovariens

Un ovaire normal et une ovulation normale sont indispensables à la reproduction ; 10 à 20 % des infertilités sont attribuées à une anomalie de l'ovulation et une diminution régulièrement à partir de 25 ans et surtout après 35 ans, ce qui réduit les possibilités de grossesse **(Pouquet et al., 2008)**.

✓ Les facteurs tubaires et péritonéaux

Les trompes sont un facteur contributif dans 25 à 40 % des cas d'infertilité. Pour que l'œuf parvienne à la cavité utérine, la trompe doit être perméable et comporter une muqueuse normale .L'inflammation pelvienne, secondaire à une infection par les germes sexuellement transmissibles tels que les gonocoques ou les chlamydiae, est considérée comme la cause majeure d'infertilité **(Pouquet et al, 2008)**.

✓ Facteurs utérins

L'utérus peut être absent ou malformé ou encore porteur d'un fibrome. Il peut s'agir d'une absence congénitale d'utérus ou agénésie utérine isolée, qui est rare. Il y a alors aménorrhée primaire. Ou encore de malformations utérines, ce qui est plus fréquent et souvent accompagné d'autres malformations uro-génitales. **(Carignan,1986).**

✓ Facteurs cervico-vaginaux

Le mucus cervical joue un rôle important dans la promotion, le maintien de la survie, et la mobilité de spermatozoïdes. Une pénétration anormale du sperme dans le mucus cervical est retrouvée dans 10 à 15 % des cas d'infertilité. **(Trousseau,1994)** .

✓ Endométriose

Est caractérisée par des localisations anormales de la muqueuse utérine. Les organes le plus souvent touchés en cas d'endométriose profonde sont les ovaires, les ligaments utéro-sacrés, le rectum, la vessie et le vagin. Plusieurs organes peuvent être touchés chez une même patiente. L'endométriose provoque dans l'organisme la sécrétion de substances défavorables à la fécondation et au développement de l'embryon et peut donc être responsable d'une infertilité. **(Daniel Vaiman,2013)**

I.3.2. Infertilité masculine

La notion d'infertilité masculine renvoie à l'ensemble des pathologies et troubles touchant l'appareil reproducteur de l'homme et ainsi responsables de l'infécondité involontaire du couple **(Rowe et al, 2000).**

La fécondation de l'ovule par un spermatozoïde nécessite plusieurs étapes préliminaires : une formation de spermatozoïdes normaux, une maturation épидидymaire permettant un stockage adéquat des spermatozoïdes, un transport adéquat du sperme, un fonctionnement normal des glandes accessoires, une fonction sexuelle normale, et finalement, des relations sexuelles en temps opportun. Toute perturbation d'une de ces fonctions peut affecter la fertilité masculine de façon permanente ou réversible. **(Comeau , 2002).**

Jusqu'à nos jours, les hommes ont du mal à admettre qu'ils peuvent être la cause de l'infécondité de leur couple, surtout lorsque leur comportement sexuel est plus que satisfaisant. C'est donc en toute bonne foi qu'ils inculquent leur partenaire féminin et ne mettent pas en doute leur propre fertilité. **(Drissi ,2015).**

La contribution de l'homme dans l'infertilité d'un couple est très variable, de totale à partielle. Une composante masculine serait en cause dans 20 à 70% des cas en fonction des séries .Ces simples données expliquent pourquoi l'évaluation de l'homme doit être, non seulement systématique mais aussi très soignée **(Agarwal et al, 2015).**

I.3.2.1 cause d'infertilité masculine

Depuis les cinquante dernières années, de nombreuses études ont mis en évidence des altérations de la qualité du sperme dans la population des hommes fertiles. Celles-ci concernent la numération (113 millions par ml en 1940 *versus* 66 millions en 1990) et le volume séminal (3,40 ml *versus* 2,75 ml). Parallèlement, une augmentation des anomalies génito-urinaires, tels que les cancers testiculaires, les cryptorchidies et les hypospadias, est observée, probablement en partie responsable de cette baisse de la fertilité masculine depuis cinquante ans (**Carlsen .1992**)

L'infertilité masculine, isolée ou non, est présente dans plus de 50 % des infertilités de couple. Les causes sont multiples et parfois plurielles chez un même individu, se traduisant dans 61 % des cas par des anomalies quantitatives et/ou qualitatives du sperme (**Schlosser J.2007**)

Les infertilités d'origine masculine représentent une part importante des étiologies d'infertilité, Les cinq grands mécanismes d'altération de la fertilité masculine sont : les troubles érectiles, éjaculatoires et sexuels, les causes endocriniennes, les causes testiculaires, les causes obstructives séminales et les altérations fonctionnelles des spermatozoïdes.(**M. Brzakowski et al,2009**)

Les principaux facteurs de risques d'infertilité masculine sont les antécédents de varicocèle d'infections génitales de traumatismes testiculaires (**Thonneau P.1992**),sans oublier les anomalies génétiques, l'âge et les facteurs environnementaux (tabac, alcool, médicaments, stress, surpoids, perturbateurs endocriniens, etc.)(**Kumosani TA.2008**)

a. Anomalies quantitative et qualitative du sperme

- **Hypospermie**

L'hypospermie fait partie des troubles de l'éjaculation chez l'homme. Elle correspond à une quantité insuffisante de sperme émise au moment de l'éjaculation.(**G. Robin et al ;2008**)

Le volume normal de sperme recueilli au cours d'un spermogramme réalisé après deux à cinq jours d'abstinence sexuelle varie de 2 à 6 ml (**G. Robin et al ;2008**).

On parle d'hypospermie ou d'hypovolémie spermatique lorsque ce volume est abaissé (< 2 mL) sur au moins deux (voire trois) spermogrammes successifs réalisés dans des conditions optimales de recueil et d'analyse (**Clavert A et al ;1999**)

L'hypospermie peut être isolée ou associée à d'autres anomalies spermatiques (oligozoospermie, asthénozoospermie, tératozoospermie, azoospermie). (**Demoulin A.2003**)

- **Hyperspermie**

L'hyperspermie correspond à une éjaculation de sperme dépassant les 6 mL. Cette anomalie ponctuelle ou chronique peut correspondre à une période d'abstinence sexuelle ou à une infection des vésicules séminales ou des glandes annexes. La réalisation d'un spermogramme permet de quantifier le volume de l'éjaculat et de détecter d'éventuelles traces de bactéries. Un volume trop important de l'éjaculat peut intervenir dans le cadre de l'infertilité car cela entraîne une dilution des spermatozoïdes et peut occasionner un débordement vaginal. **(Hordré.2014)**

- **Azoospermie**

L'azoospermie se définit comme l'absence de spermatozoïdes lors de la réalisation d'au moins trois spermogrammes pratiqués dans des conditions optimales : ce diagnostic ne peut être affirmé que si on examine avec attention le culot de centrifugation avant et après coloration pour infirmer la présence de spermatozoïdes **(Feneux D.1986)**

Les hommes atteints d'azoospermie peuvent être catégorisés selon les cas suivants :
Azoospermie prétesticulaire (due à une anomalie au niveau de l'hypothalamus ou de l'hypophyse), insuffisance testiculaire ou azoospermie non obstructive (les hommes atteints d'insuffisance testiculaire présentent en fait soit une spermatogenèse réduite ,soit un arrêt de la maturation des spermatozoïdes à une phase précoce ou tardive de la spermatogenèse ou une absence totale de spermatogenèse, notée dans les cas d'aplasie germinale) , obstruction post-testiculaire ou éjaculation rétrograde :spermatogenèse normale mais présence d'azoospermie obstructive ou d'éjaculation rétrograde**(Keith Jarvi et al.,2009)**

- **Oligozoospermie**

L'oligoospermie fait référence à la faible quantité de spermatozoïdes dans l'échantillon de sperme éjaculé. Il s'agit d'une altération du sperme caractérisée par une concentration réduite de spermatozoïdes, ce qui peut rendre difficile voire impossible d'obtenir une grossesse de manière naturelle **(Mc Elreavey.2008)**

La définition peut être polémique puisque qu'auparavant l'oligoospermie était considérée avec des valeurs inférieures à 20 millions de spermatozoïdes par millilitre.**(OMS ,1999)**

C'est le cas le plus fréquent de l'infertilité masculine. Les oligozoospermies inférieures à 1 million peuvent être rattachés aux azoospermies et explorés de la même façon que celles-ci L'oligoospermie est rarement isolée et souvent associée avec une asthénospermie et/ou une tératoospermie. **(Bretonneau, 1997)**

- **Asthenozoospermie**

L'Asthenozoospermie se caractérise par une chute de la mobilité des spermatozoïdes. Une mobilité est considérée comme normale au-delà de 50 %. Elle est primaire si la chute de mobilité intervient dès la première heure ou secondaire si c'est 4 heures après l'émission du sperme. (Afzelius B et al.,1975)

La mobilité des spermatozoïdes est acquise durant le transit épидидymaire, en fonction du pourcentage exact de spermatozoïdes immobiles observés dans l'échantillon de sperme analysé, on parle d'une asthénospermie plus ou moins sévère. En général, on distingue deux degrés de gravité, l'asthenozoospermie sévère caractérisée par une diminution voire une absence de mobilité des spermatozoïdes éjaculés est une cause fréquente d'infertilité. (V. Mitchell.2012) et l'asthenozoospermie modérée ce degré signifie que le pourcentage de spermatozoïdes immobiles ou dotés d'une mauvaise mobilité se situe entre 60 et 75% (Liu CH.2014)

- **Tératozoospermie**

La morphologie des spermatozoïdes est l'un des paramètres qualitatifs de la spermatogenèse. (Jouannet P.1988) Dans les années 50 les études des pionniers de la spermologie comme MacLeod ont montré l'importance de la morphologie dans l'évaluation de l'infertilité. Les spermatozoïdes humains présentent un fort pourcentage d'anomalies morphologiques ce qui les différencie de toutes les autres espèces. Un sperme est considéré comme " normal " s'il possède 30 % de spermatozoïdes de morphologie normale, cette étude morphologique a été codifiée et quantifiée et la plupart des laboratoires utilisent la classification de David qui tient compte des polymalformations des spermatozoïdes ; les anomalies morphologiques peuvent être d'origine soit testiculaire, soit post-testiculaire (C Barthelemy .1997)

b. Les malformations congénitales

- **Cryptorchidie**

Le terme cryptorchidie désigne tout testicule qui se trouve spontanément et en permanence en dehors du scrotum et dont l'abaissement manuel est soit impossible, soit suivi d'un retour immédiat à la position initiale dès que cesse la traction (S. Takongmo et al.,1996) La cryptorchidie est une pathologie assez fréquente en urologie. Le risque d'infertilité semble modéré si la cryptorchidie est unilatérale. En revanche, le risque est nettement accru en cas de cryptorchidie bilatérale (les deux testicules) et si l'on ne traite pas, 89 % des patients développent une azoospermie. (Mohamed Gharbi.2010), l'altération de la

spermatogénèse est liée à la cryptorchidie.(**Eric Fontaine ,2001**)

c .Dysfonction érectile

Les dysfonctions érectiles sont définies comme étant l'incapacité constante ou récidivante d'obtenir et/ou de maintenir une érection pénienne suffisante pour permettre un rapport sexuel. Longtemps passés sous silence, ces problèmes sortent aujourd'hui au grand jour.(**Sand M et al. 2002**)

Une dysfonction érectile (DE) sévère peut être une cause d'infertilité masculine mais elle est rare chez les hommes jeunes et doit faire l'objet d'une prise en charge globale car elle peut être le signe d'un refus de paternité ou de troubles psychologiques graves. Parmi les hommes infertiles, 15 à 20 % présentent des signes de dépression modérée ou sévère (**Nelson CJ et al, 2008**)

d. Troubles de l'éjaculation :

- **L'éjaculation prématurée:**

On parle d'éjaculation prématurée ou précoce lorsqu'un homme ne parvient pas à contrôler durablement son excitation car son éjaculation survient involontairement. Il arrive parfois que l'éjaculation apparaisse avant même qu'il n'y ait eu pénétration mais le plus souvent elle se produit avant moins d'une vingtaine de va-et-vient dans le vagin de la partenaire. (**Balistreri S, 2003**)

- **Anéjaculation :**

L'anéjaculation est définie par l'absence d'éjaculation par le méat urétral malgré une stimulation sexuelle approprié et prolongé. La prévalence de l'anorgasmie (une des variétés d'anéjaculation) est respectivement évaluée dans les enquêtes ACSF (France 1993) et NHSL (USA 1999) à 14et8 %.

- **L'éjaculation rétrograde :**

Correspond à une difficulté pour éjaculer que cela soit lors d'un rapport sexuel ou par masturbation, malgré une excitation sexuelle forte de l'homme lors d'une éjaculation rétrograde (ER) une partie ou la totalité du liquide spermatique passe de l'urètre postérieur vers la vessie d'où la présence de spermatozoïdes dans l'urine au cours de l'orgasme.(**Brooks M,1981**)

L'éjaculation rétrograde partielle est un cadre nosologique assez méconnu qui peut diminuer le nombre de spermatozoïdes féconds dans le sperme. Elle peut être évoquée en cas d'hypospermie (diminution du volume d'éjaculat en-dessous de 2mL).(**E. Huyghe et al.,2013**)

e. Varicocèle

La varicocèle est une anomalie fréquente avec des conséquences andrologiques potentielles : défaut de croissance et de développement testiculaire ipsilatéral, douleurs scrotales, infertilité dans les études épidémiologiques, la fréquence de la varicocèle peut aller jusqu'à 22% des hommes de la population générale (**Peterson A. et al.,1998**)

Cette anomalie est plus fréquente chez les hommes ayant une infertilité, atteignant 40% chez ceux qui ont une anomalie spermatique au spermogramme (**Fontaine.E et al.,2000**).

la varicocèle doit être associée à des anomalies spermatiques pour être acceptée comme une cause d'infécondité (**Rowe et al2005**) .

En effet, la varicocèle a des conséquences sur les deux compartiments testiculaires. D'une part, elle altère la spermatogenèse par une atteinte des cellules de Sertoli ; d'autre part, elle entraîne une diminution de la production de testostérone par les cellules de Leydig associée et/ou en lien avec des modifications histologiques de celles-ci . Les anomalies les plus fréquemment retrouvées lors du spermogramme sont oligo-asthéo-térato-zoospermie. Elle s'accompagne d'un volume d'éjaculat normal, voire d'une hyperspermie (**Pierre Nevoux et al, 2009**)

Pour des raisons anatomiques, la varicocèle est plus souvent présente à gauche. Avec le temps, les anomalies cellulaires notées dans le testicule gauche se retrouvent aussi à droite, ce qui explique la progression de l'atteinte des fonctions reproductrices (**Kass EJ.2001**)

f. Les infections et antécédents infectieux

Plusieurs germes (virus et bactéries) peuvent être responsables d'infections et entraîner des répercussions transitoires ou définitives sur la fertilité, le premier et le plus redouté :

Le virus ourlien qui est un paramyxovirus responsable d'une parotidite ourlienne (oreillons) après une incubation de 18 à 21 jours. L'orchite ourlienne en constitue la principale complication et survient en moyenne 4 à 10 jours après la parotidite. Lorsqu'elle survient, elle s'accompagne d'une chute transitoire de la testostéronémie (**Mouchel T et al.,2002**)

- **Mycoplasmes génitaux :**

Ces micro-organismes présentent la particularité de pouvoir être transmis par relation sexuelle, mais également de pouvoir coloniser le TGM (**Cyril Putin et al.,2010**)Cependant l'incidence d'*Ureaplasma urealyticum* dans le sperme des hommes infertiles varie de 7 à 42 %. Cette infection peut entraîner la mort d'embryon sans nécessairement affecter la qualité du sperme : les spermatozoïdes isolés de sperme infecté présentent des altérations de l'ADN

peut-être a l'origine d'une altération du développement embryonnaire (**Reichart et al., 2000**)

- **Entérobactéries**

E. coli est l'agent principal des infections génitales masculines d'origine non sexuelles. Il est responsable d'épididymites, d'orchites, de prostatites. (**Weidner .w et al ;1999**)

I.3.3. Infertilités idiopathiques

L'infertilité inexplicée est définie par l'absence de conception spontanée après un certain délai de rapports sexuels réguliers, malgré un bilan normal des facteurs de fertilité du couple. Estimée autour de 15 % des couples infertiles (de 10 à 30 %), elle dépend de l'âge des deux partenaires, du délai d'infertilité, de la définition de rapports sexuels réguliers, de l'étendue du bilan réalisé et des critères de normalité retenus. (**J.M. Antoine.2016**)

L'infertilité masculines idiopathiques seraient à l'origine de près de 50% des infertilités .Il s'agit d'hommes ayant une fonction gonadotrope normale et chez qui l'exploration des voies excrétrices n'a pas permis de mettre en évidence d'obstacle (**Krausz C, et al. 2015**)

I.3.4 Infertilité mixte

Cette catégorie représente la majeure partie des infertilités dans le couple. Elle est composée d'un facteur masculin et féminin. La difficulté dans le traitement de cette population, réside surtout dans le fait qu'il faut synchroniser les traitements de manière à obtenir en même temps une chance d'ovulation et une chance de fécondation. (**Oates RD. 2012**)

I.4. Les techniques de procréation médicalement assisté :

La procréation assistée désigne divers moyens, comme l'insémination intra-utérine et la fécondation in vitro, par lesquels la médecine peut aider des individus, par exemple les personnes infertiles et celles qui sont porteuses d'une maladie transmissible à leur progéniture, à concevoir un enfant. De façon générale, on peut dire que l'infertilité est causée par une défaillance du système reproducteur (féminin ou masculin), qui elle-même peut être due à une malformation, une infection, un traumatisme, un traitement (contre le cancer, par exemple). (**Geneviève Martin.2015**)

I.4.1.Insémination artificielle

L'insémination intra-utérine (IIU) appartient depuis longtemps à l'arsenal des techniques d'AMP. C'est une technique simple et indolore et la moins coûteuse qui consiste à introduire instrumentalement les spermatozoïdes dans le tractus génital féminin au niveau de la cavité utérine. (**Karima Fichtali et al., 2011**)

Elle peut utiliser le sperme du conjoint : insémination artificielle intraconjugale (IAC), ou le sperme d'un tiers donneur : insémination artificielle avec donneur (IAD). Son objectif est de favoriser la fécondation in vivo (FIV) en rapprochant simplement les gamètes de l'ampoule tubaire, site physiologique de leur rencontre (**Karima Fichtali et al., 2011**)

Cette optimisation est obtenue : d'une part, par une synchronisation de l'ovulation et de l'insémination ; d'autre part, par une augmentation de la concentration de spermatozoïdes mobiles sur le site de fécondation. (**Ragni G et al., 2004**)

Ces indications sont diverses dominées par les hypofertilités masculines (troubles d'érections ou d'éjaculations) et infertilités inexplicées mais nécessitent toutefois des trompes normales et perméables. La technique est simple, mais doit être précédée d'une préparation de la femme et celle du sperme.

L'IUI est indiquée en cas d'insuffisance spermatique modérée. Les critères spermatiques conditionnant le pronostic des IUI sont, encore à ce jour, discutés. Cependant, certains paramètres comme le nombre de spermatozoïdes mobiles inséminés (NSMI) et le pourcentage d'atypies morphologiques de ces spermatozoïdes semblent influencer sur les chances de grossesses (Facteurs pronostiques de l'IUI). (**R. Wainer.2011**)

Il est donc indispensable d'avoir fait réaliser un test de migration survie des spermatozoïdes (**R. Wainer.2011**)

Les résultats des l'IUI dépendent de plusieurs facteurs dont l'âge, l'indication, l'amélioration de la mobilité des spermatozoïdes est un facteur principal de succès en termes de pouvoir fécondant (**Rammer E.1998**)

I.4.2. La fécondation *In vitro* classique(FIV)

le sperme et les ovocytes sont en mis en contact à l'extérieur du corps de la femme pour permettre à la fécondation d'avoir lieu, l'ovule fécondé est ensuite réintroduit dans l'utérus de la femme (**V. Mitchell.2012**)

I.4.3. L'injection intracytoplasmique de spermatozoïde (ICSI)

Depuis son introduction en 1992 injection intracytoplasmique (ICSI) est très largement utilisée dans les cas d'infertilité d'origine masculine ou mixte. (**Palermo et al. 1992**) La sélection du spermatozoïde à micro-injecter fondée uniquement sur sa morphologie s'avère efficace dans certaines situations, mais est parfois difficile à mettre en pratique dans les cas de tératozoospermie sévère Cependant, dans les cas d'oligoasthénotératozoospermie (OAT) sévère ou encore d'azoospermie non obstructive nécessitant l'utilisation de spermatozoïdes testiculaires. Elle représente par ailleurs un moyen de diminuer la fréquence des échecs

complets de fécondation par rapport à la FIV conventionnelle, bien qu'elle ne permette pas de les éviter complètement (**C. Herbemont.2014**).

Il s'agit d'une étude menée au sein du centre d'assistance médicale à la procréation «CAMP TIZIRI, Alger » sur une période de 10 mois, de janvier 2016 jusqu'au mois d'octobre 2016

Le but de ce travail est d'étudier les cas d'infertilité du couple, d'évaluer la valeur des différents paramètres quantitatifs et qualitatifs du sperme, ainsi que l'impacte du TMS sur l'amélioration des taux de grossesse chez de une population de couples infertiles.

II.1. Matériel d'étude

II.1.1. Matériel biologique

Notre étude a été réalisée sur 160 couples consultant pour une infertilité, ces derniers sont passée en premier par une anamnèse, suivie par un examen clinique. La totalité des hommes ont bénéficié d'un ou plusieurs spermogrammes tandis que 155 d'entre eux ont bénéficié d'un TMS.

L'hystérosalpingographie a été réalisée sur la totalité des patientes.

II.1.2. Matériel non biologique

Le matériel non biologique figure dans **l'annexe n 01**

II.2. Méthodes

II.2.1. L'anamnèse

Les 160 couples consultant au sein de la clinique THIZIRI ont bénéficiés d'une anamnèse qui est considérée comme étant une étape obligatoire et doit être aussi simple que méthodique.

L'interrogatoire permet de préciser pour chacun des membres du couple :

- ✓ l'âge
- ✓ la profession
- ✓ la durée du mariage ainsi que la fréquence des rapports sexuels.
- ✓ les antécédents familiaux
- ✓ les antécédents médicaux à la recherche d'une maladie chronique (diabète par exemple) ou d'une maladie infectieuse
- ✓ les antécédents chirurgicaux
- ✓ la consommation de tabac, alcool ou d'autres drogues.

II.2.2. L'examen clinique

Chez la femme

Il faut réaliser un examen gynécologique classique dans de bonnes conditions :

- Étude du morphotype (rapport poids-taille pilosité)
- Inspection du périnée, à la recherche d'une malformation,

- Examen au spéculum pour apprécier le vagin, le col et la glaire par rapport à la date des dernières règles
- Toucher vaginal (taille, mobilité et sensibilité de l'utérus)
- Examen des seins
- Palpation de la thyroïde

Chez l'homme

- Étude du morphotype et de la pilosité.
- Examen des organes génitaux externes (taille des testicules, palpation de l'épididyme, du déférent, recherche d'une varicocèle
- Toucher rectal (consistance et sensibilité de la prostate, analyse des vésicules séminales).
- Rechercher une gynécomastie.

II.2.3. la stimulation ovarienne

La stimulation de l'ovulation favorise la sélection et le développement jusqu'à maturation de plusieurs follicules dans les ovaires de la femme, L'objectif de la stimulation ovarienne est donc double: favoriser le développement simultané de plusieurs follicules tout en évitant une ovulation spontanée.

Méthode : la stimulation ovarienne est réalisée en deux phases

- **La première phase** consiste à empêcher la production par l'hypophyse des gonadotrophines ainsi que de la LH et FSH. Pour bloquer cette production hormonale les femmes sont deux types de médicaments :
 - Les agonistes du GnRH (Suprefact ou Décapeptyl)
 - les antagonistes de GnRH (Cetrotide).
- **La deuxième phase** commence une fois la phase de blocage terminée, les traitements commencent au 1er jour du cycle. Les patientes ont le choix entre des injections quotidiennes intra-musculaires (Gonal-f) ou sous-cutanées (Puregon)(du premier jusqu'au 11eme jour du cycle). Ce processus doit être attentivement surveillé. Les échographies permettront de suivre la croissance des follicules d'une part, les contrôles biologique d'assurer les dosages hormonaux.

Après l'étape de la stimulation, vient le temps du déclenchement de l'ovulation. Ce moment sera déterminé par le degré de maturité des follicules (on déclenche l'ovulation quand le follicule dominant atteint un diamètre de 18 mm). Les injections d'hormone folliculostimulante sont alors arrêtées et remplacées par l'injection intramusculaire de l'hCG

qui a les mêmes effets que la LH et permet donc de libérer l'ovocyte. L'ovulation se produit 37 à 40 heures après cette injection. Ainsi l'heure de l'injection sera déterminée en fonction de l'heure prévue pour la ponction ovocytaire ou l'insémination.

II.2.4. Le spermogramme

Le spermogramme est l'examen de première intention du bilan masculin à la recherche de la cause d'infertilité.

Méthode : le spermogramme a pour but d'évaluer la quantité et la qualité des spermatozoïdes, une abstinence sexuelle de 2 à 7 jours est recommandée (l'OMS 2010).

Une fiche de renseignement doit être remplie par le préleveur contenant les données de patients (type et durée d'infertilité, les antécédents médicaux, chirurgicaux, fièvre...etc.).

- **Collecte des échantillons du sperme**

Les échantillons de sperme sont produits par masturbation dans un contenant de polypropylène stérile après 2 à 7 jours d'abstinence sexuelle.

Un certain nombre d'instruction doit être respecté avant d'effectuer le prélèvement :

- Uriner
- Lavage des mains
- Lavage soigneux de l'organe génital avec une solution bactéricide suivi d'un lavage avec de sérum physiologique stérile.
- Le recueil se fait dans un flacon stérile au niveau du local prévu dans le laboratoire.
- Le patient doit signaler toute perte de fraction
- Toutes les manipulations et analyses doivent être effectuées selon les normes OMS 2010.
- Le spermogramme est effectué selon les recommandations de l'OMS 2010 après une période de liquéfaction de 30 minutes à 37°

- **Examen macroscopique**

Aspect : L'aspect est généralement blanchâtre, lactescent, si le sperme est trop clair, cela peut indiquer une diminution de spermatozoïdes. S'il est jaunâtre, cela est en faveur d'une infection, s'il est hémorragique, il évoque une hémospemie (présence d'hématies dans le sperme).

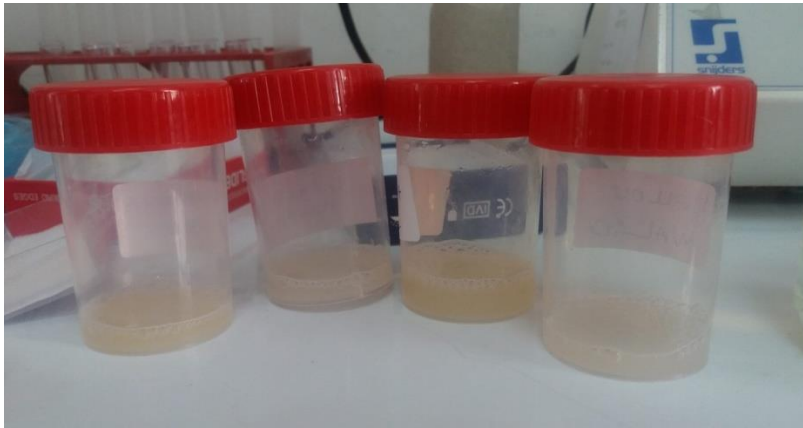


Figure 07 : Echantillons de sperme d'aspects différents (photos originale)

Volume : le volume est mesuré à l'aide d'une pipette graduée et doit être compris entre 1,5 à 6 ml (**OMS 2010**)

PH : le pH est mesuré à l'aide d'une bandelette de papier pH. Le pH doit toujours être mesuré 30 minutes après l'émission, car son alcalinité a tendance à augmenter en fonction du temps. Il doit être compris entre 7,2 et 8 (**OMS 2010**)

Viscosité : on l'évalue à l'aide d'une pipette par mouvement d'aspiration/refoulement. Celle-ci s'évalue selon 4 niveaux

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



Figure 08 : évaluation de la viscosité du sperme (photo originale)

- **Examen microscopique du sperme**

Mobilité : Pour évaluer la mobilité, un examen à l'état frais doit être effectué. Après homogénéisation, on observe une goutte de 10 ul de sperme entre lame et lamelle (22x 22) au microscope à grossissement (x 40). 4 types de mobilité sont observés :

- **Type (a)** : Rapide progressif
- **Type (b)** : Lent ou faiblement progressif
- **Type (c)** : Mobile non progressif (seules les flagelles bougent)
- **Type (d)** : Immobile

La mobilité des spermatozoïdes mobiles et progressifs (a+b) après 30min à 1h doit être supérieure à 32% si celle-ci est inférieure à ces normes le patient sera donc diagnostiqué l'asthenozoospermie (**OMS 2010**)

Vitalité : La proportion de spermatozoïdes vivants doit être déterminée en utilisant le test à l'éosine-nigrosine, qui s'effectue sur sperme frais. Cette coloration est basée sur le principe de la perméabilité des cellules mortes à certains colorants comme l'éosine (membranes plasmiques lésées).

Méthode : Après homogénéisation, On mélange 10ul de sperme, 20ul d'éosine et 30ul de nigrosine et on réalise un frottis qui sera observé au microscope à grossissement (x40).

Les spermatozoïdes vivants ne se colorent pas, c'est-à-dire qu'ils résistent à la coloration à l'éosine, tandis que ceux en rouge ou en rose pâle ont une membrane lésée permettant à l'éosine de pénétrer à l'intérieur de la cellule. Quant à la nigrosine, elle sert seulement à colorer le fond du frottis. (**Voir annexe n 2**)

Après 30min à 1h le pourcentage de spermatozoïdes vivant doit être supérieur ou égale à 58% Si celui-ci est inférieur le patient sera donc diagnostiqué de nécrozoospermie (**OMS 2010**)

Agglomérat : Des spermatozoïdes avec des débris où des cellules rondes.

Agglutiné : Entre des spermatozoïdes les uns sur les autres, le plus souvent due à la rupture de la barrière hémato-spermatique, l'existence d'anticorps anormalement produits par le patient contre ses propres spermatozoïdes.

Numération

- **En spermatozoïdes**

Cette étape permet de déterminer la concentration de spermatozoïdes dans l'éjaculat à analyser. Après homogénéisation on réalise une dilution de sperme, qu'on dépose sur une cellule Malassez puis on calcule le nombre de spermatozoïdes en million/ml suivant la loi :

Si on compte par carreau :

$$N=(n) \times \text{inverse de la dilution} \times (y=100) \times 1000$$

Si on compte par bande :

$$N=(n) \times \text{inverse de la dilution} \times (y=10) \times 1000$$

Si on compte toute la cellule :

$$N=(n) \times \text{inverse de la dilution} \times (y=1) \times 1000$$

n : nombre de spermatozoïdes.

y : le nombre de carreau, bande ou toute la cellule.

N : la concentration en spermatozoïdes.

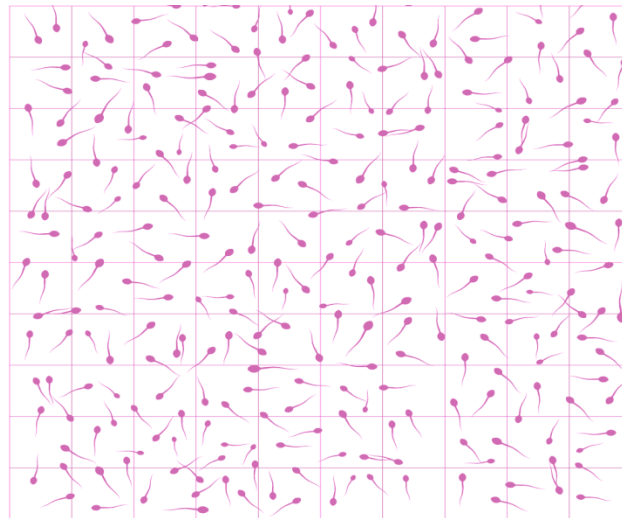


Figure 09: numération des spermatozoïdes

Après comptage le nombre de spermatozoïdes dans un cas normal doit dépasser les 15 millions de spermatozoïdes par ml, un nombre réduit de spermatozoïdes indiquera que le patient souffre d'une oligozoospermie qui peut varier de légère à sévère (**OMS 2010**)

➤ **En cellules rondes**

Elles proviennent de la déformation de l'épithélium germinal. Elles comprennent des spermatogonies, des spermatocytes et des spermatides. Elles représentent habituellement 5 à 10 % des spermatozoïdes. Les cellules rondes ne doivent pas dépasser les 2 millions par ml (**OMS 2010**)

II.2.5. Le spermocytogramme

Le spermocytogramme est un examen médical correspondant à l'analyse cytologique et morphologique des spermatozoïdes au microscope, permettant l'évaluation de la fertilité masculine. Il a pour but d'évaluer la morphologie des spermatozoïdes ainsi que le pourcentage des formes atypiques (formes anormales) .

Deux classifications sont utilisées : la classification de Kruger et celle de David modifiée.

Dans la classification de Kruger, le spermocytogramme est définie par un pourcentage de formes typiques $> 4 \%$ pour laquelle il n'y a pas de diminution de la fertilité.

Selon David il n'y a pas de diminution de fertilité pour un pourcentage de formes typiques $> 15 \%$.

Méthode : après réalisation du frottis spermatique suivant les étapes suivantes :

- Prendre une lame propre et dégraissée L1
- Bien homogénéiser le sperme à analyser
- Déposer de 5 à 10 microlitres, selon concentration
- Faire glisser la lame L2 d'un geste régulier sur la lame L1
- Toucher la goutte par contact avec la lame L2
- Faire glisser la lame L2 d'un geste régulier sur la lame L1
- Laisser sécher
- Faire plusieurs lames et utiliser des lames de bonne qualité (rodées) pour éviter des traces parasites sur les préparations

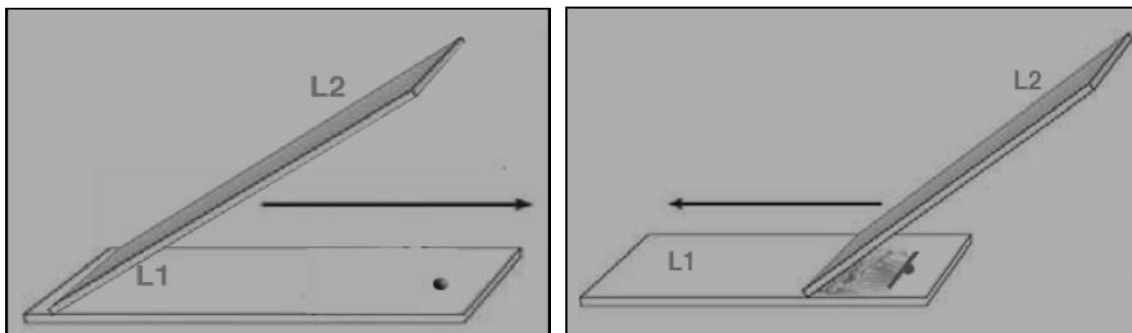


Figure 10 : Etapes de réalisation d'un frottis spermatique

Après séchage et fixation, les lames vont subir une coloration (coloration de Shorr) pour pouvoir bien voir les structures intéressantes du spermatozoïde.

Etapes de la coloration de Shorr

- Mettre les lames séchées dans l'alcool à 75% pendant une heure
- Rincer 12-15 fois 1 seconde dans un bac d'eau du robinet
- Tremper dans la solution d'hématoxylline pendant 1,30 mn.
- Rincer 12-15 fois 1 seconde dans un bac d'eau du robinet
- Tremper 10 fois dans la solution ammoniac/éthanol
- Rincer 12-15 fois 1 seconde dans un bac d'eau du robinet
- Tremper dans une solution d'Ethanol à 50% pendant 5 mn.
- Tremper dans le colorant de **Shorr** pendant 3-5 mn.
- Tremper dans une solution d'Ethanol à 50% pendant 5 mn.

- Tremper dans une solution d'Ethanol à 75% pendant 5 mn.
- Tremper dans une solution d'Ethanol à 95% pendant 5 mn.
- Laisser sécher verticalement sur un papier buvard

Les principales anomalies recensées sont les suivantes :

✓ **Anomalies de la tête (voir l'annexe n 03)**

Acrosome anormal, absent, vacuolé

Tête allongée, amincie, microcéphale, macrocéphale

✓ **Anomalies de la pièce intermédiaire (voir l'annexe n 04)**

Reste cytoplasmique (extrusion)

Pièce grêle

Pièce angulée

✓ **Anomalies du flagelle (annexe n 05)**

Absent

Écourté

De calibre irrégulier

Enroulé

Multiple

II.2.6. La spermoculture (Recherche de germes banaux et mycoplasmes)

Elle fait partie des tests de sécurité sanitaires obligatoire en cas d'AMP, et a pour but l'identification des infections des glandes génitales accessoires masculines qui sont une des étiologies d'infertilité masculine et qui doivent être traitées avant toute AMP

II.2.7. Test de migration survie TMS

Le test de migration survie, aussi appelé test de sélection-survie, ou encore test d'aptitude, consiste à soumettre les spermatozoïdes à un parcours afin de sélectionner les plus résistants. Ce test est utilisé dans le cadre de la PMA où il pourrait jouer un rôle essentiel dans le choix de la technique. Il existe de très nombreuses techniques de sélection des spermatozoïdes, la plus utilisée est la centrifugation sur gradient de densité.

Le TMS est une étape quasi obligatoire pour tous les couples qui envisagent une aide médicale à la procréation, le nombre de spermatozoïdes sélectionnés permet de déterminer les indications thérapeutiques (insémination artificielle, fécondation in vitro ou ICSI).

Ce n'est qu'après évaluation des caractéristiques spermatiques de base après spermogramme qu'on peut lancer le test.

Méthode : Toutes les manipulations sont réalisées à une température ambiante.

Après liquéfaction du liquide séminal obtenue en 30 minutes à la température de la pièce, le volume, le PH, la numération spermatique et la mobilité progressive sont évalués selon les critères de l'organisation mondiale de la santé (OMS).

La centrifugation sur gradients de densité est une méthode qui consiste à déposer l'éjaculat dans une colonne à gradient de densité.

Le sperme liquéfié peut également être centrifugé à travers une suspension de particules de silice (Puresperm) formant une colonne avec des phases de densités différentes.

À la fin de la centrifugation, chaque spermatozoïde se trouve au niveau du tube correspondant à sa densité

Cette technique permet de :

- ✓ séparer les spermatozoïdes mobiles, qui se concentrent dans la phase la plus dense, des autres éléments (spermatozoïdes morts, leucocytes, cellules diverses et débris cellulaires)
- ✓ donne un meilleur rendement avec les spermatozoïdes de mauvaise qualité.

Préparation des gradients de densité

Gradient 90% = 900µl de pure sperme à 100% + 100µl de FertiCultFlushing

Gradient 45% = 450µl pure sperme à 100% + 550µl de FertiCultFlushing

La technique de la migration sur gradient de densité se déroule en deux phases :

Phase 1 :

- Dans un tube stérile de 15 ml à fond conique, distribuer goutte à goutte au moyen d'une pipette: 1ml de solution de gradient à 90%
- Déposer délicatement sur la couche précédente 1ml de gradient à 45%.
- Sur la première couche, déposer ensuite délicatement 1ml de sperme entier, liquéfié et homogénéisé.
- Centrifugation pendant 20 minutes à 1400 tour/min.

Phase 2:

- Aussitôt la centrifugeuse arrêtée, décanter par aspiration les 2 couches supérieures ainsi que la partie haute de la couche du fond Puresperm 90%.
- Retirer le surnageant en laissant un culot de 200 à 250 µl qu'on dépose dans 2 ml de FertiCultFlushing pour le lavage.
- Centrifugation pendant 10 minutes à 1800 tour/min
- Enlever le surnageant en laissant que 250µl
- Diluer le culot avec 250 à 300 microlitres

- Avec une nouvelle pipette Pasteur stérile, homogénéiser délicatement le culot.
- Déposer le culot dans un tube stérile de 5 ml portant le nom du patient et déposer une goutte sur la chambre de comptage en vue de l'évaluation du sperme après sa séparation dans le tube de gradient

On réévalue après le TMS : la mobilité, la concentration et la morphologie.

Tableau I: Test de migration sur vie valeurs de référence (OMS2010)

Nombre (millions/ml)	Possibilités (PMA)	Thérapeutiques
≥ 1	Toutes techniques (IIU, FIV, ICSI)	
0,5 – 1	FIV classique	
03 – 0,5	FIV classique ICSI	
≤ 03	ICSI	

L'infertilité constitue de nos jours un réel problème de santé publique. Malgré les progrès récents dans le diagnostic précoce et la prise en charge des couples infertiles, la non procréation demeure la première cause de divorce en Algérie.

La proportion de couples infertiles augmente avec la durée et le type d'infertilité, plus la durée d'infertilité augmente, plus les taux de réussites des IUI diminuent, en ce qui concerne le type de l'infertilité un pourcentage assez important de couples présentent une infertilité primaire (73%).

Lors de notre étude l'analyse des paramètres spermatiques chez les hommes après spermogramme a révélé un fort pourcentage d'homme atteint de teratozoospermie (75%) ce pourcentage diminue après TMS pour atteindre les 49% d'où l'importance de ce test pour le choix de la technique de procréation la plus adéquate .

Nos résultats ont aussi démontré qu'il existait une relation très importante entre l'âge des femmes et les taux de réussites des IUI, dans notre cas 16 grossesses ont été obtenues chez les femmes avec un âge inférieur à 35 ans tandis que chez les femmes âgées de plus de 40 ans aucune grossesse n'a été observée.

Le nombre de spermatozoïdes inséminé doit être entre 5 et 8 millions pour la pratique de l'IUI avec un seuil minimal d'1 million, tandis que le pourcentage de formes typiques doit être supérieur à 4%

En conclusion la concentration en spermatozoïdes ainsi que les pourcentages des formes typiques sont deux facteurs primordiaux à prendre en considération lors des IUI afin d'optimiser les chances de grossesses.

En perspective, un effectif plus important pourrait mieux confirmer nos résultats. Aussi, le dosage hormonal et ces corrélations pourraient nous apporter plus de précision vis-à-vis des causes de l'infertilité et mieux interprété, cas par cas, l'orientation à suivre pour telle ou telle technique d'AMP.

- **Abdellatif Elfarouki .2015:** Place du spermogramme dans l'exploration de l'infertilité du couple à l'hôpital militaire Avicenne de Marrakech UNIVERSITE CADI AYYAD FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE MARRAKECH Année : 2015
- **Amann R.P. 2008:** The Cycle of the Seminiferous Epithelium in Humans: A Need to Revisit? *Journal of Andrology*; 29(5): 469-487.
- **Annick Courchesne, 2009 :** Mémoire intitulé comparaison de deux nouvelles méthodes d'évaluation de la fertilité masculine avec le spermogramme chez des patients ayant recours à la fécondation in vitro présenté à la Faculté des études supérieures en vue de l'obtention du grade de maîtrise en Sciences Biomédicales
- **Antoine Jm .2016 :** Service de Gynécologie-Obstétrique et Médecine de la Reproduction, Hôpital Tenon, PARIS.2016
- **Auger J., Kunstmann J., Czyglik F., Jouannet P. 1995:** Decline in semen quality among fertile men in Paris during the past 20 years. *N. Engl. J. Med.*, ; 332 : 281-285.
- **Auger J., F. Eustache.2000 :** Standardisation de la classification morphologique des spermatozoïdes humains selon la méthode de David modifiée. *Andrologie*, 2000, 10 ,358-373
- **Agarwal et al., 2015**
- **Azantee Yw, MClin Embry*, Z Ahmad Murad., R Roszaman, MMed ., M.Y Hayati, Dip. Nursing.,M A Norsina.2011:**Associated Factors Affecting The Successful Pregnancy Rate of Intrauterine Insemination at International Islamic University Malaysia (IIUM) Fertility CentreMed J Malaysia Vol 66 No 3 August 2011
- **Babacar D., Oumar F, Ahmed F., Abdoulaye SD., Alain Khassim N., José Marie A .2006** Profil spermiologique de l'homme dans les couples infertiles en milieu ndgro-africain au Sndngal *Andrologie* 2006, 16, N247-252
- **Badawy A., Elnashar A., Eltotongy M.2009:** Effect of sperm morphology and number on success of intrauterine insemination. *FertilSteril*;91:777-81
- **Balistreri S., Gennaro L.2003:** Psychosocial factor and male infertility: a review of empirical studies. *Med Pscosom* 2003;48:17-48.
- **Barton JR., Sibai AJ., IstwanNB.2014 :**Spontaneously conceived pregnancy after 40: influence of age and obesity on outcome. *Am J Perinatol* ; 31 : 795-8
- **Belaisch-Allart J .2001 :**Inseminationintra-uterine ou fecondation in vitro. Pourquoi choisir l'insemination en premier dans la plupart des situations. *GynecolObstetFertil* 29: 567-8

- **Blanc B., Cravello L, Porcu G, et al. Surgical hysteroscopy in the treatment of septate uterus 1998:** systemic treatment or selective indications. Bull Acad Natl Med.;182:251–261
- **Boivin J., Bunting L., Collins J.A., Nygren K.G.2007:** International estimates of infertility prevalence and treatment-seeking: potential need and demand for infertility medical care. Human Reproduction; 22: 1506-12.
- **Bonde J.P., Ernest E., Jensen T.K., Hollund N.H. 1998:** Relation between semen quality and fertility: a population-based study of 430 first-pregnancy planners. Lancet, 352(9135): pp.1172-7
- **Brzakowskia et al., 2009.**
- **Cantineau AE.,Cohlen BJ., Heineman MJ .2009:**Intrauterine insemination versus fallopian tube sperm perfusion for non-tubal infertility. Cochrane Database Syst Rev 15: CD001502
- **Carlsen., Giwercman A., Keiding N., Skakkebaek N.1992:**Evidence for decreasing quality of semen during past 50 years. Sep 12;305(6854):609-13
- **Cédric-Durnerin.2015 :** Nutrition, Poids et fertilité chez la femme. Service de Médecine de la reproduction, Hôpital Jean Verdier, Bondy
- **Clavert A., Bourguignat A., Ferard G.1999 :** The spermogram and the exigencies of quality. Ann Biol Clin (Paris) ;57(3):334–6
- **Clermont Y, 1972:**Kinetics of Spermatogenesis in Mammals: Seminiferous Epithelium Cycle and Spermatogonial Renewal. Physiological Reviews.; 52(1): 198-236.
- **Cornwall G.A. 2009:** New insights into epididymal biology and function. Human Reproduction Update.; 15(2): 213-227.
- **Custers IM., Steures P., Hompes. 2008:** Intrauterine insemination: how many cycles should be perform? Hum Reprod 23: 885-8
- **Cyril Putin., Serge Bianchetti., Jacqueline Lornage .2010 :**Médecine de la Reproduction, Gynécologie Endocrinologie ; 12 (3) : 2.33-41
- **Cornwall G.A. 2009:** New insights into epididymal biology and function. Human Reproduction Update; 15(2): 213-227.
- **Coulibaly O.2000** Caractéristiques cytospermiologiques de la stérilité masculine à propos de 598 cas. Thèse méd ; Bamako
- **Cole ., Ladner., Byrn F.2009 :** The normal variabilities of the menstrual cycle. Fertil Steril. Feb;91(2):522-7

Références bibliographiques

- **Daniel Vaiman.2013** : Unité de Génomique, épigénétique et physiopathologie de la reproduction - U1016 Inserm-UMR 8104 CNRS, Institut Cochin, Paris - Novembre **2013**
- **Daroui Mokaddem H. 2001** : Exploration cytologique et biochimique dans l'hypoinfertilité masculine. Thèse de magistère en biochimie appliquée. Faculté des sciences de la nature et de la vie. Université d'Annaba, Algérie
- **David G., Bisson JP., Czyglik F. 1975** : Anomalies morphologiques du spermatozoïde humain .1. Proposition pour un système de classification. J. GynecolObstetBiolReprod 4: **17-36**
- **Demoulin A.2003**: Male infertility. Rev Med Liege 2003;58 (7-8):**456–60.**
- **De Krester, 2007**: D.M. Endocrinology of the Male Reproductive System. Chapter 1, 2007, Endotext.com.
- **Dickey RP., Taylor SN., Rye PH .1999**: Comparison of the sperm quality necessary for successful intrauterine insemination with World Health Organization threshold values for normal sperm. FertilSteril 71: **684-9**
- **Dip. Nursing.,M A Norsina.2011**:Associated Factors Affecting The Successful Pregnancy Rate of Intrauterine Insemination at International Islamic University Malaysia (IIUM) Fertility CentreMed J Malaysia Vol 66 No 3 August 2011
- **Dodson WC, Moessner J, Miller J.1998**: A randomized comparison of the methods of sperm preparation for intrauterine insemination. FertilSteril 70: **574-5**
- **Drissi J., Koutaini., Rhrab.B., Fehati ., El Hamzaoui.S.2015**: Les facteurs influençant la fertilité masculine. International Journal of Innovation and Scientific Research ISSN 2351-8014 Vol. 15 No. 1 May 2015, pp. 15-26
- **Drosdzol A., Skrzypulec V.2009**: Evaluation of marital and sexual interactions of Polish infertile couples. J Sex Med 2009;6(12),33:**35—46.**
- **Eskenazi B., Wyrobek AJ., Sloter E., Kidd SA., Moore L., Young S., Moore D. 2003**: The association of age and semen quality in healthy men. Human Reproduction, 18: pp.**447-454**
- **Kass.,B.R. Stork,B.W. Steinert.2001**:Varicocele in adolescence induces left and right testicular volume loss PediatrClin North Am2001 ; 48 (6) : 15:**59-69**
- **FENEUX D., DUCOT B., JEULIN C., SERRES C., SPIRAA., JOUANNET P.1986** : Caractéristiques du sperme des hommes féconds et inféconds - Similitudes et différences. In Recherches récentes sur l'épidémiologie de la FertilitéHenri-Suchet., Mintz M., Spira A., Paris, Masson, 1986, **33-41.**

Références bibliographiques

- **Frederick JC., Denkerms Rojas A., Horta I .1994** :Is there a role for ovarian stimulation and intra uterine insemination after age 40. Hum Reprod 9: **2284-6**
- **Geneviève Martin., Andrée Fortin., Frédéric Breton.2015** : Procréation assistée Bibliothèque et Archives nationales du Québec, 2015
- **G. Robin., F Marcelli , V. Mitchell., C Marchetti., L. Lemaitre., D Dewailly ., M Leroy-Billiard., JM.2008** : Rigot a Gynécologie Obstétrique & Fertilité 36 (2008) **1035–1042**
- **Godwin I, 2004**:Cambridge guide to infertility management and assisted reproduction.Cambridge University Press, UK.
- **Haim D., Leniaud L., Porcher R.2009** : Évaluation prospective de l’impact des paramètres spermatiques sur le succès des inséminations intra-utérines. GynecolObstetFertil 37: **229-35**
- **Hammoud AO., Gibson M.2008** Impact of male obesity on infertility: a critical review of the current literature, Fertility and sterility 2008, 90; **897-904**
- **Hamilton., M.Cissen., M.Brandes., J.Smeenck., J.P.de Bruin., Kremer ., Nelen , C.J.C.M. Hamilton. 2015** Total motile sperm count: a better indicator for the severity of male factor infertility than theWHO sperm classification system Human Reproduction, Vol.30, No.5 pp. **1110–1121**, 2015
- **Hauser R., Yogev L., Botchan A .2001**: Intrauterine insemination in male factor subfertility significance of sperm motility and morphology assessed by strict criteria. Andrologia 33: **13-7**
- **HASSAN M.A., KILLICK S.R.2003**: Effect of male age on fertility: evidence for the decline in male fertility with increasing age. FertilSteril, 2003, 79 Suppl 3: p. **1520-7**.
- **Hassan M., Killick SR.2004**: Negative lifestyle is associated with a significant reduction in fecundity. FertilSteril 2004;81:**384-392**
- **Herbement.c, C. Sifer .2014** : Comment choisir le spermatozoïde en ICSI ?Service d’histologie-embryologie-cytogénétiques-CECOS, centre hospitalier universitaire Jean-Verdier, Assistance Publique–Hôpitaux de Paris, avenue du 14-Juillet, 93140 Bondy, France
- **Horvath PM., Shelden RM., Kemmen E .1989**: The relationship of sperm parameters to cycle fecundity in superovulated women undergoing intrauterine insemination. FertilSteril 52: 288-94
- **Huyghea.E., M. Bonalb., M. Daudinc., S. Droupyd.2013** : a Service d’urologie, hôpital de Rangueil 1, avenue du Professeur-Jean-Poulhès, 31059 Toulouse 2013

Références bibliographiques

- **Ikechebelu ., Adinma., Orié EF., Ikegwuonu SO.2003:**High prevalence of male infertility in southeastern Nigeria.J ObstetGynaecol. 2003 Nov;23(6):**657-9**.
- **Jouannet P., Ducot B., Feneux D., Spira A .1988 :** Male factors and the likelihood of pregnancy in infertile
- **Keith Jarvi., Kirk Lo., FRCSC., Ethan Grober., Victor Mak., Anthony Fischer., John Grantmyre., Armand Zini.,Peter Chan, Genevieve Patry., Victor Chow, Trustin Domes.2015:** The workup and management of azoospermic males UrolAssoc J 2015;9(7-8):**2:29-35**
- **Karima Fichtali., Hanane Houmaid .,BouchraFakher .,Yassir Ait Benkaddour .,AbderrahimAboulfalah., Hamid Asmouki .,Abderraouf Soummani.2011:**Insémination intra-utérine : quelle place en 2011mt Médecine de la Reproduction, Gynécologie Endocrinologie 2011 ; 13 (2) : **85-90**
- **K. McElreavey., C. Krausz., C. Patrat., M. Fellous.2008** Infertilité masculine et les microdélétions du chromosome Y Gynécologie Obstétrique & Fertilité, Volume 30, Issue 5, Pages **405-412**
- **KIDD S.A., ESKENAZI B., WYROBEK A.J. 2001:** Effects of male age on semen quality and fertility : a review of the literature. Fertil. Steril., 2001, 75 : **237-248**.
- **Koikana C.1998** Infécondité conjugale dans le service de gynéco obstétrique du CSRef V Thèse Méd; Bamako, 1998, N°63.
- **Koning AMH., Kuchenbecker WKH., Groen H., Hoek A., Land JA., Khan KS., Mol BWJ.2010** Economic consequences of overweight and obesity in infertility: a framework for evaluating the costs and outcomes of fertility care. Hum Reprod Update. 2010;16:**246–254**
- **Kumosani .T., Elshal.M., Al-Jonaid.A., Abduljabar.H.2008:** The influence of smoking on semen quality, seminal microelements and Ca²⁺-ATPase activity among infertile and fertile men. Clin Biochem . ;41:1199–1203.
- **Krausz., Escamilla., Chianese C.2015:** Genetics of male infertility: from research to clinic. Reproduction **150**, R159–R174 (2015).
- **KyumarsSafinejad.,Leila Yadegar.,Saber Safinejad.2015:**Pregnancy Success Rate after IUI by Using Puresperm Density Gradient International Journal of Pharma
- **Law G., Macle hose RF., Longnecker MF.2007:** Obesity and time to pregnancyHuman Reprod 2007;22(2):**414-420**
- **Laurent WAGNER .2004 :** Fertilité de l’homme vieillissant Service d’Uro-Andrologie, Hôpital Caremeau, Nîmes, France Progrès en Urologie (2004), 14, **577-582**

- **Lee RK., Hou JW., Hwu YM., Lin MH., Tsai YC.2002:** Sperm morphology analysis using strict criteria as a prognostic factor in intrauterine insemination. *Int J Androl* 2002;25:277–80.
- **Liu CH, Tsao HM, Cheng TC, Wu HM, Huang CC, Chen CI.2004:**DNA fragmentation, mitochondrial dysfunction and chromosomal aneuploidy in the spermatozoa of oligoasthenoteratozoospermic males. *J Assist Reprod Genet* 2004; 211:19–26.
- **Lockwood M ,Deveneau N.E ; 2015 :** Isolated abnormal strict morphology is not a contraindication for intrauterine insemination American Society of Andrology and European Academy of Andrology
- **Louise Lemmens.,Snjezana Kos., CornelisBeijer., Jacoline W., Brinkman., Frans A.L. van der Horst., Leonie van den Hoven., Dorit C. KieslingerNetty J. van Trooyen-van Vrouwerff., Albert Wolthuis., Jan C.M. Hendriks., Alex M.M. Wetzels.2016:**Predictive value of sperm morphology and progressively motile sperm count for pregnancy outcomes in intrauterine insemination Volume 105, Issue 6, Pages 1462–1468
- **Luke B, Brown MB, Stern JE, Missmer SA, Fujimoto VY, Leach R.2011** Female obesity adversely affects assisted reproductive technology (ART) pregnancy and live birth rates. *Hum Reprod* 2011;26:245-52
- **Maheshwari A., Bhattacharya S., Johnson NP .2008:** Predicting fertility. *Human Fertil* 51: 242-4
- **Marie .B et al., 1999**
- **Merviel P., Heraud MH., Grenier N .2010:** Predictive factors for pregnancy after intrauterine insemination (IUI): an analysis of 1038 cycles and a review of the literature. *FertilSteril* 93: 79-88
- **MIEUSSET R.1998 :** L'inflammation de l'appareil génital masculin et reproduction : traitements in vivo. *Andrologie*, 1998, Vol 8, 3, p 259-268.
- **Miller DC., Hollenbeck BK., Smith GD .2002:** Processed total motile sperm count correlates with pregnancy outcome after intrauterine insemination. *Urology* 60: 497-501
- **Mohamed Gharbi., NajmeddineAmri., WahibChambeh ., Salem Braiek., Rafik El Kamel.2010:**Les torsions sur testicules cryptorchidies *UrolAssoc J.* 2010 4(6): 393–396
- **Mouchel T., Goffic R., Patard J., Samson M.2002 :** Le virus ourlien et l'orchite: vers une approche physiopathologique. *Progrès en urologie* 2002; 12: 124-28

- **Nelson CJ., Shindel AW., Naughton CK., Ohebshalom M., Mulhall JP.2008:** Prevalence and predictors of sexual problems, relationship stress, and depression in female partners of infertile couples. *J Sex Med* 2008;5(8):**1907**—14
- **NG.,DONAT R., CHAN L., LALAK A., DI PIERRO I., HANDELSMAN DJ .2004:** Sperm output of older men. *Human Reproduction*, 19: pp.**1811**-1815
- **Ombelet W, Wouters E, Boels L, Cox A, Janssen M, SpiessensC,et al. 1997:**Sperm morphology assessment:diagnostic potential and comparative analysis of strict or WHO criteria in a fertile and a subfertilepopulation. *Int J Androl.* **1997**
- **Pearce D., Cantisani G., Laihonen A .1999:** Changes in fertility and family sizes in Europe. *Popul Trends* 95:33–40
- **PETERSON A., LANCE R S., RUIZ H.E.1998:** Outcomes of varicocele ligation done for pain. *J. Urol.*, 1998; 159: **1565**-1567.
- **Pierre Nevoux., Geoffroy Robin., Tarek Gonheim., Florence Boitrelle., Jean-Marc Rigot., François Marcelli.2009 :** Varicocèle et infertilité : mythe ou réalitéProgrès FMC
- **Polyzos NP., Tzorias S., Mauri D., Tatsioni A .2010:** Double versus single intrauterine insemination for unexplained infertility: a meta-analysis of randomized trials. *FertilSteril*
- **Rammer E., Friedrich F.1998:** The effectiveness of intrauterine insemination in couples with sterility due to male infertility with and without a woman’s hormone factor. *FertilSteril*1998 ; 69 : 3 :**1**-6.
- **Ransom MX., Blotner MB., Bohrer M .1994:** Does increasing frequency of intrauterine insemination improve pregnancy rate significantly during superovulation cycles? *FertilSteril* 61: **357**-61
- **Regnier.A.2015** La prise en charge de l’infertilité féminine en ostéopathie, Federal European Register of Osteopaths ,2015
- **Reichart M., Kahane I., Bartoov B .2000:** In vivo and in vitro impairment of human and ram sperm nuclear chromatin integrity by sexually transmitted *Ureaplasmaurealyticum* infection. *Biol Reprod* 63, **1041**-1048.

Références bibliographiques

- **Rowe P., Comhaire F., Hargreave T, Mahmoud A.2000:** WHO Manual for the standardized investigation, diagnosis and management of the infertile couple. Cambridge Press, 2000
- **Royere D .2004:** Intrauterine insemination: state-of-the-art in humans. *GynecolObstetFertil* 32: **873-9**
- **Sakhel K., SchwarckS., Ashraf M., Abuzeid M .2005:** Semen parameters as determinants of success in 1,662 cycles of intrauterine insemination after controlled ovarian hyperstimulation. *FertilSteril* 84: **248-9**
- **Schwartz., M J Mayaux., A Spira., M L Moscato., P Jouannet., F Czyglik., David.1983:**Semen Characteristics as a Function of Age in 833 Fertile Men. *Fertility and Sterility* 39 (4): **530-35**
- **Shindel AW., Nelson CJ., Naughton CK., Ohebshalom M., Mulhall JP.2008:** Sexual function and quality of life in the male partner of infertile couples: prevalence and correlates of dysfunction. *J Urol* 2008;179(3):**1056-9**.
- **Spieessens C., Vanderschueren D., Meuleman C., DHooghe T. 2003:**Isolated teratospermia and intrauterine insemination. *FertilSteril* 2003; 80: **1185-1189**.
- **Sonya Norris 2001 :Infertilité :** Prévalence, causes, tendances et traitements Direction de la recherche parlementaire, Bibliothèque du Parlement, 2001 – prb00-32f
- **S. Hamamah., CorciaF., EntezamiG., El Wией.2000 :**Techniques d’AMP et leurs indications dans l’hypofertilité masculine *Andrologie* September 2000, Volume 10, Issue 3, pp **279–283**
- **Thonneau P., Marchand S., Tallec A., Ferial ML., Ducot B., Lansac J.1989 :** Incidence and main causes of infertility in a resident population (1,850,000) of three French regions (1988—1989). *Hum Reprod* 1991;6:**811—6**.
- **Van Waar J., Kruger T.F., Lombard C.J.,2004:** Predictive value of normal sperm morphology in intrauterine insemination (IUI): a structured literature review. *Hum Reprod Update*, 2004, 7(5) : p. 495-500.
- **WainerR.,C. Poncelet.,2011 :**Insémination intra-utérine avec sperme du conjointet., *Physiologie, pathologie et thérapie de la reproduction chez l’humain* Springer-Verlag France, Paris 2011
- **Wainer R., Albert M., Dorion A. 2004:** Influence of the number of motile spermatozoa inseminated and of their morphology on the success of intrauterine insemination. *Hum Reprod* 19: **2060-65**

Références bibliographiques

- **Young et Heath 2001**
- **Zeyneloglu HB .2004:** Single versus double intrauterine insemination: are outcomes affected? *CurrOpinObstetGynecol* 16:251-6

Liste des tableaux

Tableau I : Test de migration survie valeurs de référence (OMS2010).....	28
Tableau II: Grossesses obtenues en fonction du pourcentage de formes typiques et les NIMPS.....	39
Tableau III : Principaux agents pathogènes impliqués dans les infections du sperme.....	Annexe 06

ANNEXES

Annexe 01: Matériel non biologique utilisé



Figure 25 : Papier PH



Figure 26 : Lame Malassez



Figure 27 : Microscope électronique



Figure 28 : Agitateur

ANNEXES



Figure 29 : Centrifugeuse



Figure 30 : Micro pipettes

Figure 31 : Eosine nigrosine



Figure 32 : Spermascore

ANNEXES

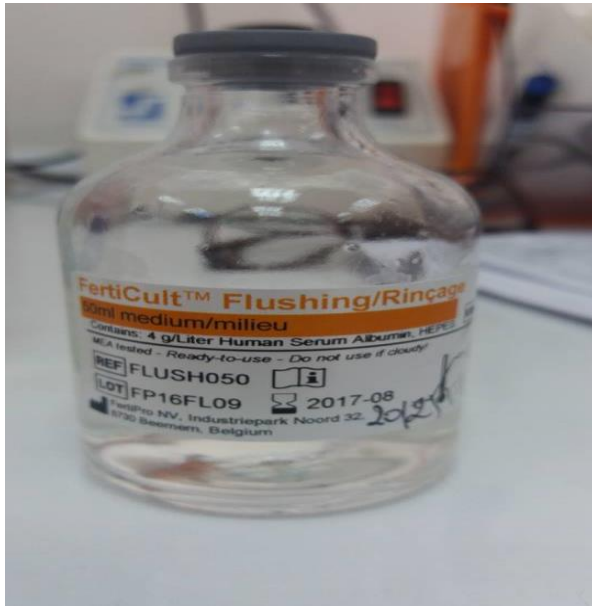


Figure 33 : Fercult Flushing

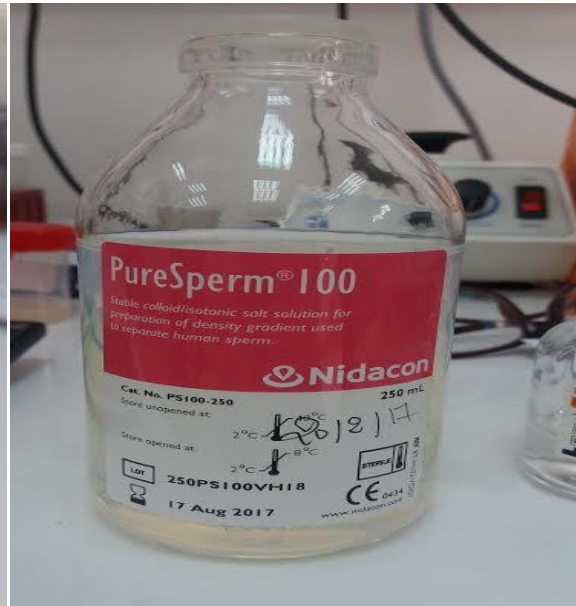


Figure 34 : Pure Sperm

Annexe n 02

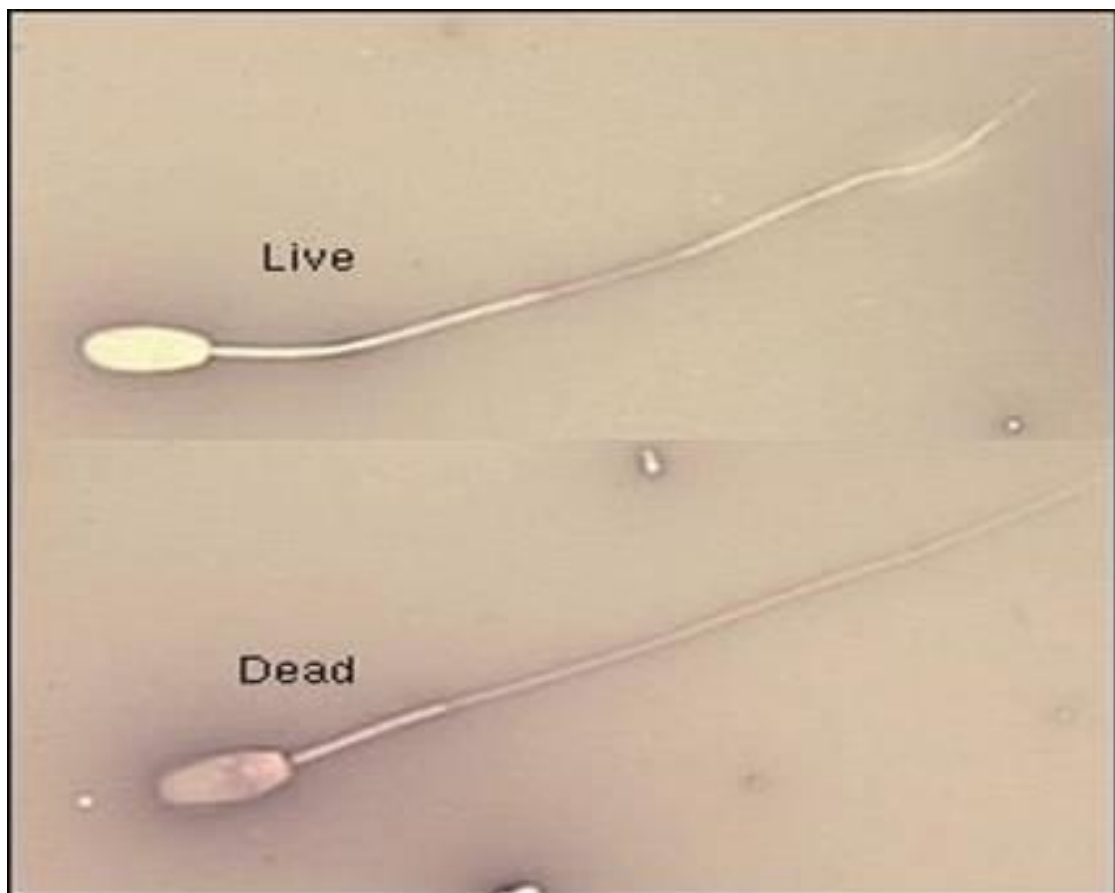


Figure 35: Aspect microscopique des spermatozoïdes après la coloration éosine nigrosine

ANNEXES

Annexe n 03

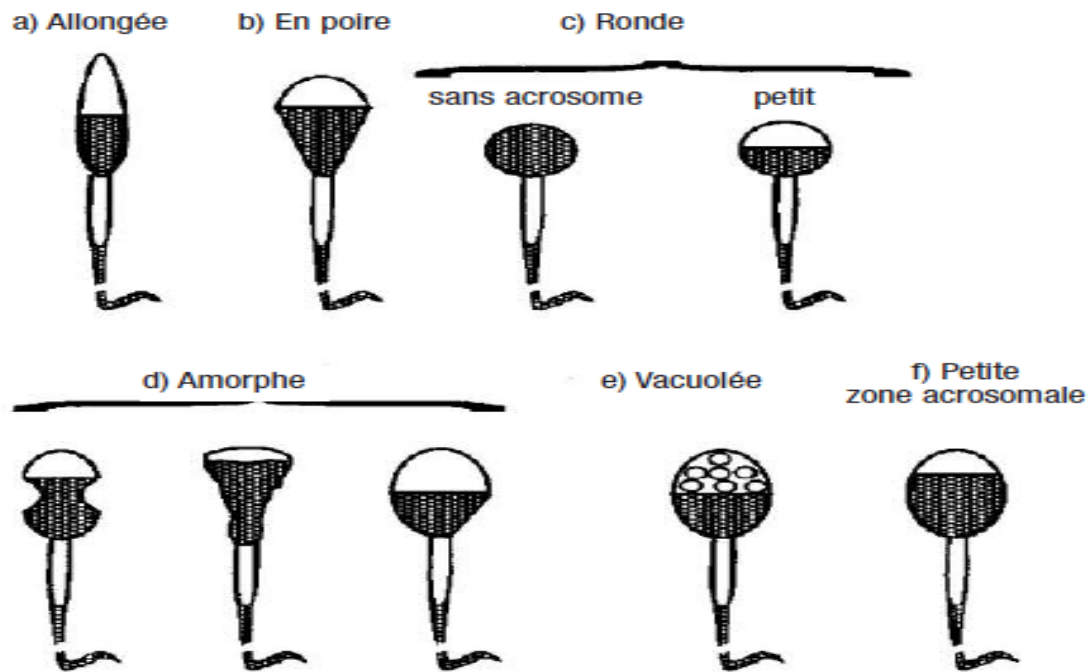


Figure 36 : Anomalie de la tête des spermatozoïdes

Annexe n 04

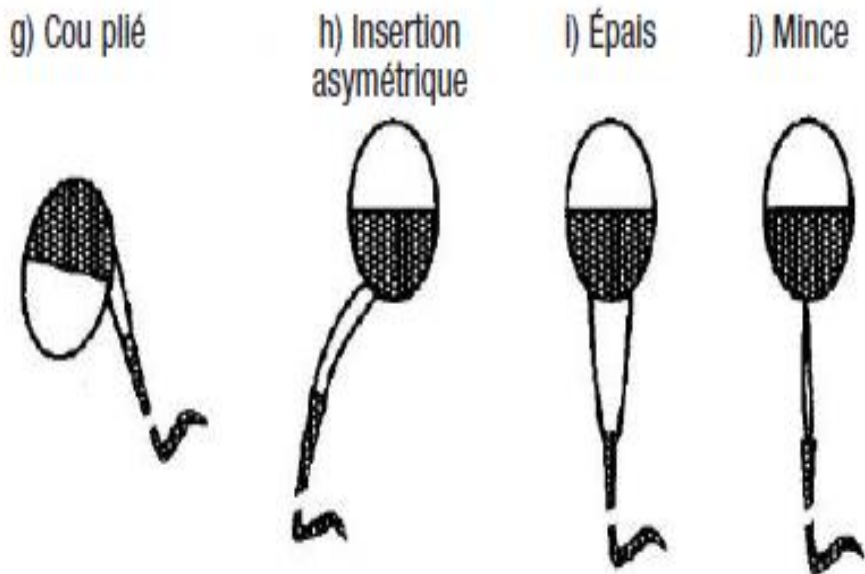


Figure 37 : Anomalie de la pièce intermédiaire des spermatozoïdes

ANNEXES

Annexe n 05

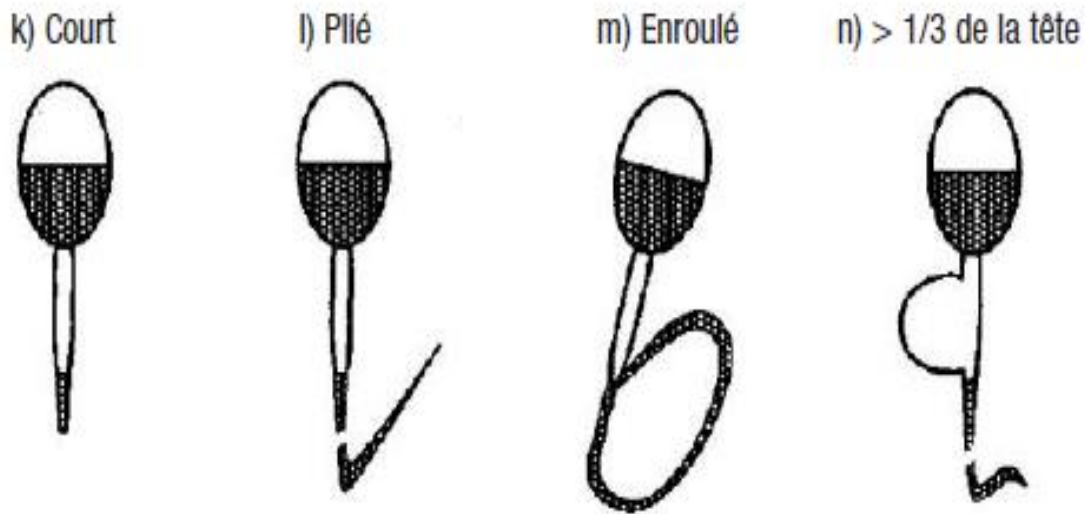


Figure 38: Anomalie du flagelle

Annexe n 06

Tableau I: Principaux agents pathogènes impliqués dans les infections du sperme (Cyril et al, 2010)

Micro-organismes	
Bactéries	<i>C. trachomatis</i> <i>N. gonorrhoeae</i> <i>M. hominis</i> <i>U. urealyticum</i> <i>M. genitalium</i> <i>Staphylococcus spp.</i> , <i>Streptococcus spp.</i> Entérobactéries, <i>Pseudomonas spp.</i> <i>H. influenzae</i> , <i>H. parainfluenzae</i> Mycobactérie Tréponématose Anaérobies
Virus	HPV HSV Virus ourlien

ANNEXES

Annexe n 07 : fiche du spermogramme

CENTRE D'ASSISTANCE MEDICALE A LA PROCREATION



TIZIRI

01, Rue des frères DJERROUD

El Biar, (16) Alger, 16000

Tel : 021 90 70 54 / 021 90 70 00 - Fax : 021 90 99 98

Nom :
Prénom :
Age :
N° Dossier :

Date de prélèvement : /2016
Lieu de prélèvement : Centre Tiziri
Durée d'abstinence : jours
Médecin prescripteur:

SPERMOGRAMME

Volume : (N : >1.5 ml)

Couleur :

Agglomérat :

Viscosité :

Floculat :

Agglutinats :

PH : (N : 7.2-8)

Spermatozoïdes

Concentration : million(s/ml (N : > =15 million/ml)

Numération : million(s/éjaculat (N : > =40 million/éjaculat)

Cellules Rondes : million(s/ml (N : < =2 million/ml)

Leucoscreen : million(s/ml (N : < =1 million/ml)

Mobilité N: (a+b) > =32%	30min	4h ou Centrifugation
et progressif (a)		
faiblement progressif (b)		
non progressif (c)		
immobile (d)		

Sur 100 spermatozoïdes Vivants. (N : < = 58%)

SPERMOCYTOGRAMME

Sur 100 spermatozoïdes observés, on a révélé formes typiques (N : > 15% : classification de David modifiée)

Index d'anomalies multiples IAM : 1.45(N : < = 1.66)

Têtes

Allongé :
Amincie :
Microcéphale :
Macrocéphale :
Tête multiples :
Base anormale :
Acrosome absent :
Acrosome mal formé :

Pièces intermédiaires Autres anomalies

Reste cytoplasmique :
Grêle :
Angulation :
Flagelles Polynucléaires :
Absent :
Ecourté :
Calibre irrégulier :
Enroulé :
Multiple :

Flagelle isolés :
Spermatozoïdes en lyse :
Cellules de la lignée germinale :
Autre cellules :
Fragments cellulaires :

Conclusion :

Annexe n 08 : Fiche technique PureSperm 100

PureSperm® 100

Application envisagée : résumé et explication

PureSperm®100 est une suspension de silice colloïdale stérile (autoclavée 541-33°F) dans une solution saline isotonique. Elle est conçue pour la préparation de gradients de densité pour la séparation et la purification de sperm humaine utilisé dans les techniques de reproduction assistée. Ce système assure une séparation efficace entre le sperm normal et les lymphocytes, les cellules épithéliales, le sperm immature ou anormal, les débris cellulaires, les bactéries et le liquide séminal.

Composants

Silice avec revêtement de silice	Jans sodium
Jans chlorure	Eau de qualité WFI
Jans chlorure	HEPES
Jans potassium	EDFA
	Glucose

Caractéristiques

pH	7.4-7.6
Densité (mOsm/kg H ₂ O)	300-330
Niveau d'incubation	<1,0 µl/ml
Survie du sperm 18 heures après séparation par gradient de densité	>70 %

Le contenu est testé un par un en fonction de la survie du sperm humain.

Les facteurs et boîtes sont soumis à un test NEA sur 2 cellules.

Conservation et stabilité

Conserver les facteurs fermés entre 2 et 40 °C, et éviter les températures en dehors de cette plage. Dans ces conditions, PureSperm®100 a une durée de conservation de 24 mois. La date d'expiration est indiquée sur les facteurs et les boîtes.

Ouvrir et fermer les facteurs dans des conditions aseptiques. Après ouverture, conserver entre 2 et 6 °C les facteurs non utilisés. La durée de conservation sur l'étiquette est valable lorsque le produit est conservé conformément aux recommandations du fabricant.

Aucun antibiotique, additif instable ou conservateur n'a été ajouté par le fabricant à PureSperm®100.

Précautions et avertissements

- Lors de la récupération de la granulés de sperm, suivre les instructions figurant sur la notice du produit afin d'éviter toute contamination par inadvertance.
- Appliquer toujours des procédures aseptiques.
- Si des vases scellés sont disponibles, les utiliser pendant la centrifugation pour éviter la création d'aérosols.
- Nettoyer les pertes accidentelles à l'aide d'un chiffon ou d'un papier humide. PureSperm®100 rend les sols et les surfaces extrêmement glissants.
- PureSperm®100 ne présente aucun risque d'infection ou de combustion. Une fiche de données de sécurité peut être obtenue auprès du distributeur ou du fabricant (voir nidacon.com).
- Ne pas utiliser de solution montrant une contamination bactérienne.
- Ne pas utiliser le contenu si le sceau prouvant l'intégrité est brisé.
- La Federal Law des États-Unis restreint la vente de ce dispositif aux médecins ou sur ordonnance.
- Vérifier la légalité de l'utilisation des produits des techniques de reproduction assistée dans votre pays.

Commandes

Volumes	N° article
100 ml	PS100-100
250 ml	PS100-250
1000 ml	PS100-1000



Pour de plus amples informations ou une aide, contactez votre distributeur ou le fabricant.



Nidacon International AB
 Höjbergsgatan 16 B
 SE-432 37 Mölndal
 Suède
 Tél. : +46-31-703 06 30
 Fax : +46-31-43 54 15
 E-mail : contact@nidacon.com
 www.nidacon.com

Annexe n 09 : Fiche technique FertiCult.

FertiCult™ Flushing medium

Cell culture medium for washing of human ova, spermatozoa and embryos, for swim-up of spermatozoa, sperm injection in ICSI, into uterine insemination and embryo transfer

Document reference: FPOS 001 R01 B.2, Update: 20/SEP/2011



USED ABBREVIATIONS

ICSI Intracytoplasmic Sperm Injection
IUI Intra uterine insemination

GENERAL INFORMATION AND INTENDED USE

FertiCult Flushing medium is a formulation for washing of human ova, spermatozoa and embryos. FertiCult Flushing medium can also be used for swim-up techniques of human spermatozoa, sperm injection in oocytes during ICSI, insemination of washed spermatozoa in the uterus (IUI) and for embryo transfer. The medium is complete and needs no further additives. The medium contains HEPES, no CO₂ incubation is required. FertiCult Flushing medium does not contain Insulin, thus for oocyte pick-up, use FertiCult Aspiration medium. As with all IVF media, FertiCult Flushing medium ought to be preincubated in the incubator for 12 hours before use (with lid closed).

COMPOSITION

FertiCult Flushing medium is a ready-to-use HEPES-buffered medium which also contains bicarbonate, physiological salts, glucose, lactate and human serum albumin (4.00g/liter).

Genomicone Sulphate can be added upon request (10 mg/liter).

MATERIAL INCLUDED WITH THE KIT

Product code	Product description
FLUSH000	3 x 20ml of FertiCult Flushing medium
FLUSH025_B	5x22.5ml of FertiCult Flushing medium
FLUSH050	5x45ml of FertiCult Flushing medium
FLUSH100	3x150ml of FertiCult Flushing medium
FLUSH_000_PHR	1x20ml of FertiCult Flushing medium with Phenol Red
FLUSH025_PHR	3 x 20ml of FertiCult Flushing medium with Phenol Red
FLUSH050_PHR	5x22.5ml of FertiCult Flushing medium with Phenol Red
FLUSH100_PHR	3x150ml of FertiCult Flushing medium with Phenol Red
FLUSH025_PHR_G	1x20ml of FertiCult Flushing medium with Phenol Red and Genomicone
FLUSH050_PHR_G	1x50ml of FertiCult Flushing medium with Phenol Red and Genomicone

MATERIAL NOT INCLUDED WITH THE KIT

- Incubator at 37°C (5% CO₂)
- Petri dishes
- Microscope
- Test tubes
- IAF batch (ISO 5 environment)
- Syringe (e.g. 1ml Plastock)
- Catheter

PRODUCT SPECIFICATIONS

- Chemical composition
- pH: between 7.20-7.80 (Release criteria)
- Osmolality: 270-290 mOsm/kg
- Sterility: sterile (SAL 10⁻⁵)
- Endotoxins: < 3.25 EU/ml
- Mouse Embryo Assay (blastocysts after 96h): > 80% after 30min of exposure (zygote stage)
- Use of Ph.D. or USP grade products if applicable
- Certificate of analysis and MSDS are available upon request

PRE-USE CHECKS

- Do not use the product if it becomes discoloured, if medium contains phenol red, cloudy, or shows any evidence of microbial contamination
- Do not use the product if seal of the container is opened or defect when the product is delivered

STORAGE INSTRUCTIONS

- Store between 2-25°C, once opened store between 2-5°C
- Do not freeze before use
- Keep away from (sun)light
- After opening the container do not use the product longer than 7 days
- Do not use after expiry date

WARNINGS AND PRECAUTIONS

Standard measures to prevent infections resulting from the use of medicinal products prepared from human blood or plasma include selection of donors, screening of individual donations and plasma pools for specific markers of infection and the inclusion of effective manufacturing steps for the inactivation/removal of viruses. Despite this, when medicinal products prepared from human blood or plasma are administered, the possibility of transmitting infective agents cannot be totally excluded. This also applies to unknown or emerging viruses and other pathogens. There are no reports of proven virus transmissions with albumin manufactured to European Pharmacopoeia specifications by established processes. Therefore, handle all specimens as if capable of transmitting HIV or hepatitis.

Always wear protective clothing when handling specimens.

Always work under strict hygienic conditions (ISO 5 environment, e.g. LAF-bench) to avoid possible contamination, even when FertiCult Flushing medium contains Genomicone.

METHOD

Washing of spermatozoa (suggested procedure)

The washing of spermatozoa can be done at room temperature or at 37°C.

1. Add 5 ml FertiCult Flushing medium to the native semen sample and mix. Centrifuge for 15 minutes at approximately 300g.
2. Remove supernatant and leave about 0.5ml of semen in the centrifuge tube.
3. Add 5ml FertiCult Flushing medium to the test-tube. Mix the solution gently until the pellet is completely dissolved.
4. Centrifuge again for 10 minutes at 300g.
5. Perform a swim-up.

Swim-up procedure (according to WHO, 2010)

1. Mix 100 sperm sample (or sperm/medium mix after performing "washing of spermatozoa" procedure) well.
2. Place 1ml of semen in a sterile 15-ml conical centrifuge tube, and gently layer 1.2ml of FertiCult Flushing medium over it. Alternatively, place the semen carefully under the medium.
3. Incline the tube at an angle of about 45°, to increase the surface area of the semen-culture medium interface, and incubate for 1 hour at 37°C.
4. Gently return the tube to the upright position and remove the uppermost 1ml of medium. This will contain highly motile sperm cells.
5. Dilute this with 1.5-2.0ml of FertiCult Flushing medium.
6. Centrifuge at 300-500g for 5 minutes and discard the supernatant.
7. Resuspend the sperm pellet in 0.5 ml of FertiCult Flushing medium.

Embryo transfer (according to Eisenbe, 2005)

1. Take a sterile syringe, fill with FertiCult Flushing medium, and eject air bubbles. Attach the syringe to a catheter, and eject the medium.
2. Draw up FertiCult Flushing medium into the syringe and push down the plunger to the 15µl calibration mark.
3. Draw up the embryo(s) into the catheter so that the volume to be transferred is approximately 20-30µl.
4. Hand catheter and syringe to the clinician for injection and transfer in the uterus.

BIBLIOGRAPHY

1. WHO Laboratory Manual for the Examination and processing of human semen, 5th Edition, World Health Organisation (2010).
2. Eisenbe PR. (2005). In-vitro Fertilization and Assisted Reproduction. A textbook of in vitro fertilization and assisted reproduction, 3rd edition, Taylor & Francis, Procedure No. K.7.



FertiPro NV - Industriepark Noord 30 - 8730 Beemster
Tel +31 (0)50 79 18 06 - Fax +31 (0)50 79 17 99
URL: www.fertipro.com - E-mail: info@fertipro.com