



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

UNIVERSITE SAAD DAHLEB BLIDA 1

FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE

Département : Biologie des populations et des organismes

Option : Biologie et physiologie de la reproduction

Mémoire de fin d'études en vue de l'obtention de Master académique en science de La nature
et de la vie

Thème :

OLIGO-ASTHÉNO-TERATOSPERMIE ET PRÉPARATION DU
SPERME EN VUE D'UNE TECHNIQUE D'INSEMINATION
ARTIFITIELLE (IAC)

Présentée par :

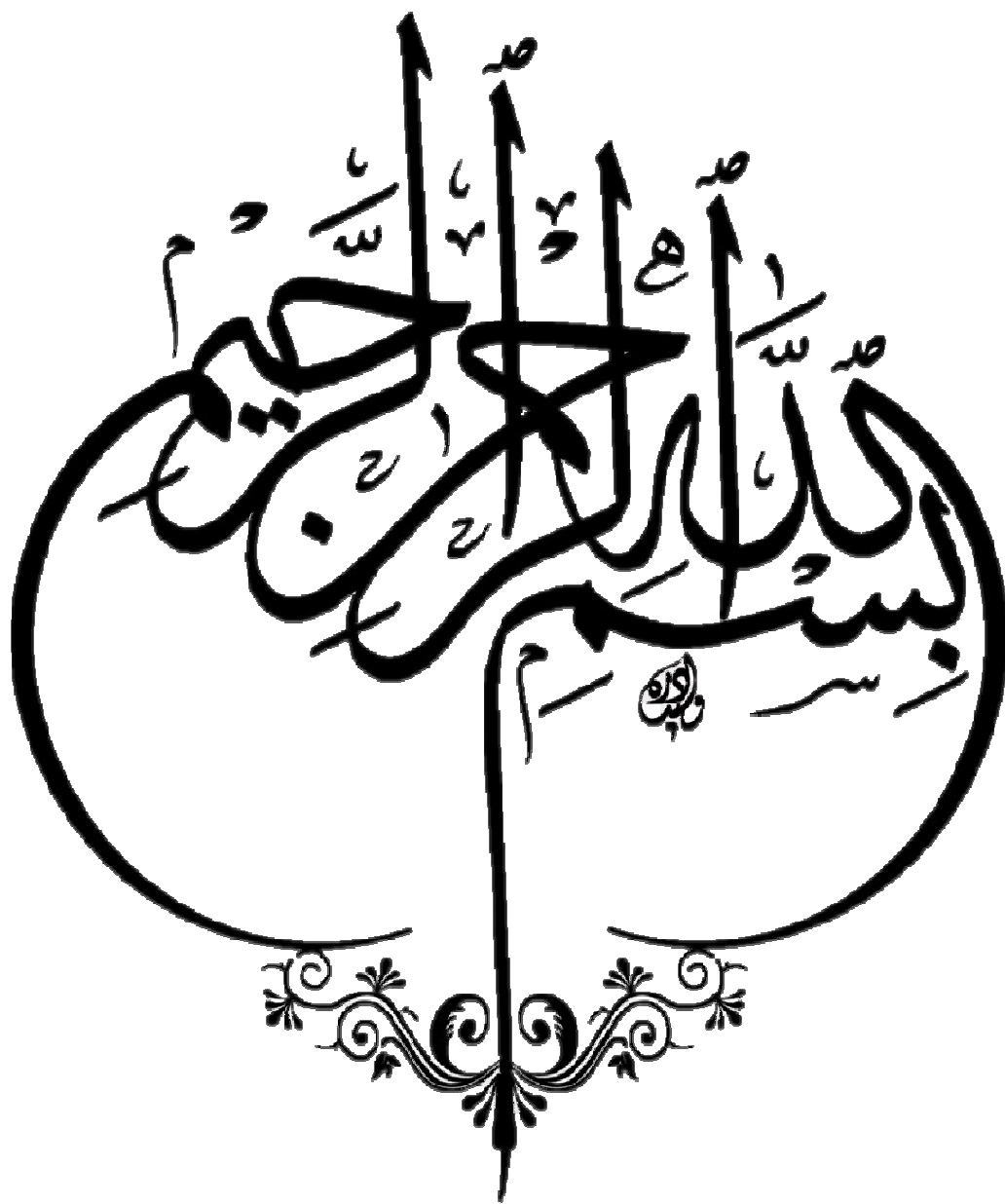
- Mr DEBBAH Abdelhak
- Mr GUENFOUD Abdellah

Date de soutenance : 04/07/2019

Devant les membres de jury :

Présidente : Mme KARRAF.Ezohra MCA USD-Blida1
Examinatrice : Mme ZATRA MCB USD-Blida1
Promotrice : Mme BENAOUZ MAA USD-Blida1
Co-promotrice : Mme DERRADJI Responsable des biologistes (CHU-NafsisaHamoud)

Année Universitaire 2018/2019



Remerciements

Tout d'abord nous rendons grâce à Allah de nous avoir donné la vie, la force nécessaire pour réaliser ce travail. Louange à Allah, tout puissant, clément et miséricordieux. Un travail de mémoire est le fruit d'un travail collectif. Nous voulons remercier ici toutes les personnes m'ayant aidé de près ou de loin.

Nous remercions très chaleureusement Mme Benmazouz, notre Promotrice de mémoire. Merci pour votre disponibilité et votre encadrement efficace. Merci pour votre compréhension, votre grande gentillesse et pour la confiance que vous nous aviez témoignée tout au long de cette étude, Malgré vos importantes obligations.

Soyez assurées de notre profonde gratitude.

Nous remercions particulièrement les membres du jury d'avoir accepté de juger ce travail et en être les examinateurs de cette mémoire.

Nos sincères remerciements s'adressent plus spécialement à Mme Derradji Sarah. Amina, Sarah et Karima, pour son aide précieuse, sa compétence scientifique et ces conseils techniques. Merci pour leur soutien, ta disponibilité et ta gentillesse.

Nous n'oublions pas de remercier vivement les membres de l'équipe laborantine de **PMA**, en pour leur aide et soutien morale. Nous remercions aussi tous mes collègues de la promotion 2018-2019 et les étudiants de master et nous leur souhaitons beaucoup de réussite.

Finalement, Nous tiens à remercier nos très chers parents, nos frères et nos sœurs pour leur soutien morale et physique, ainsi que tous ceux qui, de près ou de loin, nous ont aidé dans notre tâche.

Merci..



Dédicace

Je dédie ce modeste travail à :

A l'esprit de ma mère

*Aucun hommage ne pourrait être à la hauteur de
L'amour Dont elle n'avait pas cessé de me combler.*

Que dieu l'accepte dans son vaste paradis.

A mon père

Que je l'aime beaucoup et qui m'a soutenue tout au long de ma vie

A ma belle-mère et bien sûr A mes frères

*RABEH, FATEH, HAKIM ET YUCEF et mes sœurs aussi HOURIA et RAZIKA et
FATIHA sans oublié mes Grands-parents.*

A toute la famille DEBBAH, et mes amis,

A mon binôme ABDELLAH et toute la famille QUENFOUD.

Et à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin pour que ce

Projet soit possible, je vous dis merci.

Abdelhak





Dédicace

Toutes les lettres ne sauraient trouver les mots qu'il faut...

Tous les mots ne sauraient exprimer la gratitude,

L'amour, le respect et la reconnaissance...

Je dédie ce modeste travail :

*A mes très chère parents, symboles de courage et de volonté, qui ont
consacré et sacrifié leurs vie pour mon bien être.*

*Je vous remercie pour tout le soutien et l'amour que vous me portez depuis mon enfance
et j'espère que votre bénédiction m'accompagne toujours.*

*Que ce modeste travail soit l'exaucement de vos vœux tant formulés, le fruit de vos
innombrables sacrifices, bien que je ne vous en acquitterai jamais assez.*

A mes très chères et sœurs : Hafida et Naima

A mes frères : Mourad, Merzak, Mounir, Sid Ali, Abdellkader

A ma très cher binôme Abdelhak et sa famille.

Toute la promotion de physiologie de la reproduction 2018/2019.

Et à tous les êtres chers à mes yeux que je n'ai pas évoqués

Abdellah



Résumé :

L'infertilité masculine est une pathologie relativement fréquente dans notre pays, les facteurs étiologiques masculins sont multiples ce qui nous oriente vers une étude épidémiologique, il s'agit de risques comportementaux et environnementaux pouvant influencer les paramètres spermatiques. Une étude cytomorphologique permet d'identifier quelques anomalies affectant les spermatozoïdes en vue d'un PMA.

Il s'agit d'une étude perspective portant sur 65 cas référés au centre de PMA par leurs médecins traitants pour diagnostic d'infertilité durant la période s'étalant du mois de Février jusqu'au mois de Mars 2019 à hôpital NafissaHamoud (parnet).

Les paramètres épidémiologiques, cliniques et para cliniques ont été enregistrés pour chaque patient.

La Fréquence des patients ayant un spermogramme et/ou un spermocytogramme pathologique était de 92% avec une prédominance de l'anomalie spermatique oligo-asthénotératospermie (OATS).

Nous avons noté une moyenne d'âge de 39,08 ans, avec des extrêmes de 30 et 50 ans et la tranche d'âge de 30-35 ans est la plus représentée avec 30% des patients.

Nos résultats indiquent que le taux d'infertilité primaire (82%) est plus élevé par rapport au taux d'infertilité secondaire qui est de (18%), et la classe d'âge la plus suspectée est 30-50 ans.

La durée moyenne d'infertilité chez nos patients est marquée par une grande variabilité avec des extrêmes de 1 an jusqu'à 15 ans mais la durée de 1-5 an est la plus fréquente avec 61% des cas ce qui indique qu'une majorité des patients consulte précocement.

L'étude cytologique des spermatozoïdes des éjaculats analysés nous a permis de recenser 45 cas présentant une anomalie de la tête, 38 cas présentant une anomalie de la Pièce intermédiaire et 28 cas révélant une anomalie du flagelle

Cette étude montre un effet modéré des facteurs de risque environnementaux et comportementaux tel que certaines professions (fonctionnaires et chauffeurs) sur les paramètres du sperme. L'exposition à la chaleur et aux toxines semble être le facteur le plus délétère pour la spermatogenèse.

Mots-clés : Morphologie spermatique. Infertilité masculin .Tératospermie. PMA. OATS.

ABSTRACT:

Male infertility is a relatively frequent pathology in our country. Male etiological factors are multiple, which leads us to an epidemiological study, these are behavioral and environmental risks that can influence sperm parameters. A cytomorphological study identifies some abnormalities affecting sperm cells for ART (Assisted reproductive technology).

This is a perspective study of 65 cases referred to the ART center by their attending physicians for infertility diagnosis during the period from February to March 2019 at NafissaHamoud Hospital (Parnet).

Epidemiological, clinical and para-clinical parameters were recorded for each patient.

The Frequency of patients with a spermogram and/or pathological spermocytogram was 92% with a predominance of Oligo-Astheno-Teratospermia sperm anomaly (OATS).

We have noted an average age of 39.08 years, with extremes of 30 and 50 years and the age group of 30-35 years is the most represented with 30% of patients.

Our results indicate that the primary infertility rate (82%) is higher than the secondary infertility rate (18%), and the most suspected age group is 30-50 years.

The average duration of infertility in our patients is marked by great variability with extremes from 1 year to 15 years but the duration of 1-5 years is the most frequent with 61% of cases indicating that a majority of patients consult early.

The cytological study of the spermatozoa of the ejaculates analyzed included 45 cases with a head anomaly, 38 cases with a midpiece anomaly and 28 cases with a flagellum anomaly.

This study shows a moderate effect of environmental and behavioral risk factors such as certain professions (civil servants and drivers) on sperm parameters. Exposure to heat and toxins seems to be the most harmful factor for spermatogenesis.

Keywords: Spermmorphology, Male infertility, Teratospermia, ART, OATS.

الملخص

العقم عند الذكور هو مرض شائع نسبيًا في بلدنا، والعوامل المسببة للذكور متعددة التي توجها لدراسة وبائية، فهو يتعلق بالمخاطر السلوكية والبيئية التي يمكن أن تؤثر على الحيوانات المنوية.

تحدد دراسة خلوية الشكل لبعض التشوهات التي تصيب الحيوانات المنوية للقيام بـ بـ ط

هذه دراسة من منظور 65 حالة تم إجرائها في المركز أ ب ط

من قبل أطباء هم المعالجين لتشخيص العقم خلال الفترة من فبراير إلى مارس 2019 في مستشفى نفيسة حمود

تم تسجيل المعلومات الباثية والسرييرية وشبه السرييرية لكل مريض.

كانت وافر المرضى الذين يعانون من الحيوانات المنوية أو الحيوانات المنوية المرضية 92% مع توافر الحالة للسانالمنوي بـ بـ ط

لقد لاحظنا أن متوسط العمر 39.08 عامًا، حيث يبلغ الحد الأقصى 30 و 50 عامًا والفئة العمرية 30-35 عامًا هي الأكثر تمثيلًا بنسبة 30% من المرضى

تشير نتائجنا إلى أن معدل العقم الأساسي (82%) أعلى من خلال المساهمة في معدل العقم الثانوي الذي يبلغ (18%)، والفئة العمرية المشتبه فيها هي 30-50 سنة

يتسم متوسط مدة العقم عند مرضانا بتراوح من 1 سنة إلى 15 سنة ولكن مدة 1-5 سنوات هي الأكثر شيوعًا مع 61% من الحالات التي تشير إلى أن الغالبية العظمى استشارت المرصفي وقت مبكر

شملت الدراسة الخلوية للحيوانات المنوية للحيوانات المنوية التي تم تحليها بيننا التحديد 45 حالة تعرضت لضعف في الرأس، و

38 حالة تعرضت لضعف في القطعة الوسطى و 28 حالة تكشف عن ضعف في السوط

توضح هذه الدراسة تأثير معتدلاً لعوامل الخطر البيئية والسلوكية مثل بعض المهن (المسؤولون والسائقون) على معايير الحيوانات المنوية. يبدو أن التعرض للحرارة والسموم هو أكثر العوامل لخطر لتكوين الحيوانات المنوية.

الكلمات المفتاحية: نطفة التشكل. العقم عند الذكور. أقالبلدان نمو أ ب ط

Liste des figures :

Figure 1 : Appareil génital masculin	04
Figure 2 : Coupe sagittale d'un testicule	05
Figure3 : Etapes de spermatogenèse	07
Figure4 : spermiogénèse	08
Figure5 : Structure et morphologie des spermatozoïdes	09
Figure6 : Modifications testiculaires endocrines et exocrines liées au vieillissement.	12
Figure7 : Influence de certaines infections sur la fertilité	14
Figure8 : Classification de David 1995 des anomalies morphologiques desSpermatozoïdes	16
Figure9 : Répartition des patients en fonction de la normalité ou la pathogénicité des résultats du spermogramme/ spermocytogramme	26
Figure10 : Répartition des patients en fonction de tranche d'Age.	27
Figure11 : Répartition des deux types d'infertilité en fonction de tranche d'Age.	28
Figure12 : Répartition des cas selon la profession	29
Figure13 : Répartition des cas selon les habitudes de vie toxique.	30
Figure14 : Répartition des patients selon le type d'infertilité.	31
Figure15 : Répartition des cas en fonction de la durée d'infertilité.	32
Figure16 : Distribution des fréquences des anomalies spermatiques	33
Figure17 : Fréquence des anomalies morphologiques des spermatozoïdes	33
Figure18 : Distribution des anomalies de la tête.	34
Figure 19 : Distribution des anomalies de la pièce intermédiaire.	35
Figure 20 : Distribution des anomalies du flagelle.	36

Listedes tableaux :

Tableau.1 : Marqueurs de chaque compartiment et leurs concentrations

11

Listedes abréviations :

AS :	Asthénospermie.
ATS :	Asthéno-tératospermie.
FIV :	Fécondation In Vitro.
IAC :	Insémination Artificiel du Conjoint.
ICSI :	Injection Intra cytoplasmique du Sperme.
OATS :	Oligo-Asthéno-Tératospermie.
OMS :	Organisation Mondiale de la Santé.
OS:	Oligospermie
OTS:	Oligo-Tératospermie.
PI :	Pièce Intermédiaire.
PMA :	Procréation Médicalement Assistée.
TMS :	Test de Migration et de Survie.
TST :	Testostérone
PH ;	Potentiel d'Hydrogène
MB :	Membrane basal

Table des matières :

Remerciement

Dédicace

Résumé

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Introduction **01**

Chapitre I : Rappel Bibliographique

I.1. Fertilité **03**

I.2. Infertilité : **03**

a- Primaire 03

b- Secondaire 03

I.3. Rappel anatomique : **03**

I .3.1. Appareil génital masculin 03

I .3.2. Testicules : 04

a- Voies spermatiques 04

b- Glandes annexes 06

I.4. Rappels physiologiques : **06**

I.4.1. Spermatogénèse 06

I.4.2. Morphologie du spermatozoïde 09

I.4.3 spermatozoïde normal 10

I.4.4. anomalies des spermatozoïdes 10

I.5. Sperme : **10**

a- Phase cellulaire 10

b- Liquide séminal 11

I.6. Influence de certains facteurs sur la spermatogénèse : **11**

a. Effet de la température sur la spermatogénèse 11

b. Effet de la radiation sur la spermatogénèse 11

c. Modifications histologiques 11

I.7. Facteurs de risque de L'infertilité	12
I.7.1.Âge	12
I.7.2.Modifications hormonales	12
I.7.3. Modification des paramètres spermatiques	12
I.7.4. Modifications histologiques	13
I.7.5. Malformations anatomiques :	13
a. Varicocèle	13
b. Cryptorchidie	13
c. Hypospadias	13
d. Infections et antécédents infectieux	14
I.8.Exploration fonctionnelle de l'infertilité :	14
I.8.1. Spermogramme	14
I.8.2. Spermocytogramme	15
I.8.3. Classification de la morphologie des spermatozoïdes	15
a) Méthode de Kruger	15
b) Méthode de David modifiée :	15
I.8.4. Spermoculture (Analyse bactériologique du sperme)	16
I.9 Traitement du sperme :	17
I.9.1 : Migration ascendante (Swim Up)	17
I.9.2 : Centrifugation sur gradients de densité	17
Chapitre II : matériel et méthode	
II.1.Matériel biologique	19
II.2. Spermogramme :	20
II.2.1. Etude macroscopique du sperme	20
II.2.2.Etude microscopique du sperme	21
II.3. Spermocytogramme :	22
a- Préparation du frottis :	22
b- Coloration :	22
II.4. Préparation du sperme en vue de PMA :	23
II.4.1. Test de migration et de survie :	23
II.4.2. Méthode de gradient de densité :	23
II.5 Etude statistique :	24

Chapitre III : Résultat et discussion

III.1-Résultats globaux du spermogramme et spermocytogramme	26
III.2. Répartition des cas en fonction des facteurs de risques	27
III.2.1. Répartition selon La tranche d'âge :	27
III.2.2 Relation entre le type du l'infertilité et l'âge :	27
III.2.3. Répartition selon la profession :	28
III.2.4. Répartition selon les habitudes de la vie toxique	29
III .3.Répartition des cas en fonction de certains paramètres cliniques	30
III .3.1. Répartition selon le type de l'infertilité	30
III .3.2. Répartition selon la durée de l'infertilité	31
III .4. Répartition des cas en fonction des paramètres biologiques :	32
III .4.1. Fréquence des anomalies spermatiques :	32
III .4.2. Fréquence des anomalies morphologique	33
a- Anomalies de la tête	34
b- Anomalies de la pièce intermédiaire	35
c- Anomalies de flagelle	35
Conclusion	38
Référence	
Annexe	

Introduction

Introduction

L'infertilité se définit comme étant la difficulté à concevoir pour un couple, qui se traduit le plus souvent par l'allongement du délai de la conception menant vers une fécondabilité inférieure à 5% [01]. En Afrique, malgré la forte croissance démographique, l'infertilité du couple est souvent vécue comme un drame aussi bien personnel, familiale que social. Selon l'OMS, l'infertilité du couple est aussi en nette progression en Algérie [02]. Ceci pourrait s'expliquer par divers facteurs tels que: le recul de l'âge de désir du premier enfant, le mode de vie de plus en plus calqué sur le modèle occidental, l'abandon de nos habitudes alimentaires au profit de la consommation des produits de plus en plus artificiels, l'utilisation abusive des médicaments traditionnels, ondes et radiations nocives, et déchets et substances toxiques.

On peut estimer qu'à l'heure actuelle, un facteur causal masculin est impliqué chez la moitié des couples souffrant d'infertilité, et que cela concerne environ un homme sur 20. Pour évaluer les capacités migratoires et fécondantes du spermatozoïde, le biologiste dispose du spermogramme,

C'est toujours le résultat de l'analyse sémiologique qui impose la technique de PMA à utiliser dans le couple infertile, que la stérilité soit d'origine masculine, féminine ou mixte.

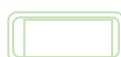
En plus de l'analyse de première intention qui porte essentiellement sur l'évaluation de la qualité et de la quantité du sperme (numération, mobilité, morphologie), on sera amené, dans un certains cas, à effectuer des analyses complémentaires permettant d'affiner le diagnostic.

L'objectif de notre travail est très simple à savoir l'intérêt que porte le spermogramme et le spermocytogramme dans l'identification des anomalies qualitatives et quantitatives des spermatozoïdes chez les personnes atteints d'infertilité. En vue de PMA AU service de gynécologie obstétrique de l'Hôpital Parnet.

Dans le but de répondre à notre objectif nous allons travailler sur un ensemble de cas présentant un problème d'infertilité de type masculine voulant avoir recours à la PMA.

Pour cela nous avons opté pour le plan suivant :

Une introduction théorique rappelons la physiopathologie de la reproduction masculine, une partie expérimentale, réalisation de l'anamnèse, spermogramme et spermocytogramme, discussion des résultats et enfin une conclusion.



Chapitre I :
Rappel Bibliographiques

I.1. Fertilité :

La fertilité humaine est définie comme l'aptitude biologique des couples à obtenir une grossesse aboutissant à une naissance vivante. [3]

L'obtention d'une grossesse aboutissant à une naissance vivante nécessite : Un cycle menstruel avec ovulation ; La production et l'émission de spermatozoïdes lors de rapports sexuels non protégés ; La conception d'un zygote ; Le développement du zygote jusqu'à un terme viable. [3]

I.2. Infertilité :

L'infertilité est le résultat d'une maladie (une interruption, une cessation, ou un désordre des fonctions, des systèmes ou des organes du corps) de l'appareil reproducteur masculin ou féminin qui empêche la conception d'un enfant ou la capacité de mener une grossesse à l'accouchement. La durée des rapports sexuels non protégés avec incapacité à concevoir devrait être d'environ 12 mois avant qu'une évaluation de l'infertilité ne soit entreprise, à moins que les antécédents médicaux, l'âge ou les résultats du bilan de l'infertilité dictent une évaluation et un traitement antérieurs. [4]

On décrit deux types d'infertilité masculine : [3]

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

b- Secondaire : c'est l'absence de grossesse après un minimum d'un an de rapports sexuels non protégés chez une femme qui a déjà eu une grossesse : [4]

I.3. Rappel anatomique

I.3.1. Appareil génital masculin :

- Le système reproducteur masculin comprend les gonades, les organes génitaux externes, le tractus génital, et les glandes sexuelles accessoires. Il a deux fonctions principales : Fonction endocrine et fonction exocrine. [5]

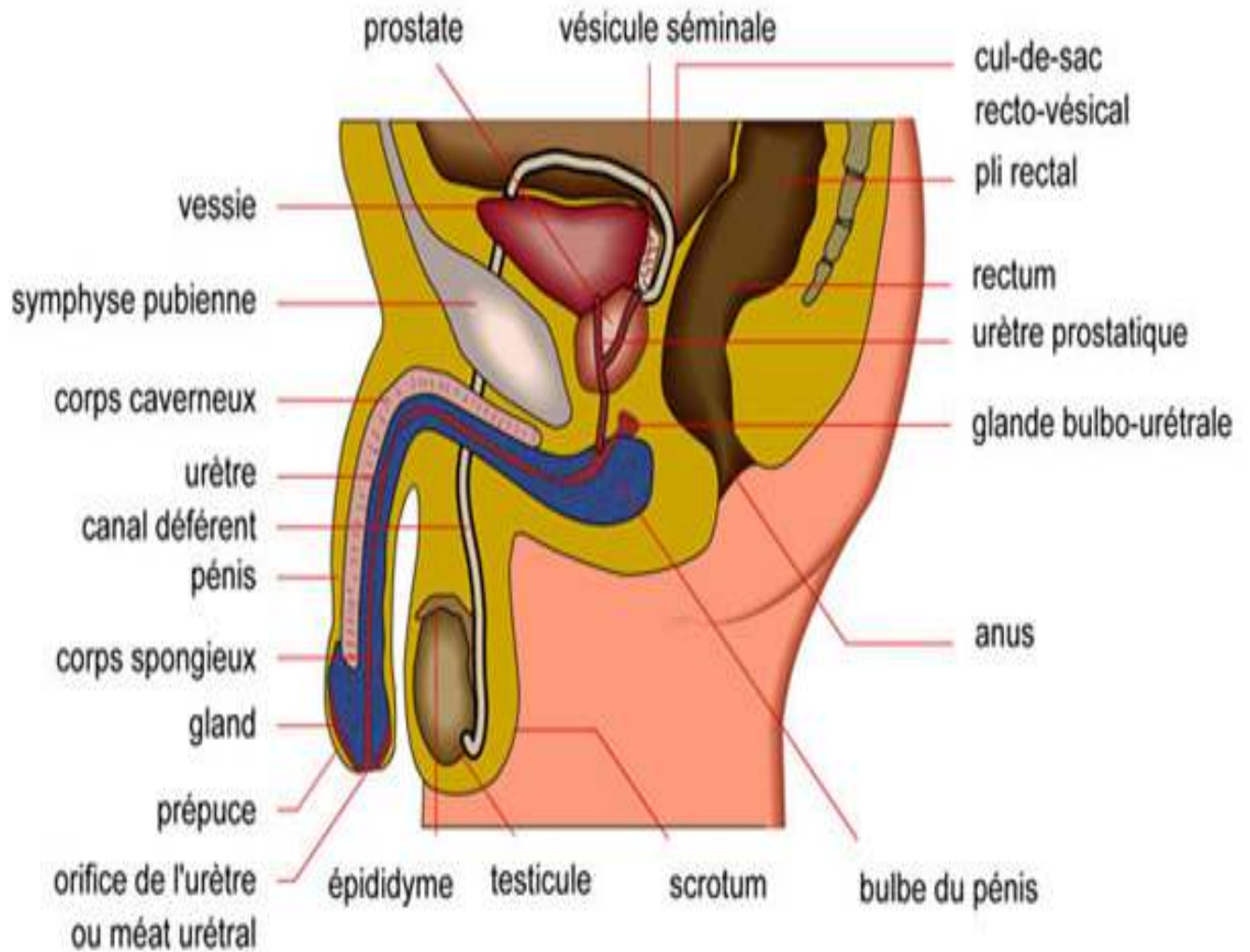


Figure 01 : Appareil génital masculin [6]

I.3.2. Testicules :

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

A. Voies spermatiques :

- **Tubes droits** : Sont des conduits de 1mm de long, tapissés histologiquement d'un épithélium simple cubique ou aplati.
- **Rétestis** : appelé aussi réseau de Haller constitue d'avantage des lacunes que des canaux creusés dans le corps d'Highmore. Il est recouvert d'un épithélium cubique simple.

- **Cônes éférents** : Ils appartiennent à l'épididyme dont ils constituent le globus major, tapissés histologiquement d'un épithélium festonné reposant sur une membrane basale. [9].

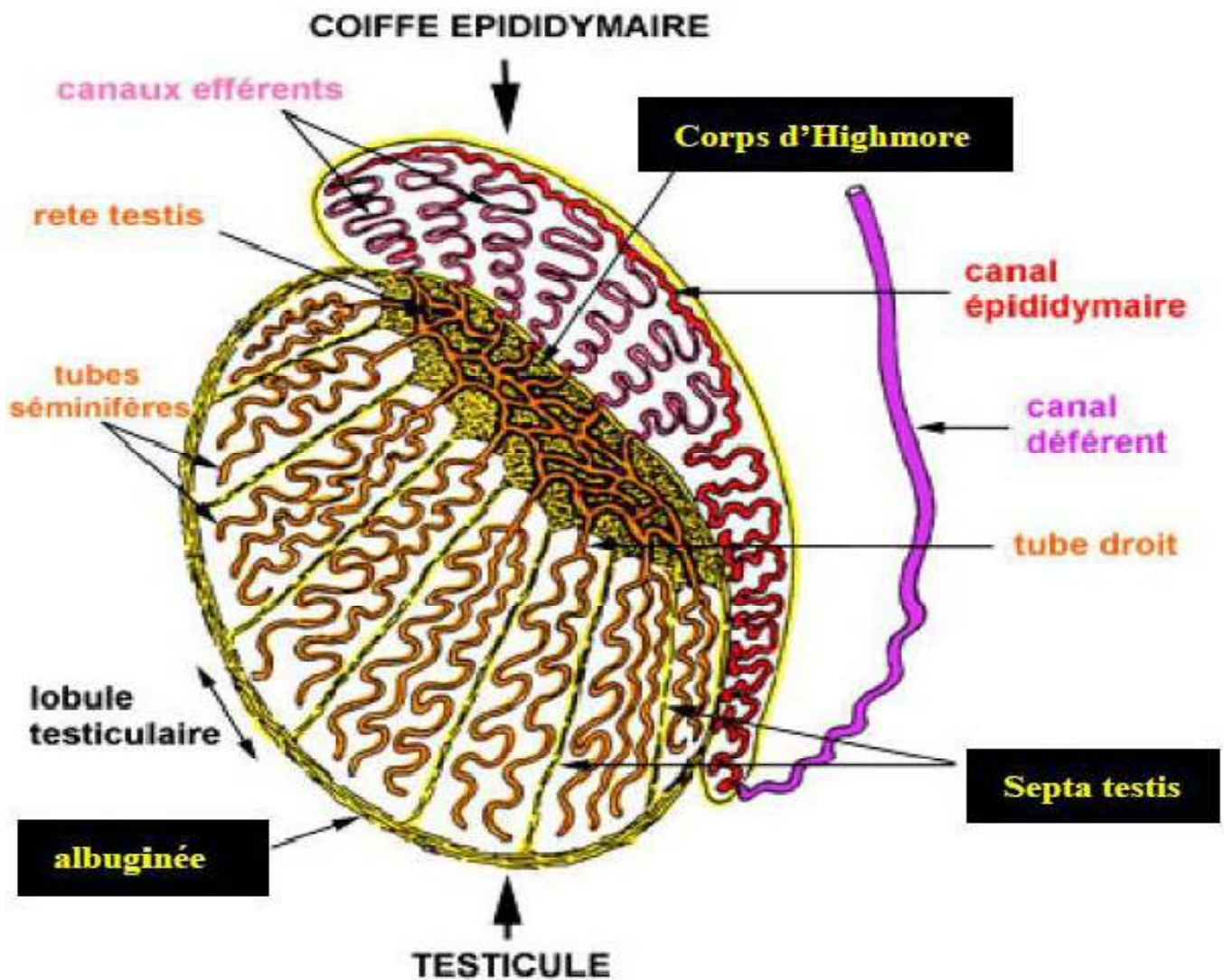


Figure02 : Coupe sagittale d'un testicule [8]

- **Canal déférent** : Il fait directement suite au canal épididymaire : c'est un élément du cordon spermatique et il mesure environ 40cm de long pour un diamètre de 2mm. Partant de la queue de l'épididyme, il traverse le canal inguinal et la fosse iliaque, puis il se recourbe vers le bas fond vésical ou il se continue par le canal éjaculateur, il présente une dilatation allongée ; l'ampoule du canal déférent ou ampoule différentielle située au-

dessus du point d'abouchement des vésicules séminales dans le canal déférent. Le canal déférent n'est pas une simple voie vectrice du sperme ; la présence de cellules de type glandulaire le rapproche du canal épидидymaire ; il est parcouru d'ondes péristaltiques qui assurent la progression des sécrétions testiculo-épididymaires. Quant à l'ampoule du canal déférent, elle apparaît comme un réservoir à l'intérieur duquel s'accumule le sperme dans l'intervalle des éjaculations.

- **Canal éjaculateur** : Long de 2cm sur 1 mm de diamètre, il s'étend du point d'abouchement de la vésicule séminale dans le canal déférent à l'urètre prostatique ; son calibre diminue progressivement de son origine à sa terminaison. C'est un simple conduit vecteur [10].
- **Urètre** : L'urètre est le canal excréteur de l'urine et du sperme chez l'homme. Il conduit le sperme accumulé dans le sinus prostatique au cours de la phase d'émission et l'urine stockée dans la vessie entre les mictions. Il s'étend du col de la vessie à l'extrémité de la verge.

B. Glandes annexes : Ces glandes produisent la majeure partie du sperme :

➤ **Vésicules séminales** :

Ce sont deux réservoirs membraneux dans lesquels s'accumule le sperme dans l'intervalle des éjaculations. Elles sont longues de 5 à 7 centimètres, de la forme d'un petit doigt, elles sécrètent un liquide clair, visqueux et alcalin, qui agit sur l'état physiologique des spermatozoïdes en maintenant normale leur mobilité et en leur assurant une vitalité maximale dans le sperme [11].

➤ **Prostate** :

Elle apparaît comme un organe musculo-glandulaire, impair et médian, adhérent à la face inférieure de la vessie et entourant le carrefour urogénital à l'abouchement des vésicules séminales dans les canaux déférents.

➤ **Glandes de Cowper** :

Elles sont constituées de deux petites masses glandulaires de la taille de petites noisettes situées à la jonction de l'urètre spongieux dans l'épaisseur de l'aponévrose péniennne moyenne elles possèdent un canal excréteur relativement long chez l'homme adulte, qui atteint 30 à 40 mm de long et il s'ouvre sur la paroi postérieure de l'urètre pénien au niveau de la partie antérieure du cul-de-sac du bulbe [12].

➤ **Verge ou pénis** :

C'est l'organe externe qui assure la copulation et la miction chez l'homme, cette double fonction est assurée grâce au tissu érectile et à l'urètre. Le pénis est situé au-dessus des bourses, à la partie antérieure du périnée, est constitué par deux corps caverneux et un corps spongieux [13].

I.4. Rappels physiologiques :

I.4.1.Spermatogénèse : C'est le processus de transformation des cellules souches appelées spermatogonies ou gamètes males en spermatozoïdes elle comporte plusieurs phases (au-dessous) :

a)Phase de multiplication où une spermatogonie se divise en deux cellules toujours diploïdes ($2n$ chromosomes) appelées spermatocytes de 1er ordre (I).

b) Phase d'accroissement : ces spermatocytes de 1er ordre (I) deviennent plus volumineux avec des transformations de la chromatine. Ceci correspond à la prophase de la première division de méiose.

c) Phase de maturation : le spermatocyte I se divise en deux spermatocytes de 2ième ordre (II) qui sont haploïdes (n chromosomes) par une mitose réductionnelle. Enfin, le spermatocyte II se transforme en spermatide qui ne se divisera plus.

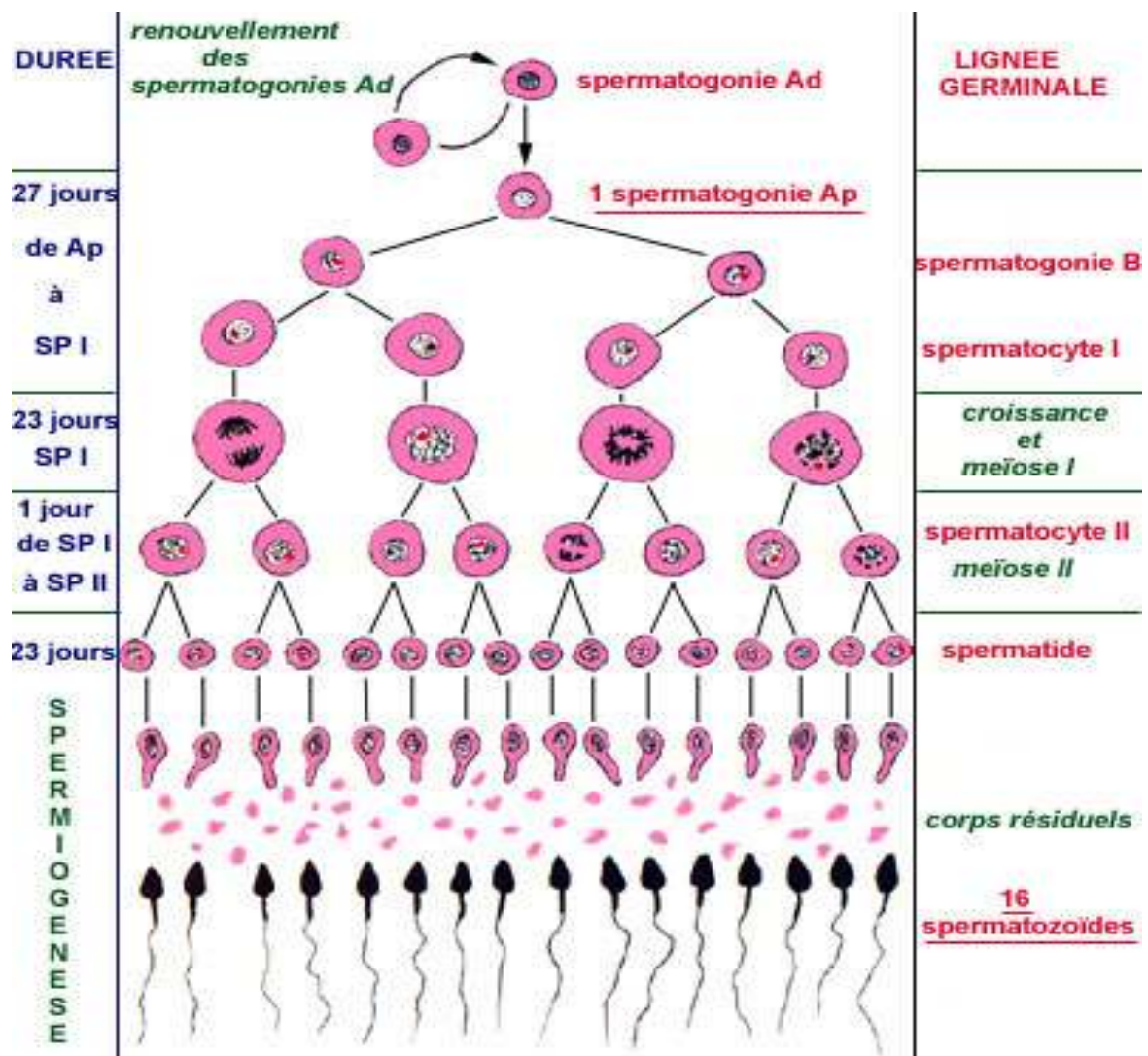


Figure 03 : Etapes de spermatogénèse [14]

d) Spermiogénèse : c'est la dernière phase de différenciation, étape capitale pendant laquelle la spermatide se transforme en spermatozoïde définitif, c'est-à-dire il perd son Cytoplasme

superflu et est doté d'une queue. Les spermatozoïdes acquièrent leur mobilité ainsi que leur pouvoir fécondant au cours de la traversée de l'épididyme et du canal déférent. Ce pouvoir fécondant n'est d'ailleurs complet qu'après le parcours des voies génitales féminines (capacitation).

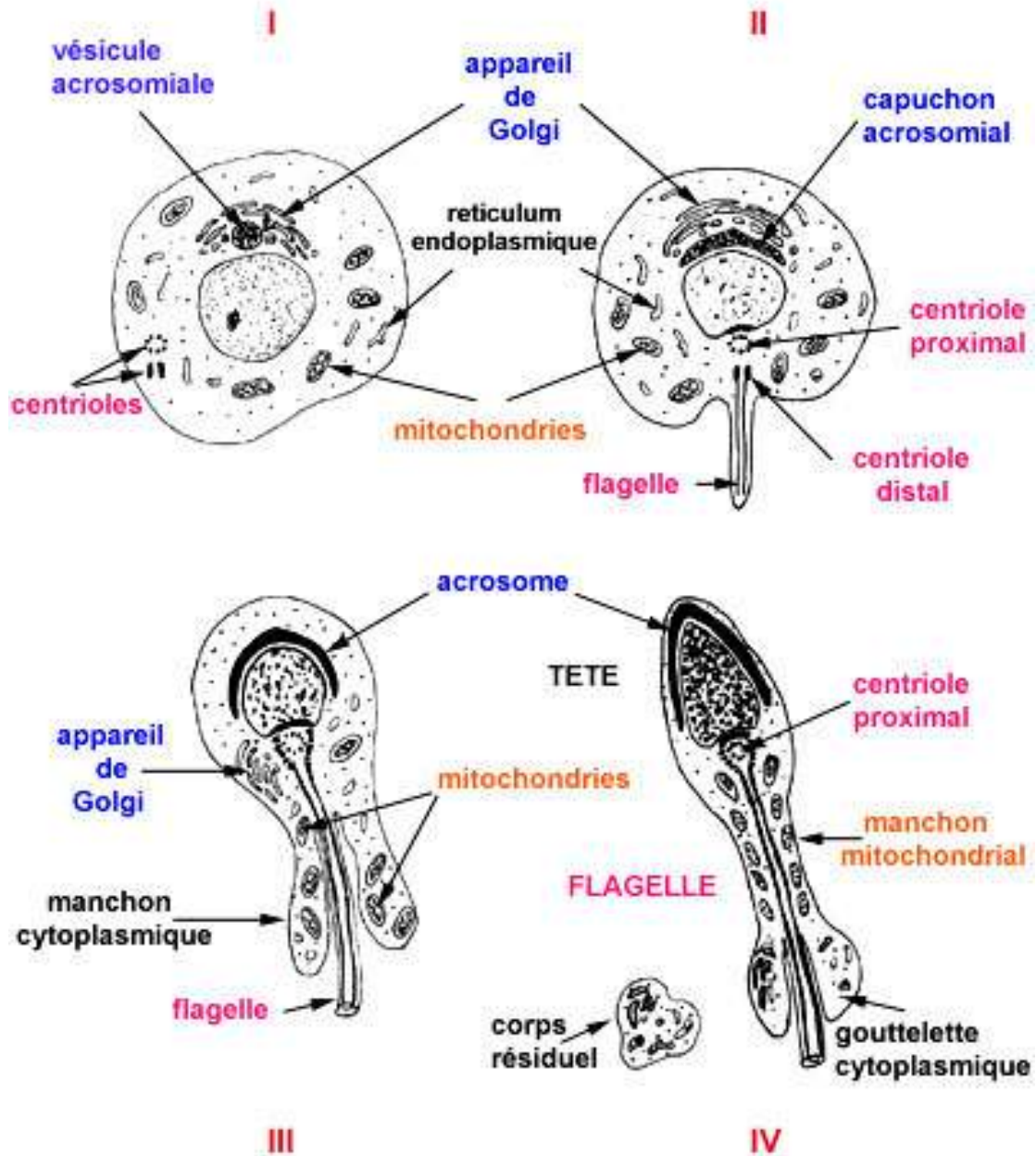


Figure04 : Spermiogénèse [15].

I.4.2. Morphologie du spermatozoïde : C'est une cellule autonome qui mesure 40 à 50 microns de long. Elle est constituée de trois parties distinctes : la tête, la pièce intermédiaire et le flagelle.

1. **Tête** : elle a une forme ovalaire mesurant environ le 1/10ème de la longueur du spermatozoïde avec un contour régulier. Elle est constituée du noyau et de l'acrosome :
 - a- **Noyau** : contient la chromatine, masse dense, porteuse du patrimoine Génétique sous forme haploïde (n chromosomes).
 - b- **Acrosome** : recouvre 40 à 70% de la surface antérieure de la tête (cape acrosomique). Son contour est régulier et présente une texture homogène
2. **Pièce intermédiaire** : elle est placée derrière la tête et entoure la partie proximale du flagelle. Elle abrite une forte concentration de mitochondries, véritables petites usines à fabriquer de l'énergie sous forme d'ATP (qui sert de carburant au mouvement flagellaire). Le fructose, sucre que l'on trouve dans le liquide spermatique pourra servir de source d'énergie provisoire avant que le spermatozoïde ne pénètre dans la glaire où il trouvera d'autres sources d'énergie.
3. **Flagelle** : il représente la partie locomotrice du spermatozoïde. Il lui confère un mouvement oscillatoire nécessaire tout au long de son parcours vers l'ovocyte.

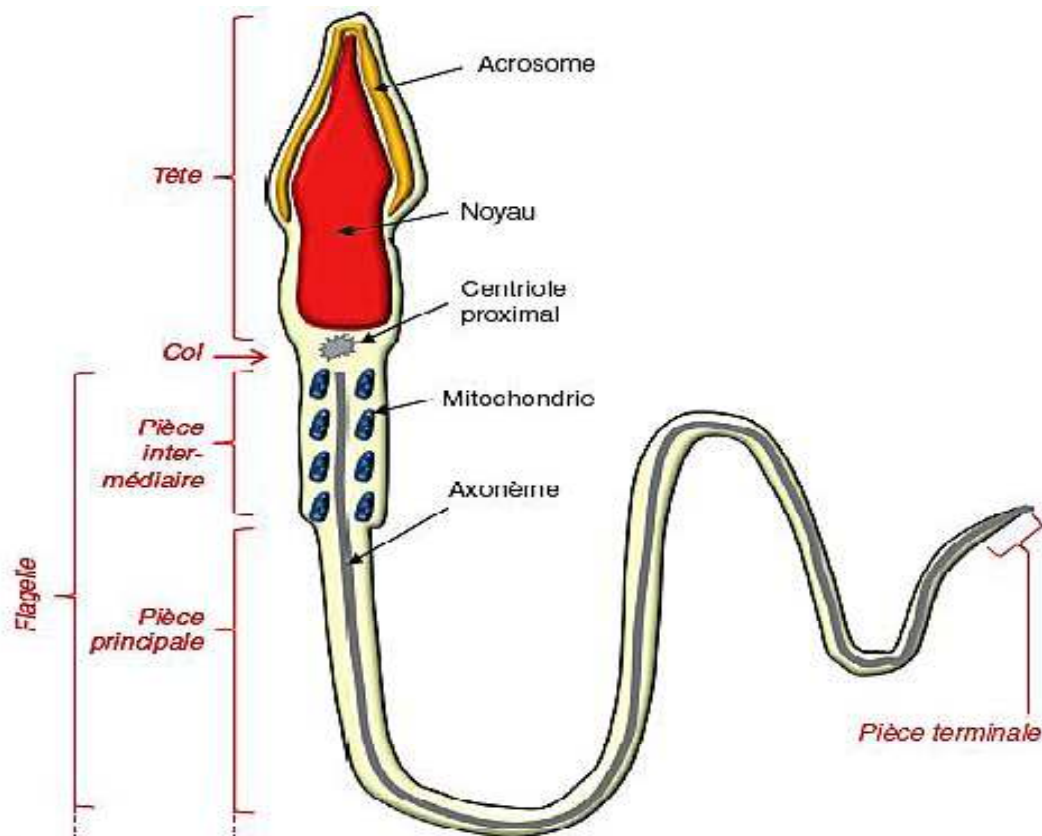


Figure 05 : Structure et morphologie des spermatozoïdes. [16].

I.4.3. spermatozoïde normal :

Un SPZ est défini comme normal ou typique lorsque :

- Sa tête est ovale, régulière, et mesure 4 à 5µm de long, et 2,5 à 3 µm de large.
- L'acrosome est homogène, régulier et représente 40 à 70 % de la surface de la tête du SPZ.
- Dans un SPZ normal, la base de la tête doit être bien ovale, et avoir une couleur foncée homogène correspondant à la partie du noyau non recouverte par l'acrosome.
- La pièce intermédiaire est dans l'axe de la tête et mesure 1,5 à 2 fois la longueur de la tête
- Le flagelle mesure 45 µm c'est-à-dire environ 10 fois la longueur de la tête. [17]

I.4.4. anomalies des spermatozoïdes

Les anomalies peuvent être :

- L'oligospermie : elle correspond à une quantité insuffisante de spermatozoïdes dans le sperme. Un nombre inférieur à 10 millions/ml de spermatozoïdes peut être responsable d'une infertilité.
- L'azoospermie : correspond à l'absence de spermatozoïdes dans l'éjaculat.
- L'asthénospermie : correspond à un défaut de mobilité des spermatozoïdes. On parle d'asthénospermie si au moins 50% des spermatozoïdes rencontrés éprouvent des difficultés à se déplacer. On classe l'asthénospermie selon les critères suivants :
 - ClasseA** : spermatozoïdes rapides et progressifs.
 - ClasseB** : spermatozoïdes lents ou faiblement progressifs.
 - ClasseC** : spermatozoïdes mobiles, mais non progressifs.
 - ClasseD** : spermatozoïdes immobiles.
- La nécrospermie: est caractérisée par un pourcentage très élevé de spermatozoïdes morts. Ce pourcentage est supérieur à 40%. La nécrospermie est souvent due à des infections microbiennes.
- La tératospermie ou tératozoospermie: correspond à une quantité trop importante de spermatozoïdes anormaux (plus de 45% des spermatozoïdes anormaux).
- L'hyperspermie : correspond à un volume de l'éjaculat supérieur à la normale (5 ml), est quelque fois en rapport avec un syndrome inflammatoire ou infectieux.
- L'OATS (Oglio-asthénie-tératozoospermie) : indique que toutes les variables sont présentes [18]

I.5. Sperme :

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

- a- Phase cellulaire** : Les spermatozoïdes (mobiles et reconds) sont stockés dans l'épididyme. Au moment de l'éjaculation, le canal déférent en se contractant rythmiquement conduit le spermatozoïde vers l'urètre. Avant d'attendre l'urètre, les spermatozoïdes s'associent aux sécrétions des vésicules séminales et de la prostate.
- b- Liquide séminal** : Il constitue la fraction liquidienne du sperme très hétérogène. Il contient de nombreux constituants organiques, inorganiques et de multiples enzymes. Ces différents éléments proviennent des sécrétions des cellules glandulaires de l'appareil génital masculin.

Après centrifugation du sperme, le liquide séminal comprend 9/10 de l'éjaculat. Il reflète donc l'ensemble des sécrétions des glandes accessoires et de tout l'épithélium glandulaire qui tapisse le tractus génital masculin :

- 10 à 20% de sécrétion épididymaire.
- 20 à 40% de sécrétion prostatique.
- 40 à 60% de sécrétion vésiculaire.
- Environ 5% de sécrétion des glandes bulbo-urétrales (glandes de Cowper). [19]

La majorité de ces sécrétions comportent un marqueur important.

Tableau01 : Marqueurs de chaque compartiment et leurs concentrations)

Compartiment	Marqueur	Concentration
Vésicule séminale	Fructose	4,7 - 20 M/ml
Prostate	Phosphate acide	7,5 - 40.5.10 U/ml
	Citrate	10,9 - 39 M/ml
Épididyme	Carnitine libre	100 - 455 M/ml
	Alphaglucosidase	>50 UI/éjaculat

[20]

I.6. Influence de certains facteurs sur la spermatogenèse

- a- Effet de la température sur la spermatogenèse** ; Le testicule est maintenu à des températures inférieures de 2 à 4 ° C à la température corporelle centrale. La descente testiculaire pendant la vie fœtale fournit un environnement hypothermique loin de la température du corps de base. Une légère augmentation de la température testiculaire perturbe la spermatogenèse et par la suite conduit à une oligo-asthéo-tératospermie. [21]
- b- Effet de la radiation sur la spermatogenèse** ; L'exposition des testicules aux radiations peut avoir des effets profonds sur la reproduction masculine. Selon des nombreux auteurs, les cellules de Sertoli semblent très radio-résistantes. En effet, à la suite des irradiations, elles sont toujours présentes dans l'épithélium séminifère. Cependant, ces cellules

somatiques se divisent activement en fin de gestation et de ce fait une grande radiosensibilité au cours de cette période est démontrée. [22]

- c- **Modifications histologiques ;** Les altérations des tubes séminifères avec le vieillissement sont confirmées par les observations morphologiques qui retrouvent une réduction et une altération des cellules de Sertoli, s'accompagnant d'un épaissement de leur MB et d'une diminution de la production de SPZ jugée sur l'histologie de la lignée germinale établie, peut aussi contribuer à l'altération fonctionnelle testiculaire. [23]

I.7. Facteurs des risques de L'infertilité

I.7.1. Âge : La probabilité d'avoir un enfant diminue lorsque l'âge paternel augmente. [24].

Il a été montré que les hommes âgés de plus de 45 ans prennent 5 fois plus de temps pour atteindre une grossesse que les hommes moins de 25 ans après avoir contrôlé l'âge de la femme. [25] Une étude a montré une association significative entre l'âge paternel ≥ 50 ans et les des niveaux plus élevés d'endommagement de la chromatine dans l'ADN des SPZ. [26]

L'âge maternel également est un facteur de risque bien connu. L'âge maternel avancé (AMA) est généralement défini comme une grossesse chez les femmes de 35 ans et plus. À mesure que l'âge maternel augmente, la fécondité diminue et le taux d'avortement spontané Augmente. [27]

Les femmes de plus de 40 ans présentent un risque plus élevé d'anomalies chromosomiques, de fausses couches et d'accouchement avant 34 semaines de grossesse que les femmes plus jeunes et doivent être surveillées en conséquence. [28]

I.7.2. Modifications hormonales :

- Le vieillissement masculin est marqué par :
 - Des altérations de l'axe hypothalamo-hypophyso-testiculaire.
 - Une diminution très progressive de la TST plasmatique. [29]

Testostérone biodisponible	↓
Oestradiol biodisponible	↓
FSH	↑
Inhibine	↓
Fibrose tissulaire	↑
Vascularisation testiculaire	↓
Nombre de cellules de Leydig	↓
Nombre de cellules de Sertoli	↓
Spermatogenèse	↓

Diagramme 06 : Modifications testiculaires endocrines et exocrines liées au vieillissement.

(↑ =Augmentation, ↓ = diminution) [30]

I.7.3. Modification des paramètres spermatiques ; Les études cliniques réalisées sur l'effet de l'âge masculin sur les caractéristiques du sperme ont également fourni des preuves d'un effet de l'âge paternel. Le volume et la motilité des SPZ sont modifiés et la proportion de SPZ normaux diminue chez les hommes âgés de 30 à 50 ans. [31]. La survenue d'une hypospermie qui peut être significative après 50 ans et la mobilité spermatique diminuerait de et le taux de tératospermie augmenterait avec l'âge. [32] Le pouvoir fécondant des SPZ est quant à lui très difficile à évaluer dans le sens où il peut être très variable en fonction de multiples facteurs associés notamment féminins

I.7.4. Modifications histologiques ; Les altérations des tubes séminifères avec le vieillissement sont confirmées par les observations morphologiques qui retrouvent une réduction et une altération des cellules de Sertoli, s'accompagnant d'un épaissement de leur MB et d'une diminution de la production de SPZ jugée sur l'histologie de la lignée germinale établie, peut être aussi contribué à l'altération fonctionnelle testiculaire. [33]

I.7.5. Malformations anatomiques : parmi les malformations anatomiques on distingue

a) **Varicocèle :**

La varicocèle se définit par une dilatation du plexus veineux pompiniforme intérieur du testicule. Cette dilatation veineuse est accentuée par la position debout prolongée. Le reflux veineux peut-être dû également soit à une absence congénitale ou une insuffisance valvulaire des veines spermatique surtout gauche (dans 90% des cas). [34]

Dans une étude de l'OMS portant sur 9034 hommes partenaires d'un couple consultant pour hypofertilité, En cas d'anomalie du sperme une varicocèle fut diagnostiquée chez 25,4 % des sujets, alors que le taux n'est plus que de 11,7 % chez les hommes ayant un spermogramme normal. [35]

La varicocèle est responsable d'une altération de la spermatogénèse sous forme d'une Oligo-Asthéno-Tératospermie (OAT). La varicocèle entraîne très fréquemment une hypotrophie testiculaire homolatérale. [36]

La varicocèle en grade élevé affecte l'expression des protéines du sperme probablement en raison de l'augmentation de la température des testicules. Ces protéines jouent un rôle essentiel dans la production de sperme, la protection de l'intégrité de l'ADN et la mobilité des SPZ. [37]

b) **Cryptorchidie :**

La cryptorchidie signifie la non-présence d'un ou des deux testicules dans les bourses. Elle résulte d'un arrêt de migration d'un ou des deux testicules en un point donné de son trajet normal. L'arrêt de migration du testicule, l'amène à séjourner dans un environnement thermique supérieur à celui de la cavité scrotale. [38]

Actuellement, l'antécédent de cryptorchidie est une des principaux facteurs de risque d'azoospermie (15 à 20 % des azoospermies). [39]

c) **Hypospadias :**

L'hypospadias se caractérise par un abouchement de l'urètre en position pathologique sur la face ventrale du pénis, au niveau du scrotum ou du périnée. Toutefois, l'hypospadias n'est pas limité à une anomalie du méat, mais correspond à un défaut de développement des tissus de la partie ventrale du pénis. Le risque d'infertilité est plus important en raison de causes mécaniques ou obstructives sur les voies séminales et l'urètre. [40]

d) Infections et antécédents infectieux :

Plusieurs germes peuvent être responsables d'infections et entraîner des répercussions transitoires ou définitives sur la fertilité.

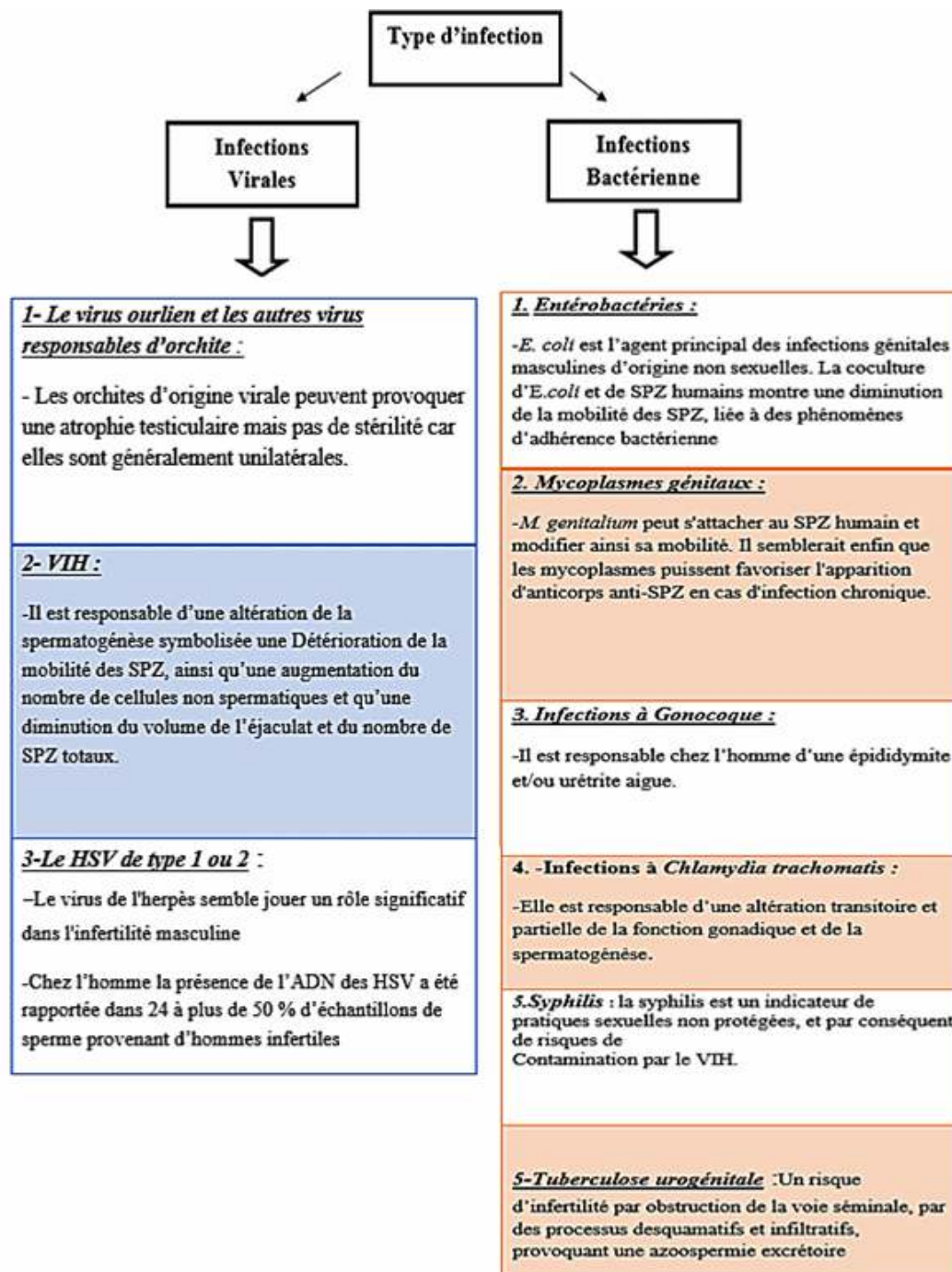


Figure 07 : Influence de certaines infections sur la fertilité [41-42]

I.8.Exploration fonctionnelle de l'infertilité :

I.8.1.Spermogramme :

Le spermogramme est un élément incontournable de l'évaluation de la fertilité masculine. Le recueil du sperme doit être réalisé au laboratoire, par masturbation, après un délai de 2 à 5 jours d'abstinence. Des valeurs de référence ont été définies par l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS). [43]

Avec :

- Une analyse du volume de l'éjaculat.
- L'aspect physique (couleur, viscosité, pH).
- calcul du nombre de spermatozoïdes et l'étude de leur vitalité et mobilité, une heure et 3 heures après l'émission du sperme.
- Présence d'agglutination, et calcul du nombre de leucocytes et de cellules rondes.
- Valeurs de référence : Les résultats des spermogrammes ont été interprétés selon les critères de l'OMS version 2010. [44]

I.8.2 Spermocytogramme :

C'est l'étude morphologique ou cytologique des spermatozoïdes. Il permet parfois de poser le diagnostic étiologique. Actuellement, la coloration **Hemalun-Papanicolaou** qui associe un colorant nucléaire, l'**Hemalun de Mayer** à un colorant cytoplasmique, le **colorant de Papanicolaou** permet de réaliser cette étude morphologique des spermatozoïdes.

Valeurs de référence : Les résultats des spermocytogramme ont été interprétés selon Classification de David 1995 des anomalies morphologiques des spermatozoïdes

I.8.3 Classification de la morphologie des spermatozoïdes :

a. Méthode de Kruger :

Cette méthode apporte des critères très stricts pour définir un SPZ normal. Par ordre d'importance, l'anomalie est recensée d'abord sur la tête, puis viennent dans l'ordre les anomalies de l'acrosome, de la pièce intermédiaire et du flagelle. C'est la classification recommandée par l'OMS.

L'index de tératozoospermie (TZI) peut être calculé. Il correspond au nombre moyen d'anomalies par SPZ anormal. Une valeur supérieure à 1,46 va dans le sens d'une hypofertilité. [45]

b. Méthode de David modifiée :

Est une Méthode utilisée Pour le classement des anomalies morphologiques des SPZ humains qui a été proposée en 1972 lors d'un colloque sur la fécondité et la stérilité de l'homme publié en 1975.

La classification initiale comporte 13 types d'anomalie : 7 pour la tête et 6 pour le flagelle.

L'originalité de la méthode de classification repose sur la prise en compte de toutes les anomalies observées grâce à un système de classification à entrées multiples : un SPZ porteur de plusieurs anomalies est défini par l'ensemble de ces anomalies.

C'est-à-dire qu'il figure plusieurs fois dans la grille de classement à chacune des anomalies concernées.

Cette méthode a été modifiée au début des années quatre-vingt-dix par une redéfinition des catégories d'anomalies et l'adjonction de deux nouvelles catégories d'anomalies. [46]

• Les anomalies de la tête.		
FORMES ALLONGÉES	Simples	
	Base amincie	
	Battant de cloche	
	Effilés	
FORMES AMINCIÉES		
MICROCEPHALES		
MACROCEPHALES		
DUPLIQUÉES		
FORMES IRRÉGULIÈRES	Contour irrégulier	
	Acrosome mal formé	
	Sans acrosome	
FORME EN LYSE		
• Les anomalies de la pièce intermédiaire		
RESTES CYTOPLASMIQUES		
ANGULATION		
• Les anomalies du flagelle		
FLAGELLES ABSENTS		
FLAGELLES COURTS		
FLAGELLES ENROULÉS		
FLAGELLES DOUBLES		
Autres		
• Flagelles isolés		
• Présence cellules de la lignée spermatique		
• Des éléments à signaler.		

Figure08 : Classification de David 1995 des anomalies morphologiques des Spermatozoïdes [47].

I.8.4 Spermoculture (Analyse bactériologique du sperme) :

Elle est réalisée dans certaines conditions spécifiques et indiquées en cas au : une élévation du pH sérial, une hyperspermie, une leucospermie significative, une asthénospermie, un possible point d'appel infectieux dépisté à l'examen clinique, avant toute technique de PMA. [48]

I.9 Traitement du sperme :

Le traitement du sperme a pour principal but de séparer les spermatozoïdes du liquide sérial. Il existe de très nombreuses techniques de sélection des spermatozoïdes ;

I.9.1 Migration ascendante (Swim Up) : La migration ascendante est la méthode classique de préparation pour une FIV ou une insémination intra utérine. Après liquéfaction, le sperme est à plusieurs reprises dilué dans un milieu de culture puis centrifugé pour obtenir un culot de spermatozoïdes lavés. Ce dernier est ensuite recouvert d'une petite quantité de milieu de culture vers lequel les spermatozoïdes les plus mobiles vont migrer et pourront être récupérés.

I.9.2 Centrifugation sur gradients de densité : Le sperme liquéfié peut également être centrifugé à travers une suspension de particules de silice (Percoll, Puresperm) formant une colonne avec des phases de densités différentes. 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) et donne un meilleur rendement que la migration ascendante avec les spermatozoïdes de mauvaise qualité [49].

Chapitre **II:**

Matériel et Méthode

Il s'agit d'une étude prospective portant sur 65 cas référés au centre de PMA par leurs médecins traitants pour diagnostic d'infertilité du mois de Février au mois de Mars 2019, les cas retenus dans notre étude répondaient aux critères d'inclusion suivants expliqués :

- ✓ Homme marié depuis plus d'un an (1an).
- ✓ Spermogramme et (ou) spermocytogramme pathologique.

Les hommes ayant un spermogramme et un spermocytogramme normaux destinés à faire une PMA avec une indication féminine ont été exclus de notre étude.

A travers un questionnaire, chaque patient a été interrogé sur les paramètres suivants : âge, profession, lieu d'habitat, mode de vie (activité physique, consommation de tabac, chique et alcool, exposition à la chaleur, aux agents toxiques et aux radiations) ; type et durée d'infertilité, poids, antécédents : urogénitaux, médicaux, familiaux (consanguinité du couple, la consanguinité des parents).

II.1. Matériel biologique : il s'agit de 65 prélèvements spermatiques recueillis selon les conditions suivantes :

Le patient a été informé de certaines instructions concernant le recueil du sperme avant le jour du prélèvement à savoir :

- ❖ Une abstinence de trois à cinq jours est recommandée, il est important de respecter le délai exact pour interpréter les résultats puisqu'il s'agit d'un facteur de variation important, notamment en ce qui concerne le volume et le nombre de spermatozoïdes (Grizard et Jimenez ; 1997).
- ❖ Une bonne hydratation la veille et le jour du recueil.
- ❖ Le prélèvement se fait sur place et le patient a été informé sur l'importance de la totalité de l'éjaculat.

L'éjaculat est obtenu par masturbation à sec puis placé dans un récipient ayant une ouverture suffisamment large pour éviter les pertes au moment du recueil et avec un couvercle contenant le Nom et Numéro du patient ainsi que la date du recueil.

- ✓ Le patient a respecté les conditions de recueil du sperme :
 - Vider la vessie pour nettoyer l'urètre et pour éviter toute contamination bactérienne.
 - Laver soigneusement les mains, le gland et le méat urinaire en décalottant le gland avec un antiseptique, sécher avec les compresses stériles.
 - Recueillir le sperme directement dans le récipient.
 - Refermer soigneusement et rapidement le récipient.
- ✓ Le récipient contenant le sperme a été mis rapidement dans une étuve à 37°C pendant 30 min pour sa liquéfaction.

Le bilan demandé pour le couple comprend un urétral pour l'homme et vaginal pour la femme afin de détecter les différentes formes des bactéries et des microorganismes comme :

- ❖ Mycoplasmes urogénitaux :
 - Ureaplasmaurealyticum.
 - Mycoplasmahominis.
 - Mycoplasmagénitalium.
- ❖ Chlamydia trachomatis.
- ❖ Trichomonas vaginalis.
- ❖ Germes banaux.

II.2. Spermogramme :

Le spermogramme a pour but d'analyser les spermatozoïdes d'un homme, dans le cadre d'un bilan de stérilité. C'est un examen capital pour tous les couples demandant une prise en charge pour infertilité.

II.2.1. Etude macroscopique du sperme :

L'examen a commencé juste après le temps nécessaire à la liquéfaction (après 30 min) :

- ❖ **Volume** : a été mesuré à l'aide d'une pipette graduée. Sa valeur normale se situe entre 1.5-6ml.
- ❖ **PH** : une goutte de sperme a été déposée sur un papier indicateur de PH (PH mètre) la couleur de la zone imprégnée a été comparée à une échelle de lecture. Les normes se situent entre 7 et 8 (OMS.2010).
- ❖ Si le : $PH < 7 \rightarrow$ défaut de fonctionnement des vésicules séminales et infection chronique.
 - $PH < 8 \rightarrow$ insuffisance prostatique et présence d'infection aigue (Iornage, 2004).
- ❖ **Couleur** : l'observation de la couleur a été faite à l'œil nu. Un aspect homogène gris opalescent ou blanc-Jaunâtre (Cobon, 1977).
- ❖ **Viscosité** : la viscosité du sperme se mesure à l'aide d'une baguette en verre que l'on trempe dans le flacon contenant le sperme (méthode de Hotchkiss). Le sperme anormale se présente sous forme de gouttes bien séparées, alors qu'un sperme normal est sous forme de filament de plus de 2 cm, La viscosité est notée avec des croix (+, ++, +++) selon l'OMS (2010), Celle-ci s'évalue selon 4 niveaux :
 - ✓ Viscosité normale : si l'échantillon ne sépare pas bien goutte à goutte.
 - ✓ Viscosité 1 : si l'échantillon forme un filet liquide entre chaque goutte.
 - ✓ Viscosité 2 : si l'échantillon est suffisamment visqueuse pour que le filet soit continu.

- ✓ Viscosité 3 : si l'échantillon est tellement vaquera qu'il ne peut s'écouler par la pipette.

II.2.2. Etude microscopique du sperme :

❖ Mobilité :

1. Le sperme a été homogénéisé pour remettre en suspension les spermatozoïdes.
2. Une gutte calibrée de 10 μ l est placée entre lame et lamelle (22*22 mm) avec l'identification du patient. Plusieurs champs sont par la suite observés sous un microscope photonique au fort grossissement ($\times 40$).
3. Plusieurs champs ont été parcourus pour classer 100 spermatozoïdes consécutifs et calculer leur pourcentage respectif dans chacune des formes.

❖ Appréciation de l'agglutination

Sur la même lame préparée pour la mobilité et la qualité du mouvement, plusieurs champs microscopiques consécutifs ont été parcourus pour apprécier la présence ou non d'agglutinats spontanés de spermatozoïdes par leur têtes, leurs pièces intermédiaires, par leurs flagelles ou mixtes. La présence d'anticorps anti-spermatozoïdes peut entraîner une diminution de la mobilité et du pouvoir fécondant des spermatozoïdes.

En fonction de l'appréciation, l'auto-agglutination a été notée à l'aide de croix, (+) nombre réduit, (++) plus ou moins importante et (+++) auto-agglutination importante. Un sperme normal ne contient pas d'agglutinations spontanées de spermatozoïdes.

❖ Vitalité

On met une goutte calibrée de 10 μ l du sperme et une goutte de 10 μ l d'éosine à 1% à l'aide de micropipette sur une autre lame et on mélange les deux gouttes en éliminant les 10 μ l.

Sous microscope photonique au grossissement ($\times 40$), Parmi les 100 spermatozoïdes observés, on a détecté les morts et les vivants, En cas de spermatozoïdes vivants, les têtes sont incolores alors qu'elles sont colorées en rose pour les morts.

❖ Numération :

La numération des spermatozoïdes a été réalisée en évaluant le nombre des spermatozoïdes par ml compté dans un hémocytomètre en faisant une dilution de 1/10 dans un tube sec (10 μ l de sperme /90 μ l d'eau distillée) après on homogénéise la solution préparée.

Une lamelle calibrée a été fixée sur la cellule de Thomas (lame) puis le mélange a été introduit par capillarité à l'aide d'une micropipette.

Après 10 min de repos, la lecture a été réalisée par un comptage sur chaque grill sous microscope photonique au grossissement ($\times 40$). Seuls les spermatozoïdes complètement formés sont comptés.

Le calcul de la concentration des spermatozoïdes, exprimé en millions/ml est obtenu par la formule suivante :

$$C=N \times Di \times V \times 1000$$

- C : Concentration millions/ml.
- N : Nombre de spermatozoïdes compté de la cellule.
- Di : Dilution =10.
- V : Volume = 10.
- 1000 : Conversion de cm³ en ml.

La formule applicable à la numération :

$$\text{Nombre de spermatozoïdes/L} = \frac{1000 \times \text{Nombre de spermatozoïdes comptés} \times \text{dilution} \times 10}{\text{Nombre de surface comptémm}^2}$$

✓ **Concentration des cellules rondes :**

La concentration des cellules rondes a été mesurée à l'état frais à d'un hémocytromètre sur une cellule de Thomas. La concentration en cellules rondes d'un éjaculat normal n'excède pas 10⁶ cellules/ml donc inférieure à 5% de la concentration totale des spermatozoïdes.

II.3. Spermocytogramme :

a- Préparation du frottis :

On met 10µl du sperme liquéfié et homogénéisé sur une lame, puis on tire la goutte à l'aide d'une autre lame d'une façon continue et on laisse les frottis sécher à l'air libre.

b- Coloration :

La coloration des frottis a été réalisée selon la méthode de Papanicolaou qui donne une meilleure observation de la tête, de la pièce intermédiaire et du flagelle selon le protocole suivant :

- Passage à l'alcool 80% immergé 10 fois.
- Passage à l'alcool 70% immergé 10 fois.
- Passage à l'alcool 50% immergé 10 fois.
- Coloration à Hématoxyline (Harris ou Mayer) pendant 3 minutes.
- Rinçage à l'eau courante pendant 3 minutes à 5 min.
- Passage à l'alcool 50% immergé 10 fois.
- Passage à l'alcool 70% immergé 10 fois.
- Passage à l'alcool 80% immergé 10 fois.

- Passage à l'alcool 95% immergé 10 fois.
- Coloration à l'Orange G 6 pendant 2 minutes.
- Passage à l'alcool 95% immergé 10 fois.
- Passage à l'alcool 95% immergé.
- Coloration à l'EA-50 pendant 5 min.
- Passage à l'alcool absolu immergé 10 fois.
- Séchage des frottis à l'air libre.

La lecture de la morphologie est effectuée sur 100 spermatozoïdes au fort grossissement (100×) à l'aide d'une huile à immersion pour augmenter le pouvoir résolvant des objectifs

II.4. Préparation du sperme en vue de PMA :

II.4.1. Test de migration et de survie :

Il permet de faire la sélection des SPZ en fonction de leur mobilité et de leur morphologie. Le TMS évalue la concentration, la mobilité progressive des SPZ (a + b) et la tératospermie si besoin. Il indique également la survie des SPZ à 24 h.

II.4.2. Méthode de gradient de densité :

❖ Précautions des patients :

Dans le contexte clinique de la PMA, la contamination croisée ou l'identification erronée d'un échantillon (au début du processus et à toute étape par la suite) peuvent avoir des conséquences tragiques.

Il est donc primordial d'éviter toute contamination croisée et toute erreur d'identification. Pour ce faire on prendra les précautions suivantes, entre autres, pour protéger l'échantillon et le personnel :

- ✓ Désinfection des mains.
- ✓ Port obligatoire des gants.
- ✓ Changement des fournitures à usage unique entre chaque patient (embouts, etc....).
- ✓ Rebouchage des tubes entre chaque étape.
- ✓ Vérification de la double identification des échantillons à chaque étape.
- ✓ Désinfection des surfaces de travail et de matériel réutilisable avant de commencer à travailler, après les manipulations ou après toute contamination.

❖ Evaluation de deux paramètres spermatiques après préparation :

➤ **Numération des spermatozoïdes :**

A l'aide d'une micropipette on aspire 10µl du sperme et on le dépose dans la chambre de Makler :

- Les spermatozoïdes sont ensuite comptés en utilisant un microscope à contraste de phase, à un grossissement final de x 20 ou x 40.
- Le nombre de spermatozoïde est calculé dans 10 carrés. Dans le cas d'une oligospermie, le nombre de spermatozoïde doit être compté dans tous les carrés de la grille.

➤ **Mobilité**

La mobilité est déterminée selon les normes de l'OMS (2010) en calculant la valeur en pourcentage a + b (a : spermatozoïdes rapides et progressifs ; b : spermatozoïdes lents et progressifs).

II.5 Etude statistique :

❖ **Calcul des fréquences :**

f_i : fréquence exprimée en %

n_i : somme des observations

n : Nombre total des patients

$$f_i = (n_i / n) \times 100$$

❖ **Calcul de la moyenne et l'écart type :**

\bar{X} : moyenne arithmétique.

X_i : dimension du caractère considéré.

$$\bar{X} = \frac{\sum n_i x_i}{N}$$

N : effectif de l'échantillon.

n_i : effectif de la classe.

$$S_n = \frac{\sum n_i (x_i - \bar{x})^2}{N}$$

S_n : l'écart type.

Chapitre **III:**

Résultat et Discussion

III.1 Résultats globaux du spermogramme et spermocytogramme

Notre étude épidémiologique portant sur un échantillon de 65 patients révèle que 60 patients parmi l'ensemble des cas présentent un spermogramme et spermocytogramme pathologiques, soit 92% de cas. (Figure 09)

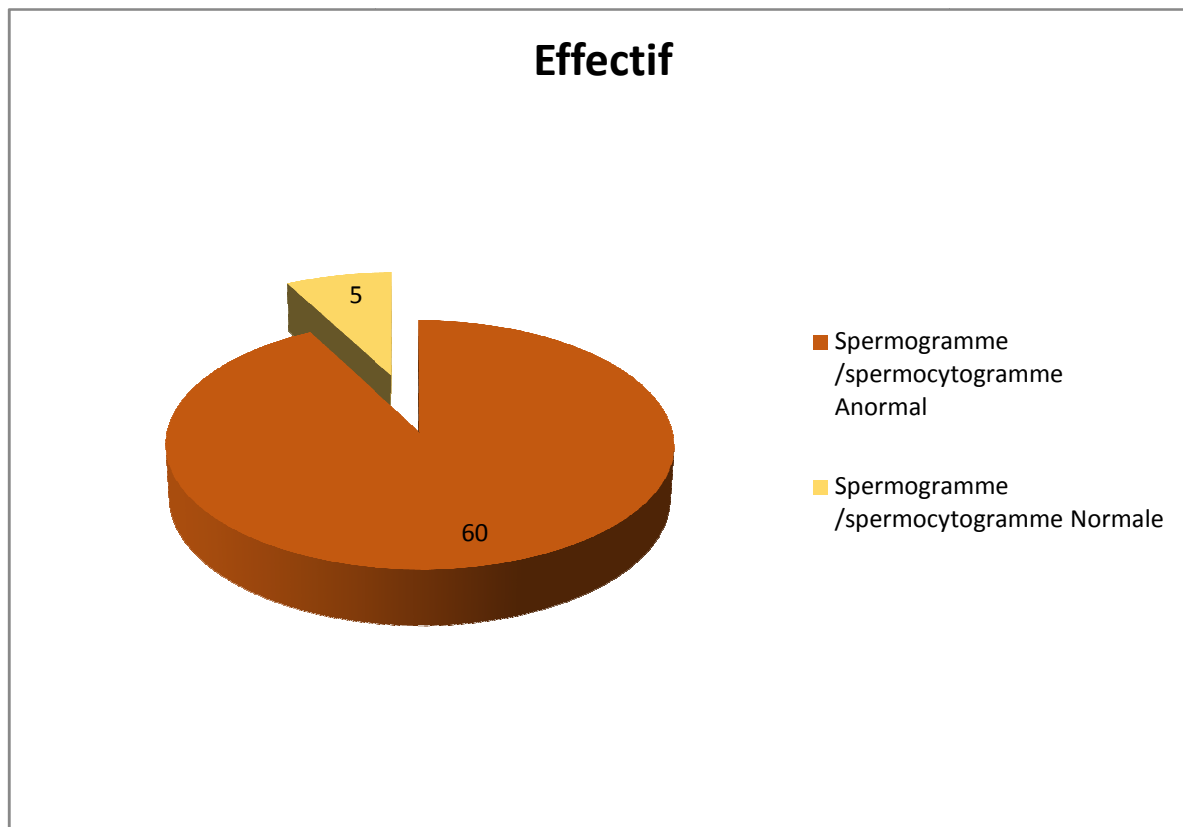


Figure 09 : Répartition des patients en fonction de la normalité ou la pathogénicité des résultats du spermogramme/ spermocytogramme.

Les résultats relatifs aux normes du spermogramme et du spermocytogramme permettant de révéler la proportion des cas pathologiques (92%) par rapport aux cas normaux (8 %) dans l'échantillon étudié. Les résultats indiquent une importante prévalence de l'infertilité masculine en Algérie. Par ailleurs, la plupart des études s'accordent sur le fait qu'au cours des dernières années, on note un déclin remarquable du taux de fertilité dans les pays du Nord (Kaufmann et al. 1998). (Pearce et al. 1999).

En effet, dans l'étude menée par Thonneau et al. (1991), une fécondité normale est estimée si la numération des spermatozoïdes est supérieure à 5 millions /ml, la mobilité supérieure à 40% à la première heure et le pourcentage de formes normales est supérieure à 40% ce qui n'est pas équivalent aux normes et aux critères de classification adoptés par notre Laboratoire ni à ceux établies par l'OMS (2010). D'autre part, l'âge du patient et la durée d'abstinence sexuelle avant le recueil sont pris en compte différemment d'une étude à l'autre.

III.2. Répartition des cas en fonction des facteurs de risque

III.2.1. Répartition selon La tranche d'âge :

La tranche d'Age Comprise entre 30 et 35 ans est la plus fournie avec 18 patients (30%) suivie par celle de 40 à 45 ans avec 17 cas (28%) et de (35-40) ans avec 15 cas (25%) et (45-50) ans avec 10 cas et un pourcentage respectif 17% .(Figure 10)

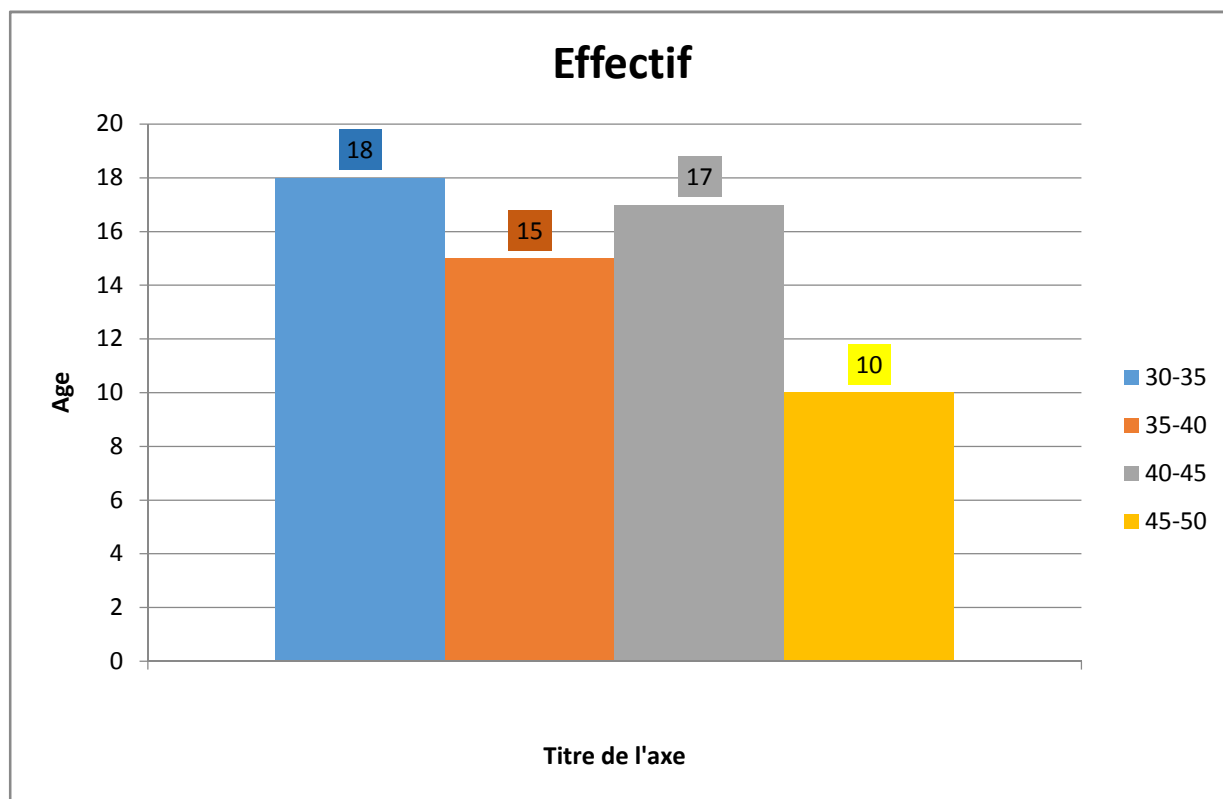


Figure 10 : Répartition des patientesenfonctionde tranche d'âge

III.2.2 Relation entre le type du l'infertilité et l'âge :

L'étude de l'évolution des caractéristiques du sperme avec le vieillissement est l'un des moyens qui permettent d'analyser indirectement la relation entre l'âge et la fertilité de l'Homme. Dans notre étude.

Nous avons noté une moyenne d'âge de 39,08 ans, avec des extrêmes de 30 et 50 ans et la tranche d'âge de 30-35 ans est la plus représentée avec 30% des patients. Globalement le taux d'infertilité primaire est plus élevé entre 30-35 ans par rapport à la tranche d'âge de 45-50 ans.

L'infertilité secondaire est plus élevée entre 45-50 ans probablement car certains patients ayant une sous-fertilité mettront un peu plus de temps avant de consulter. (Figure 11)

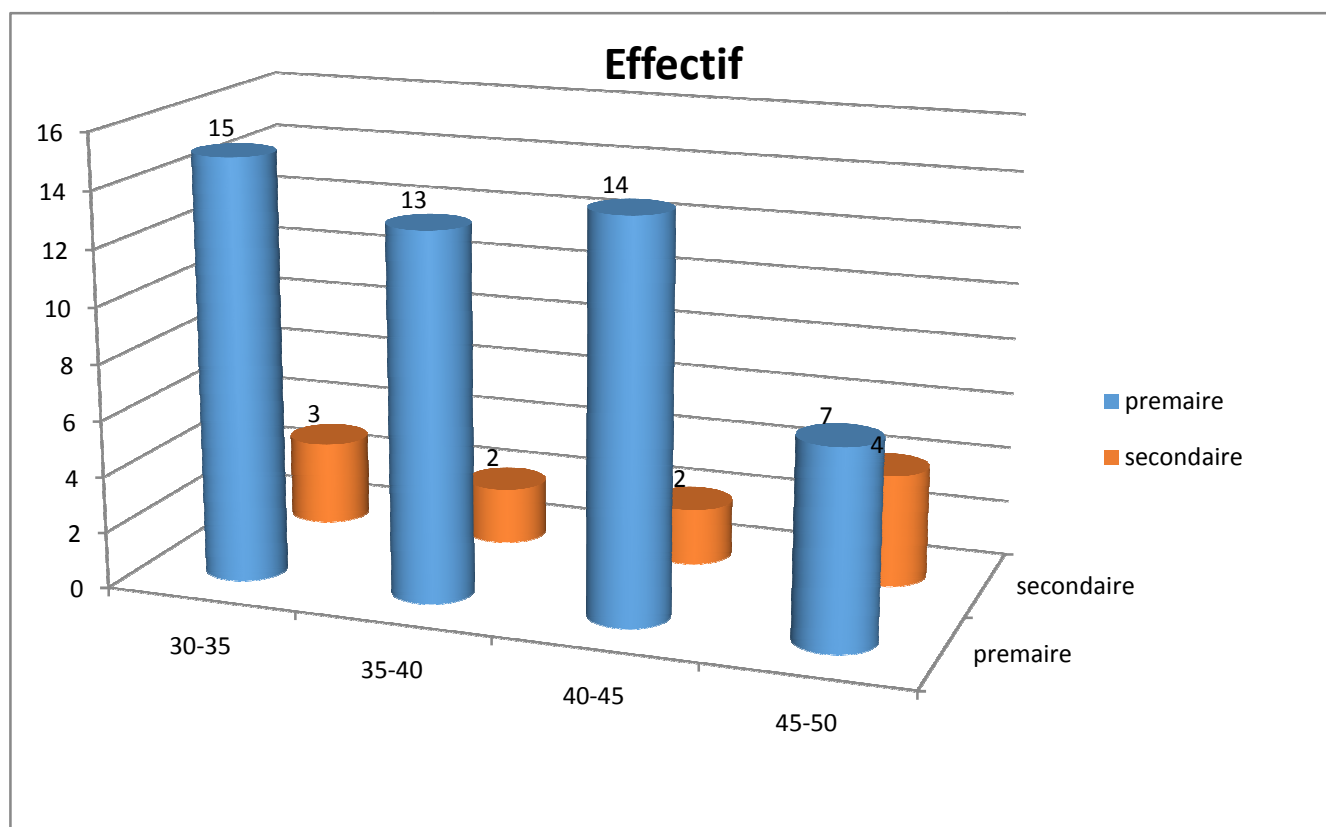


Figure 11 : Répartition des deux types d'infertilité en fonction de tranche d'âge.

Nos résultats rejoignent ceux de la littérature (Bah et al. 2007 ; Niang et al. 2009). L'âge avancé de nos patients peut s'expliquer aussi par le retard de la consultation du fait du mythe de la seule responsabilité féminine dans l'infertilité du couple. Nous avons noté un faible taux de consultation après l'âge de 45 ans. Ceci peut s'expliquer par le début de l'âge de la ménopause de la conjointe à part, le choix des couples de concevoir des enfants avant cet âge. En outre, avec l'âge, le comportement change, le rythme et la qualité des rapports sexuels diminuent et parfois des facteurs de mode de vie ou d'environnement interfèrent avec les paramètres précédents (Humeau. 1995).

III.2.3. Répartition selon la profession :

Les patients recrutés ont été divisés en 7 groupes socio-professionnels, le groupe le plus représenté commerçants et factionnaire est suivi du groupe des divers (08 cas). les agents de sécurité (9cas) avec (15%). les chauffeurs (8cas) avec (13%), le groupe de manœuvres (03) des (05%) . le groupe de sans profession (02) des (03%) . Figure (12)

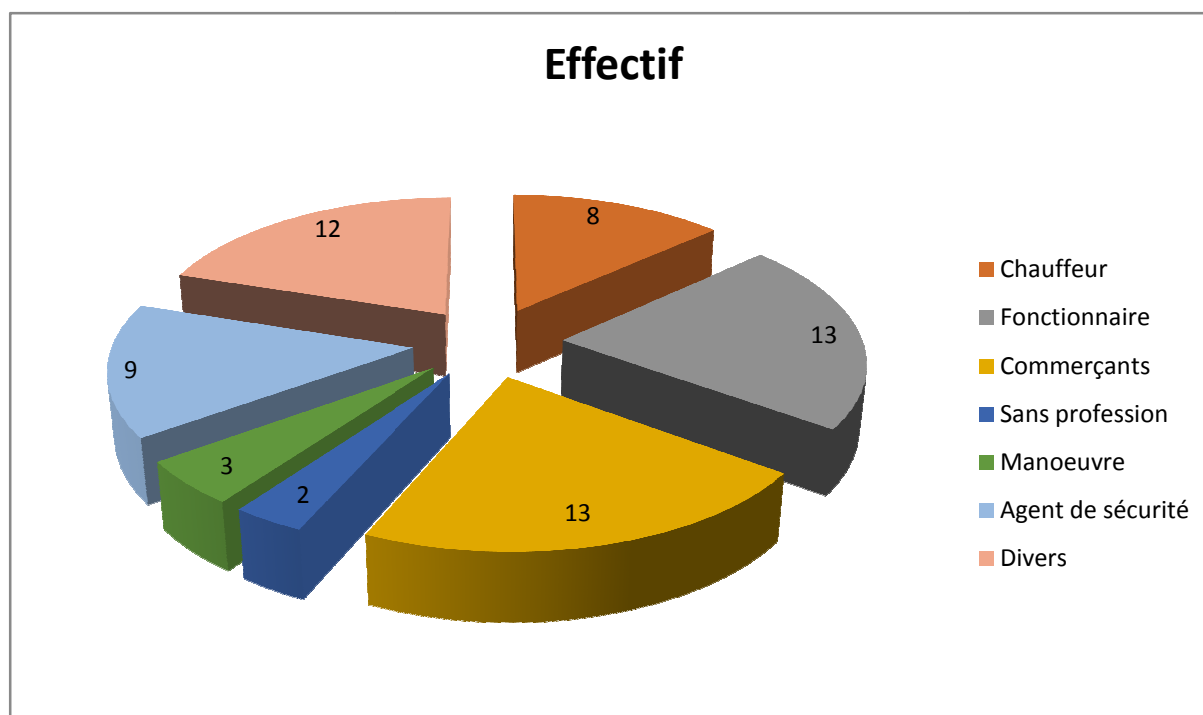


Figure 12 : Répartition des cas selon la profession

Les facteurs de risques professionnels, notamment le stress et la pollution environnementale expliqueraient la représentativité particulière de certaines professions.

Il a été démontré à travers plusieurs études qu'il existe une forte corrélation entre la température scrotale et la durée de la position sédentaire d'une profession (Hollund et al., 2002) ce qui nous conduit à dire que les fonctionnaires administratifs et les commerçants, catégorie professionnelle la plus touchée par les perturbations spermatiques dans notre étude, sont exposés à un facteur de risque significatif de manière constante permanente due à la chaleur causée par la position assise prolongée. Les chauffeurs peuvent être à ce titre exposés à un retentissement la fertilité (Bujan, 2000).

Dans une étude rétrospective menée par Thonneau et al. (1997) sur 402 couples fertiles rapporte que le temps requis pour tenter une grossesse est significativement augmenté de 4,5 mois pour un groupe de conducteurs professionnels (> 3 heures/jour) comparé à une durée de 2,8 mois pour des hommes non exposés.

III.2.4. Répartition selon les habitudes de la vie toxique

S'agissant des comportements à risque, parmi les cas étudiés, 23 cas sont des fumeurs avec (38%) suivi par 09 cas des fumeurs-consommateurs de chique (15%), 11 cas n'utilisant aucune substance (18%), 04 cas consommant le chique (07%), 03 cas sont des fumeurs-alcoolique (05%), 02 cas sont alcooliques (03%) et 01 cas alcooliques-consommateurs de chique (02%) 7 cas consommant tabac chique alcool . (Figure 13)

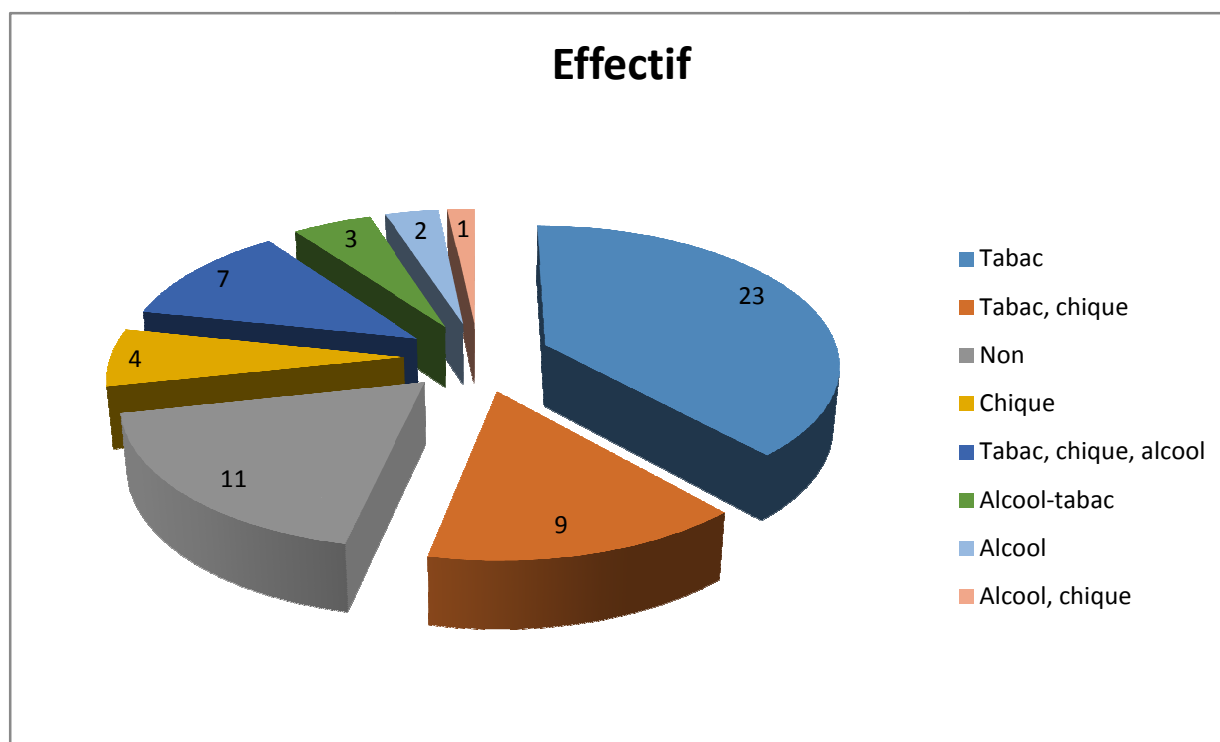


Figure 13 : Répartition des cas selon les habitudes de vie toxique.

Plusieurs études publiées précédemment ont rapporté des taux élevés d'anomalies spermatiques parmi les patients fumeurs par rapport aux non-fumeurs en concluant que le tabac représente un facteur de risque pour l'infertilité masculine.

Le tabac agirait directement sur les spermatozoïdes (Berthiller et Sacco, 2005) et aurait un impact négatif sur les paramètres du sperme humain, en corrélation directe avec le nombre de cigarettes fumées par jour et la durée du tabagisme (Taymour, 2010). Il a été rapporté qu'une réduction de la mobilité et de la densité des spermatozoïdes ainsi qu'une modification de leur morphologie sont notées chez les fumeurs (Berthiller et Sacco, 2005). Nos résultats concordent avec ceux de la littérature (40%).

Les données sur l'effet de la consommation d'alcool sur la spermatogénèse sont rares, elles montrent un effet protecteur apparent de la consommation modérée sur les paramètres spermatiques probablement en raison de l'effet antioxydant de certaines boissons alcoolisées. Certaines études ont montré que la consommation d'alcool n'est pas associée à la fécondité (Dunphy et al. 1991). Cependant, l'abus d'alcool (> 20 unités/semaine) est connu pour être associé à une hypofertilité (Hassan et Killick, 2004). Nos résultats concordent avec ceux de la littérature puisqu'on note que seulement une minorité de nos patients déclare boire de l'alcool.

III .3 Répartition des cas en fonction de certains paramètres cliniques

III .3.1 Répartition selon le type de l'infertilité

Sur les 60 patients examinés, l'infertilité est primaire dans 82% (n=49) et secondaire dans 18% (n 11) . (Figure 14)

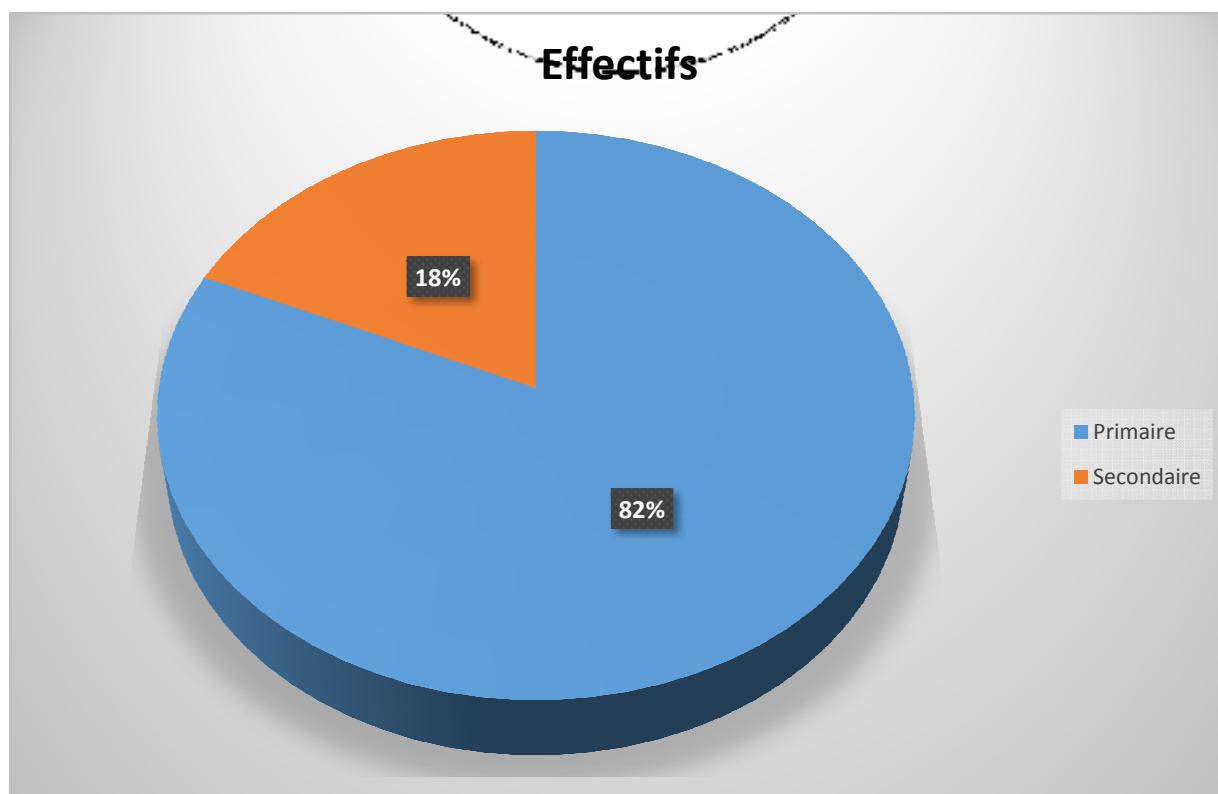


Figure 14 : Répartition des patients selon le type d'infertilité.

Nos résultats indiquent que le taux élevé des cas avant une infertilité primaire (82%) par rapport au taux des infertilités secondaires (18%) révélerait vraisemblablement une infertilité sévère ou bien ne serait lié qu'au contexte social et à la tendance qu'auraient les couples n'ayant jamais eu d'enfant à consulter plus fréquemment que les autres (Chennaf, 2012).

III .3.2 Répartition selon la durée de l'infertilité

avec des durées extrêmes entre 1 an et 15 ans, avec 61 % des patients présentant une infertilité de 1-5 ans, 32% de 6-10 ans et 7% de 11-15 ans . (Figure 15)

La durée moyenne d'infertilité chez nos patients est marquée par une grande variabilité des extrêmes de 1 an jusqu'à 15 ans mais la durée de 1-5 an est la plus fréquente avec 61%, ce qui indique qu'une majorité des patients consulte précocement. Nos résultats rejoignent ceux de la littérature (Chennaf 2012).

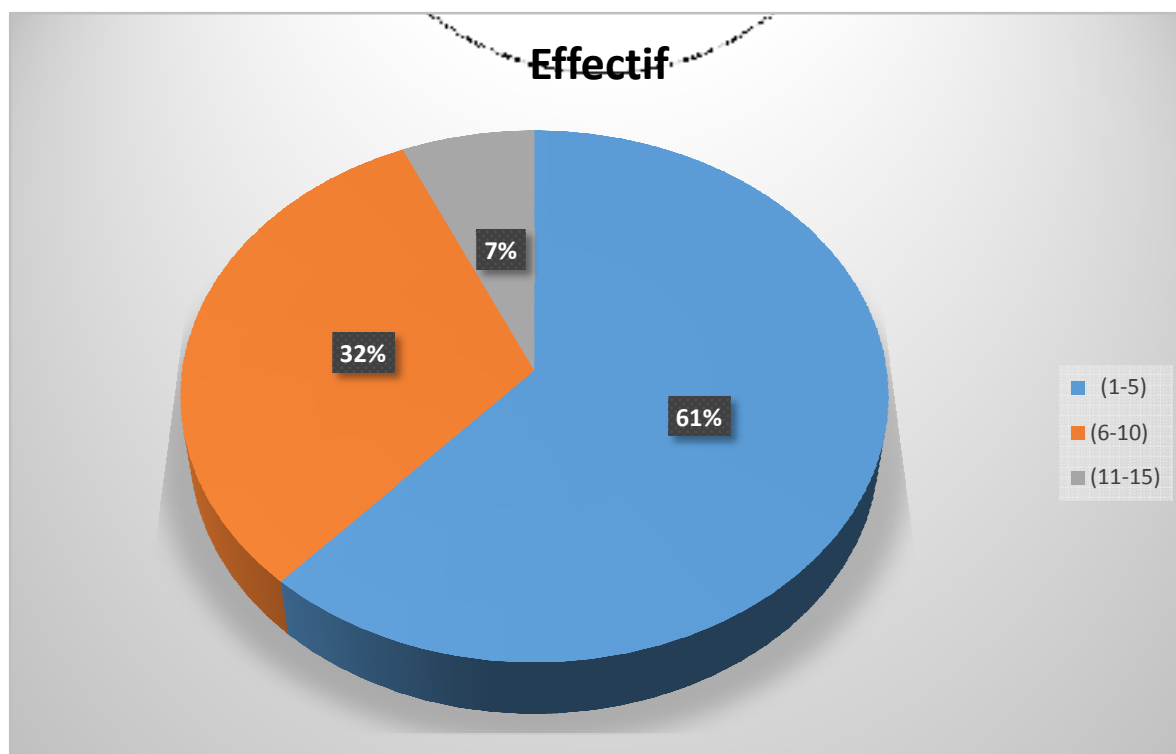


Figure 15 : Répartition des cas en fonction de la durée de l'infertilité.

III .4 Répartition des cas en fonction des paramètres biologiques :

III .4.1 Fréquence des anomalies spermatiques :

Concernant le bilan spermatique, le spermogramme étant perturbé dans 92% des cas. Parmi ces 60 patients, deux anomalies majeures sont observées Il s'agit d'une Oligo-asthénie-tératospermie (OATS) chez 13 cas (22%) et d'une asthénio-teratospermie (ATS) cher 06 patients (10%). Il est suivi par une oligo-teratospermie (OTS) chez 10 cas (17%), une teratospermies (TS) chez 27 cas (45%). Une oligospermie chez 2 cas (3%) et chez 2 cas (3%) d'uneasthenospermie (AS) . (Figure 16)

L'oligospermie (OS) ou oligoasthénotératospermie (OATS) est un tableau biologique souvent observé chez les hommes inféconds. On parle d'OATS car l'oligospermie est rarement isolée et souvent associée avec une asthénospermie et/ou une tératospermie (Hamamah et Barthelemy. 1997). Elle est due soit à un phénomène infectieux d'orchite, de cryptorchidie, de cure chirurgicale d'hydrocèle ou de hernie inguinale. Ces antécédents sont associés cliniquement à une varicocèle possible.

L'asthénospermie est due soit à un phénomène infectieux et/ou une absence de fructose (Hamamah et Barthelemy, 1997).

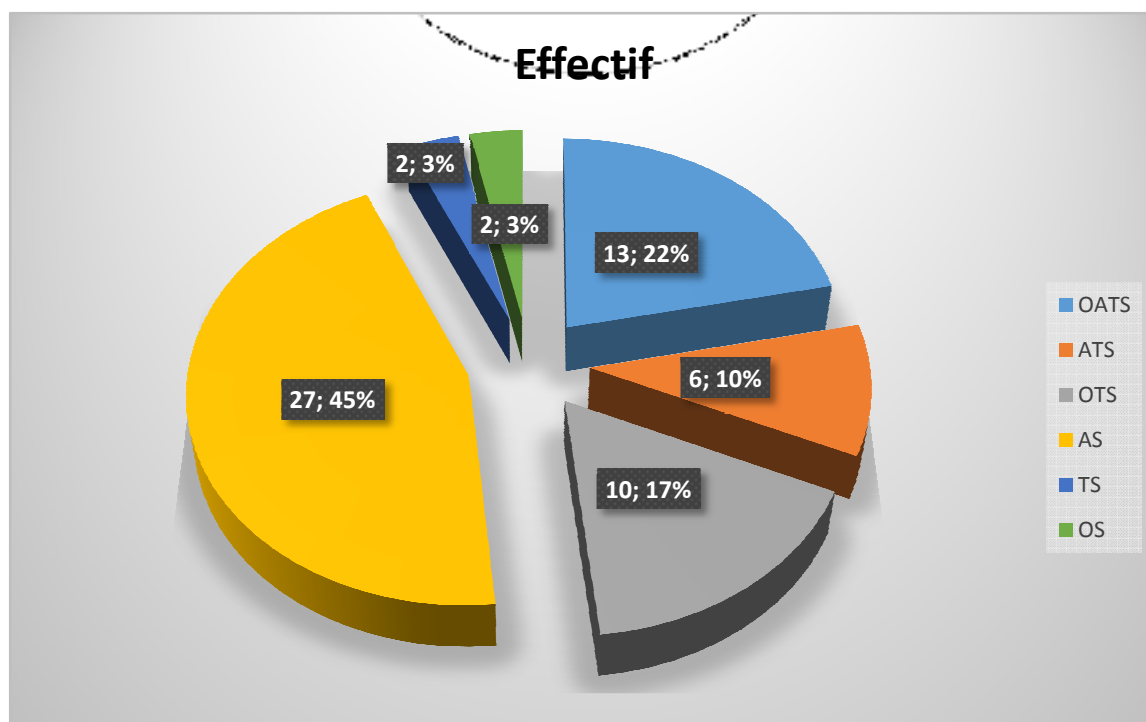


Figure 16 : Distribution des fréquences des anomalies spermatiques

III .4.2 Fréquence des anomalies morphologiques

L'étude cytologique des spermatozoïdes des éjaculats analysés nous a permis de recenser 45 cas présentant une anomalie de la tête, 38 cas présentant une anomalie de la PI et 28 cas révélant une anomalie du flagelle, selon la classification de DAVID modifiée. (Figure 17)

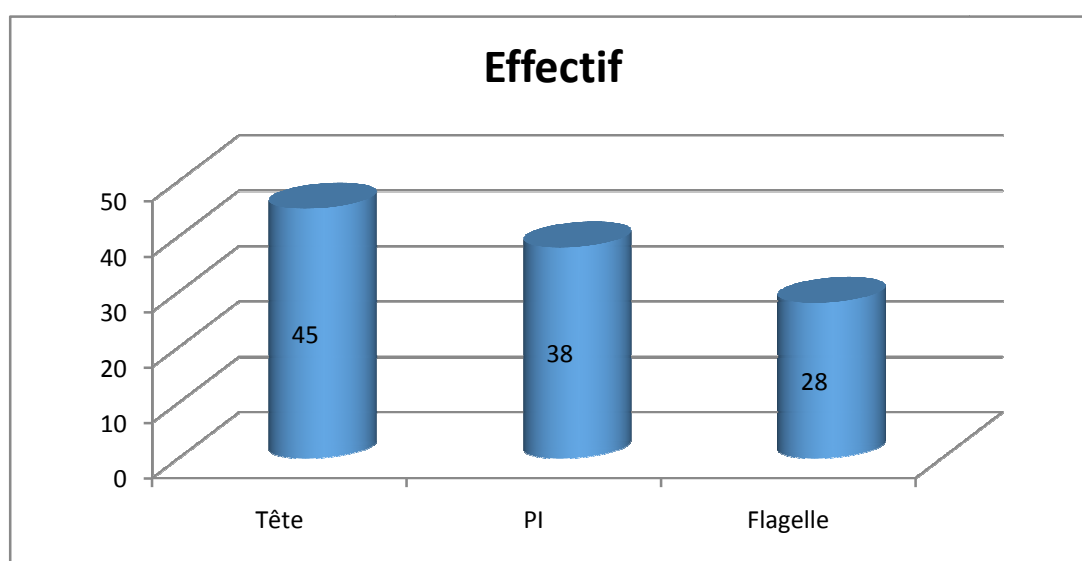


Figure 17 : Fréquence des anomalies morphologiques des spermatozoïdes.

a- Anomalies de la tête :

L'anomalie la plus fréquente est la tête allongée représentant 58 cas. Les anomalies de tête avec un acrosome malformé ou absent, une tête microcéphale est également observée avec un effectif de 56 cas, une tête avec une base anormale 60 cas, une tête macrocéphale 49 cas. Les effectifs les plus faibles 22, 08 correspondent respectivement à ceux de la tête amincie et de la tête dupliquée avec absence totale d'une tête irrégulière (Figure 18).

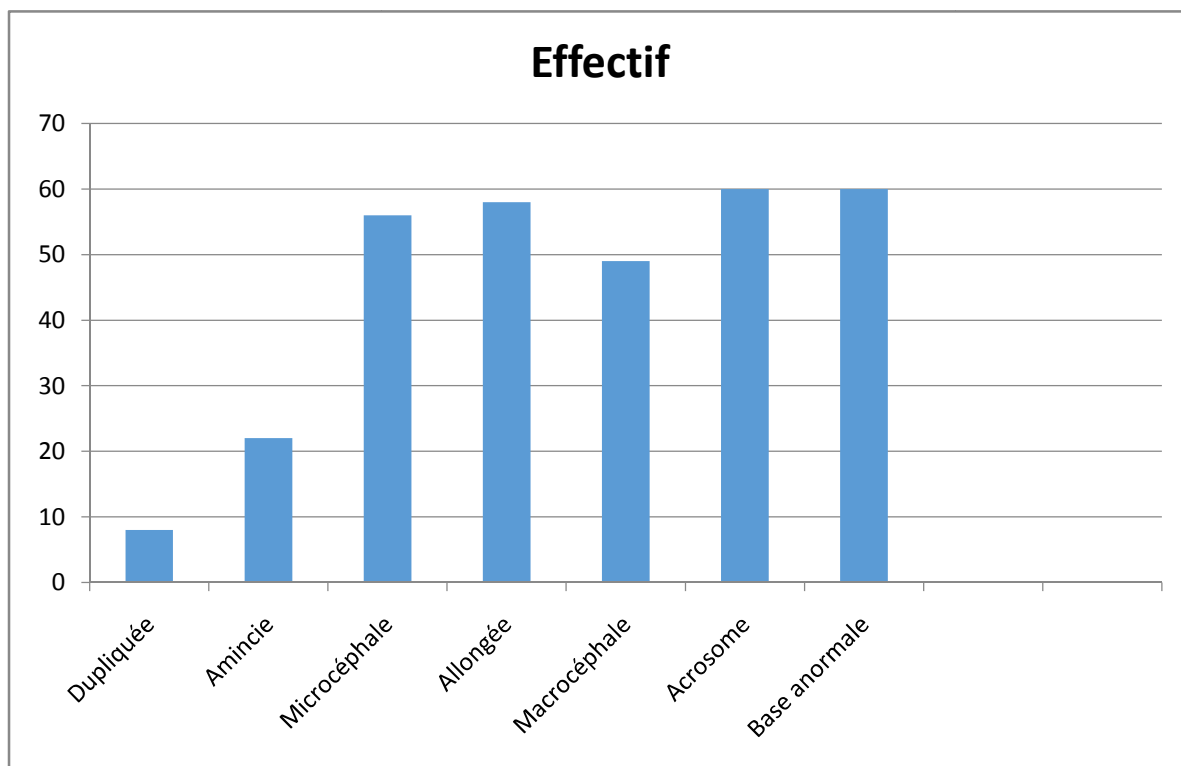
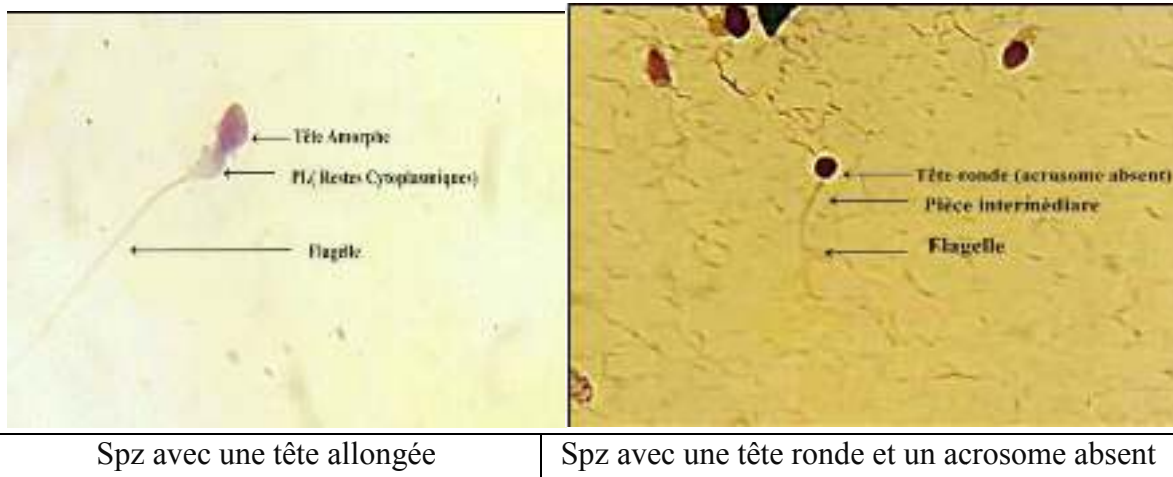


Figure 18 : Distribution des anomalies de la tête.

Parmi les anomalies de la tête, la prévalence de la tête allongée semble plus importante que celle des autres atypies (100%). Ces résultats sont différents de ceux obtenus par Prisant et al ;(2011) qui indiquent plutôt une fréquence plus élevée de la tête avec une base anormale.

b- Anomalies de la pièce intermédiaire :

Dans les cas atypiques de la PI, l'effectif de l'angulation est plus important que celui de la présence de reste cytoplasmique et anomalie grêle avec $n=57$, $n=55$ et $n=1$ (Figure 19).

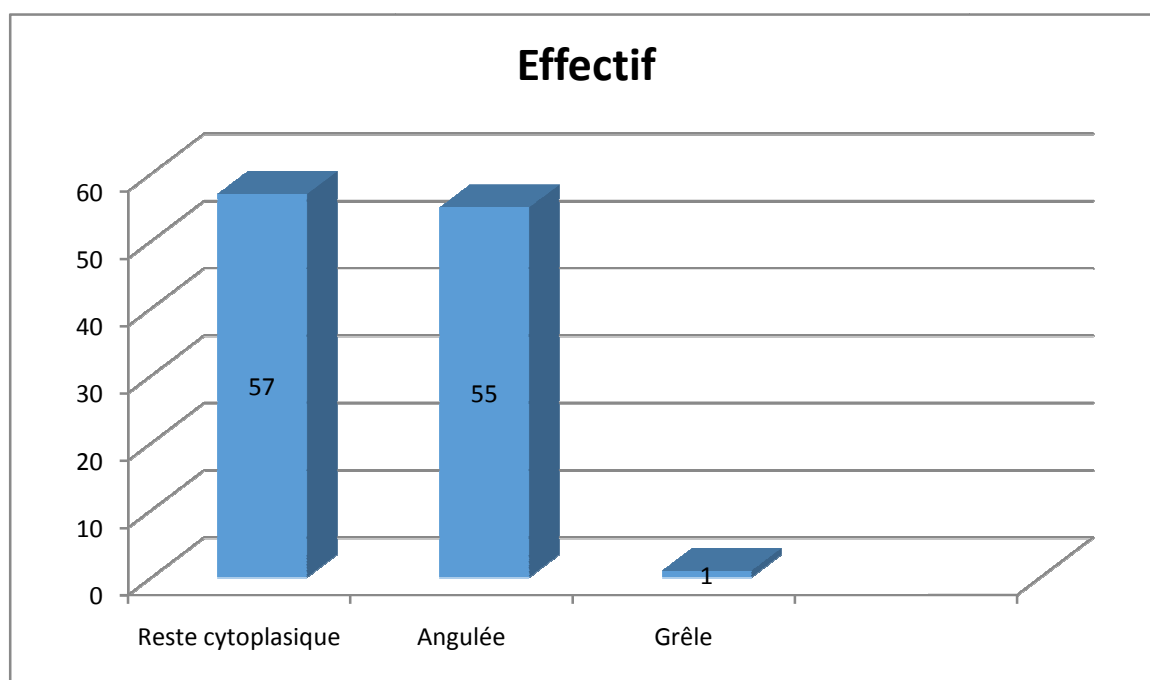
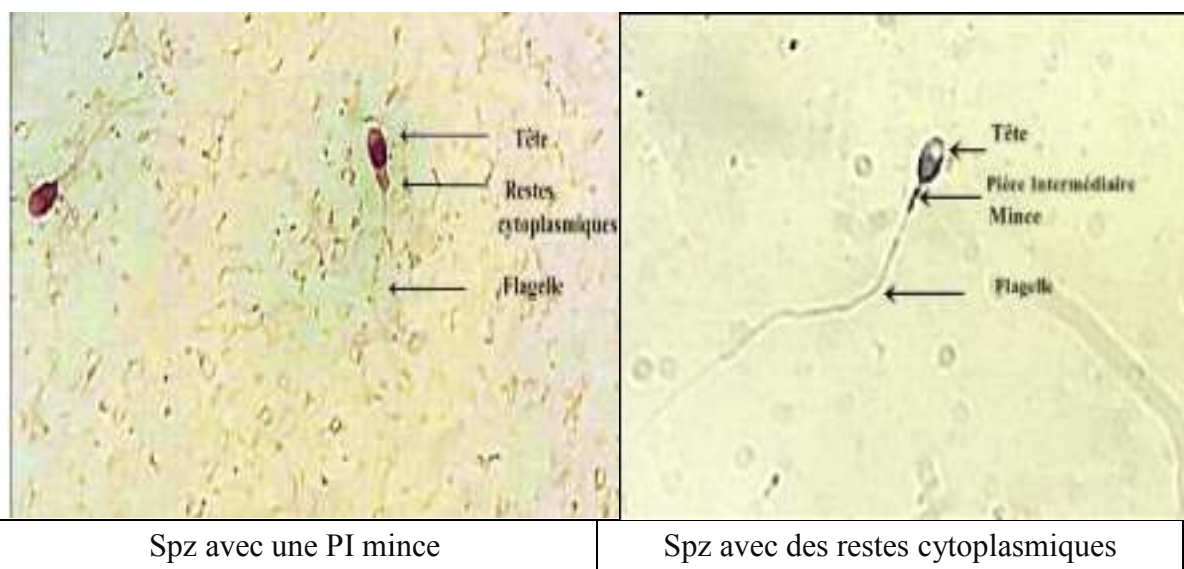


Figure 19 : Distribution des anomalies de la pièce intermédiaire.

Dans notre étude, les anomalies de la pièce intermédiaire sont dominées par l'angulation (84.66%). Ce qui est en accord avec les résultats observés dans l'étude de Prisant et al. (2011).

Tout angle aigu ou obtus de la pièce intermédiaire induit une profonde anomalie du déplacement des spermatozoïdes (Laudat et Lecourbe, 2008).

c- Anomalies du flagelle :

Les atypies du flagelle sont dominés par la forme enroulée avec = 42 cas suivi par la forme absent et multiple avec n=02, n =03 puis par la forme courte avec n=01. (Figure 20)

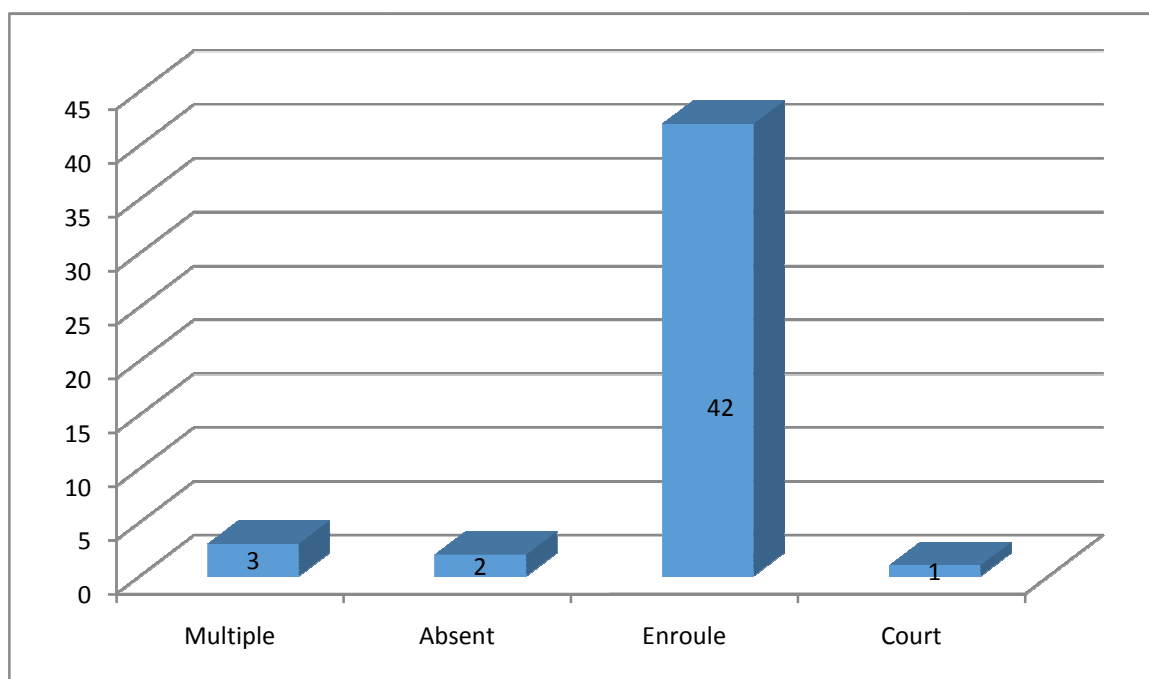
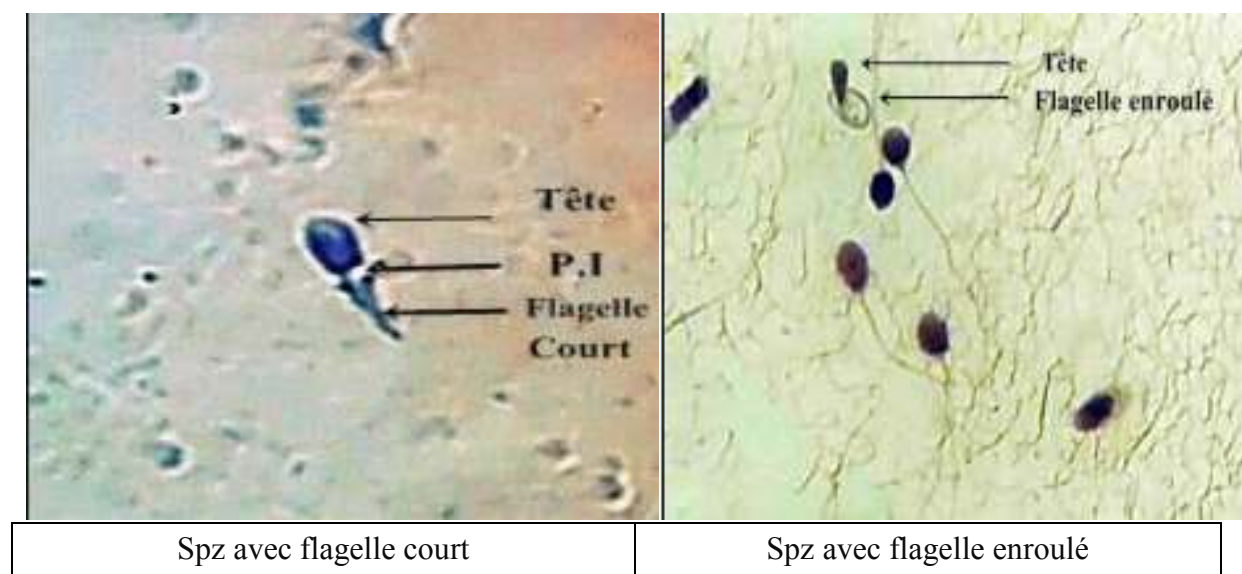


Figure 20 : Distribution des anomalies du flagelle.

Les anomalies liées au flagelle chez nos patients révélant la dominance de la forme enroulée (64.61%) orientent vers une infection qui peut être due à la présence du germe *Ureaplasma Urealyticum*. En effet, il a été démontré que l'adhérence de ce germe aux spermatozoïdes entraîne une augmentation élevée de l'enroulement flagellaire (Adreans et Comud. 1998). Ces altérations retentissent sur la mobilité requise pour atteindre l'ovocyte II métaphasique (Thibault et Levasseur, 2001).

Conclusion

Conclusion

Avec l'augmentation de l'incidence de l'infertilité masculine et la détérioration de la spermatogénèse aux cours de ces dernières décennies, la santé reproductive de l'homme est devenue un sujet de santé publique

Le spermocytogramme reste à l'heure actuelle la pierre angulaire de l'évaluation de l'infertilité masculine mais cet examen doit être interprété de façon critique due l'extrême variabilité des paramètres, à la fois inter et intra individuelle.

Notre contribution à l'étude de l'infertilité masculine en Algérie, avait pour but d'aborder l'aspect épidémiologique, cytologique afin de cerner les causes de cette pathologie, évaluer la fréquence des anomalies spermatiques, orienter la recherche étiologique, par la même recenser les facteurs de risque majeurs pour une meilleure prise en charge. En effet, Notre étude nous a permis de trouver une fréquence de spermogramme et/ou un spermocytogramme pathologique de 92% avec une prédominance de l'OATS.

Concernant la prise en charge de l'infertilité masculine, il est bien connu que la causalité multifactorielle est impliquée dans l'infertilité masculine, indiquant que l'infertilité chez un homme résulte d'interactions entre plusieurs facteurs, à savoir son mode de vie, ses expositions environnementales et/ou professionnelles à des agents toxiques ainsi que la présence éventuelle anomalies ou pathologies acquises de son appareil reproducteur. Le recours à la PMA a connu un grand essor dans la solution des problèmes d'infertilité, cela souligne l'importance de la technique d'ICSI.

Référence

Référence :

- 1- Lexique de la médecine de la reproduction <http://www.aly-abbara.com/livre>
- 2- Propositions pour une meilleure prise en charge de l'infertilité en France : <http://www.maia-asso.org/petition/?petition=3+>
- 3- **ZEGERS-HOCHSCHILD ET AL.** International Committee for Monitoring Assisted Reproductive Technology (ICMART) and the World Health Organization (WHO) revised glossary of ART terminology. *Fertility and Sterility*, 2009. Vol. 92, n° 5. P.1552.
- 4- **American Society for Reproductive Medicine.** Infertility. [En ligne]. 1944. Disponible sur : < <https://www.asrm.org/topics/topics-index/infertility/> >. (Consulté le 11 mars 2018).
- 5- **KARTHIK GUNASEKARAN • N PANDIYAN.** Anatomy and Development of the Male Reproductive System. In : *Male Infertility A Clinical Approach* . Inde : Springer , 2017.p.1
- 6- **DELAMARE J., DELAMARE F., GELS-MAL VILLEE, DELAMARE L.** (2002). Dictionnaire des termes de médecine, 27eme Edition. Edition Maloine; Paris: 412;430;432;435;750.
- 7- **STAERMAN F, HERMABESSIERE J.** 1993. Guide pratique de l'infertilité masculine. *Progrès en Urologie, monographie*.
- 8- **CISSE, C. A .T.** Profil épidémiologique de la stérilité conjugale au CHU de Dakar. Thèse Med Dakar 1990, n°45
- 9- **LANGMAN J.** 1984. *Developpement normal et pathologique*. Edition Masson. Embryologie.
- 10- **VALERI A, JOULIN V, FOURNIER G.** 1998. Prostatites. *EncyclMédChir (Elsevier, Paris)*.
- 11- **ROUVIERE H.** Anatomie humaine tome II. Tronc 11ième édition Paris Masson 1074 : 609 – 610.
- 12- **VALERI A, JOULIN V, FOURNIER G.** 1998. Prostatites. *EncyclMédChir (Elsevier, Paris)*.
- 13- **MBACKER F.** 1984. Essai de détermination des normes du spermogramme et du spermocytogramme en milieu africain sénégalais. Thèse Méd, Dakar.
- 14- **VACHERET N.** 2005. Histologie fonctionnelle des organes. Consulté le septembre 8.
- 15- **ROUVIERE H, DELMAS A.** 1992. Anatomie humaine, descriptive topographique et fonctionnelle. In, Masson. Vol. 564-96
- 16- **GERARD TACHDJIAN ET AL.** Structure et morphologie des spermatozoïdes : Embryologie et histologie humaines. France : Elsevier Masson , 2016, P.27.
- 17- **ROELOF MENKVELD et al** .Semenparameters, including WHO and strict criteriamorphology, in a fertile and subfertile population: an effort towards standardization of in-vivo thresholds. *Human Reproduction*, 2001, Vol.16, n °6; P.1165-1171.

- 18-BUVAT J, GUITTARD C. 1990.** Le facteur cervical dans la stérilité conjugale du couple. Editions techniques Encycl.med.chir (paris), Gynécologie, ,739 A20 (10) ,8p.
- 19-SURABHI GUPTA , ANAND KUMAR .**The HumanSemen. : Basics of HumanAndrology.ATextbook.Inde. Springer Nature Singapore.2017. P.171.
- 20-Auger (J), Jouannet (P) :** (2002)Manuel de laboratoire de l'OMS.Analyse du sperme humain et des interactionnesspermatozoides avec le mucuscervical.Edition INSERM
- 21-SETCHELL.** The effects of heat on the testes of mammals. Animal Reproduction, Avril/Juin. 2006 ; vol.3, n° 2, P.81-91.
- 22-JUAN FELIPE, VELEZ DE LA CALLE.** Altération de la fonction de reproduction masculine par les agents antimitotiques. mt Médecine de la Reproduction, Gynécologie Endocrinologie, Avril-Mai-Juin 2012 ; Vol.14 , n° 2, P. 94-101.
- 23-EISENBERG ML, MELDRUM D.** Effects of age on fertility and sexualfunction .Fertility and Sterility. 2017 .Vol.107 n°2 ; P.301-304
- 24-TIMOTHY G. JENKINS, PH.D.** Semenparameterdeclinewithadvancingage: a cause for concern?.Fertility and sterility, juillet2018 ; Vol. 110 , n° 01 , P.54.
- 25-MAWUSI DICKSON ET AL .** The Influence of Advanced Paternal Age on SpermChromatinIntegrity and EarlyEmbryoMorphologicalDevelopmentduring ICSI. Advances in Reproductive Sciences, 2018 ; Vol. 6, P. 35-49.
- 26-M LAOPAIBOON ET AL.** Advanced maternalage and pregnancyoutcomes: amulticountryassessment. An International Journal of Obstetrics&Gynaecology, 2014 ; Vol. 121 n° 1, P. 49–56.
- 27-FREDERIKSEN LE ET AL.** Risk of Adverse PregnancyOutcomesat Advanced Maternal Age. Obstetrics and Gynecology , Mars 2018 ; Vol.131 n° 03, P. 457-463.
- 28-VELDHUIS J., ZWART A., MULLIGAN T., IRANMANESH A.**Muting of androgenegative feedback unveilsimpoverishedgonadotropin-releasing hormone/luteinizing hormone secretoryreactivity in healthyolder men. The Journal of ClinicalEndocrinology&Metabolism, 2001, Vol.86, n °2 ; P.529-535.
- 29-KIDD. SA. ET AL .**Effect of male age on semenquality and fertility.areview of the literatture.Fertilityans sterility.2001.Vol,75.P237.248.
- 30-WAGNER L , Jacques TOSTAIN.** Varicocèle et infertilité masculine. RecommandationscomitéAndrologie.Progrès en Urologie ,2007,Vol. 17 ;P. 12-17
- 31-AUGER J, KUNSTAMANN JM, CZYGLIK F, JOUANNET P.** Decline in semenqualityamong the fertile men in Paris during the past 20 years. The New England Journal of Medicine.Fevrier 1995,Vol. 332 , n °5 ;P.281-285.
- 32-PANIAGUA R., RODRIGUEZ M.C., NISTAL M., FRAILE B., AMAT P.**Changes in the lipid inclusion/Sertolicellcytoplasm area ratio during the cycle of the humanseminiferousepithelium.Journal of Reproduction and Fertility Ltd, 1987, Vol.80 ;P.335-341.

- 33- WAGNER.L.** Androgènes, vieillissement masculin et fertilité. Progrès en Urologie, 2004, Vol.14 ; P. 769-775.
- 34- WORLD HEALTH ORGANIZATION** .The influence of varicocele on parameters of fertility in a large group of men presenting to infertilityclinics. Fertility and Sterility.Juin 1992, 57, n°.6.
- 35- PIERRE NEVOUX,etal.**Varicocèle et infertilité : mythe ou réalité ? Progrès en Urologie, Décembre 2009, Vol.19 n°4.
- 36- HOSSEINIFAR.H ET AL.** Study of the effect of varicocelectomy on spermproteins
- 37- BOILLOT.B ET AL.** Les malformations congénitales du pénis. Progrès en urologie,2013,Vol23,P 664-673.
- 38- J.H. KU,EL AL.** The preventiveeffect of systemictreatmentwith interferona2B for infertilityfrommumpsorchitis. BJU International, 1999, Vol. 84 ; P. 839–842.
- 39- DULIOUST E, et al** .Semenalterations in HIV-1 infected men. Human Reproduction, Août 2002, Vol.17 n °8 ; P.2112-2118. 76
- 40- NIKIFOROS KAPRANOS et al** .Detection of herpes simplex virus, cytomegalovirus, and Epstein-Barr virus in the semen of men attending an infertilityclinic. Fertility and sterility, Juin 2003, Vol.79 n °3.
- 41- J.H. KU,EL AL.** The preventiveeffect of systemictreatmentwith interferona2B for infertilityfrommumpsorchitis. BJU International, 1999, Vol. 84 ; P. 839–842.
- 42- NIKIFOROS KAPRANOS et al** .Detection of herpes simplex virus, cytomegalovirus, and Epstein-Barr virus in the semen of men attending an infertilityclinic. Fertility and sterility, Juin 2003, Vol.79 n °3.
- 43- SETCHELL.** The effects of heat on the testes of mammals. Animal Reproduction, Avril/Juin. 2006 ; vol.3, n° 2, P.81-91.
- 44- ADJAKOU AMASIAS ALLYX .JOEL.2000.** Infertilité masculine : profil clinique dans une consultation d'andrologie à Dakar Th. Méd. Dakar, n° 52.
- 45- ROELOF MENKVELD et al** .Semenparameters, including WHO and strict criteriamorphology, in a fertile and subfertile population: an effort towardsstandardization of in-vivo thresholds.Human Reproduction, 2001, Vol.16, n °6 ; P.1165-1171.
- 46- AUGER .J, EUSTACHE.F** .Standardisation de la classification morphologique des spermatozoïdes humains selon la méthode de David modifiée. Andrologie ,2000, Vol.10, n ° 4. ; P.358-373.
- 47- Les** **inducteurs** **de**
l'ovulationwww.gyneweb.fr/Sources/gyngene/gynendoc/inductovul.html.
- 48- MARCELLI .F.** **Prise en charge de l'infertilité masculine.** Progrès en urologie, 2009, Vol. 19 ; p.260-264.
- 49- MANSAT A. ET BENNET P. 1986.** *Techniques d'examen du sperme.* Stage de formation.

Toulouse, France.: Laboratoire de biologie de reproduction du CECOS Midi-Pyrénées



Annexe

Annexe I :

Etiologies des infertilités masculines par anomalie testiculaire d'origine chromosomique, génétique ou lésionnelle.

Causes Pré-testiculaires	Causes Testiculaires	Causes Post-Testiculaires
<ul style="list-style-type: none">• Hypogonadisme Primaire.• Hypogonadisme Secondaire.	<ul style="list-style-type: none">• Anomalies Génétiques (Les micro délétions du bras long du chromosome Y).• Anomalies Chromosomiques (Syndrome de klinefelter)	<ul style="list-style-type: none">• Agénésies bilatérales des canaux déférents (ABCD).• Obstruction des canaux éjaculateurs.• Obstruction épидидymo-déférentielle post-infectieuse.

Annexe II :

Normes de l'OMS 2010 adoptées au laboratoire.

Paramètre	Valeur de référence
Volume	> 1.5mL
PH	> 7.5
Nombre de spermatozoïdes /ml	> 15 millions : ml
Nombre de spermatozoïdes/éjaculat	> 39 Millions
Mobilité progressive	> 32%
Mobilité totale	> 40%
Vitalité	> 58%
Formes normales	>04%
Leucocytes	< 1.0 Million /ml

Annexe III :

Test de migration survie valeurs de référence.

possibilités Thérapeutiques (PMA)	Nombre (millions/ml)
Toutes techniques (IIU, FIV, ICSI)	≥ 1
FIV classique	0,5 – 1
FIV classique ICSI	0,3 - 0,5
ICSI	$\leq 0,3$

Annexe IV :

Résultats globaux des données des spermogrammes et spermogrammes

Résultats	Effectif	Pourcentage
Spermogramme /spermocytogramme Pathologique	60	92%
Spermogramme /spermocytogramme Normale	5	8%
Total	65	100%

Annexe V:

Répartition des patients en fonction de tranche d'âge.

Classe d'âge	Effectif	Pourcentage
(30-35]	18	30%
(35-40]	15	25%
(40-45)	17	28%
[45-50)	10	17%
Total	60	100%

Annexe VI :

Relation entre le type d'infertilité et les tranches d'âge des patients.

Type d'infertilité	Primaire		Secondaire	
	Fréquence	Pourcentage	Fréquence	Pourcentage
30-35	15	31%	03	27%
35-40	13	26%	02	18%
40-45	14	29%	02	18%
45-50	7	14%	04	37%
Total	49	100%	11	100%

Annexe VII :

Répartition des cas selon la profession.

Profession	Effectif	Pourcentage
Chauffeur	08	13%
Fonctionnaire	13	22%
Commerçants	13	22%
Sans profession	02	3%
Manoeuvre	03	5%
Agent de sécurité	09	15%
Divers	12	20%
Total	60	100%

Annexe VIII :

Répartition des cas selon les habitudes de vie toxique.

Statut des habitudes de vie toxique	Effectif	Pourcentage
Tabac	23	38%
Tabac, chique	09	15%
Non	11	18%
Chique	04	7%
Tabac, chique, alcool	07	12%
Alcool-tabac	03	5%
Alcool	02	3%
Alcool, chique	01	2%
Total	60	100%

Annexe IX :

Répartition des cas pathologiques selon le degré d'infertilité.

Type d'infertilité	Effectifs	Pourcentage
Primaire	49	82%
Secondaire	11	18%
Total	60	100%

Annexe X :

Répartition des cas en fonction de la durée d'infertilité. Durée d'infertilité

Durée d'infertilité	Effectif	Pourcentage
(1-5)	37	61%
(6-10)	19	32%
(11-15)	04	07%
Total	60	100%

Annexe XI :

Répartition du pourcentage des cas pathologiques

Diagnostic	Effectif	Pourcentage
OATS	13	22%
ATS	06	10%
OTS	10	17%
AS	27	45%
TS	02	03%
OS	02	03%
Total	60	100%

Annexe XII :

Répartition des cas selon les formes atypiques

Anomalies morphologiques	Effectif
Tête	45
PI	38
Flagelle	28

Annexe XIII :

Répartition des anomalies de la tête.

Anomalies de la tête	Effectif
Dupliquée	08
Amincie	22
Microcéphale	56
Allongée	58
Macrocéphale	49
Acrosome	60
Base anormale	60

Annexe XIV :

Répartition des anomalies de la pièce intermédiaire.

Anomalies de la pièce Intermédiaire	Effectif
Reste cytoplasmique	57
Angulée	55
Grêle	01

Annexe XV :

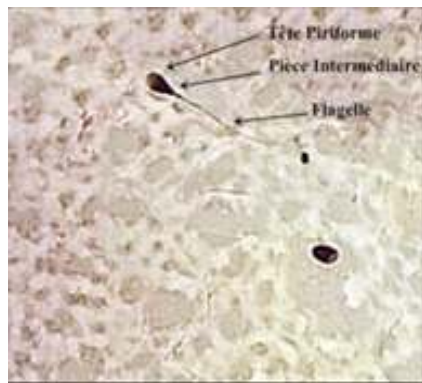
Répartition des anomalies du flagelle.

Anomalies du flagelle	Effectif
Multiple	03
Absent	02
Enroule	42
Court	01

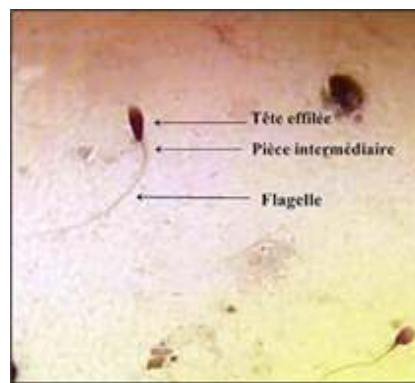
AnnexeXVI :

Anomalies morphologiques des spermatozoïdes selon les critères stricts. (OMS 2010) :

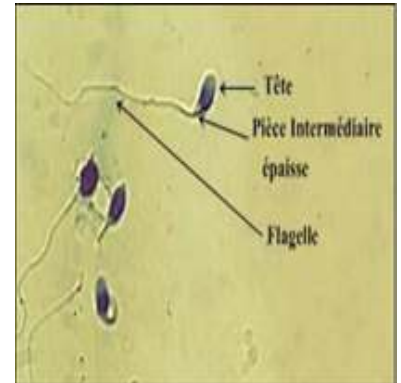
1-Les anomalies de la tete



Spz avec une tête piriforme

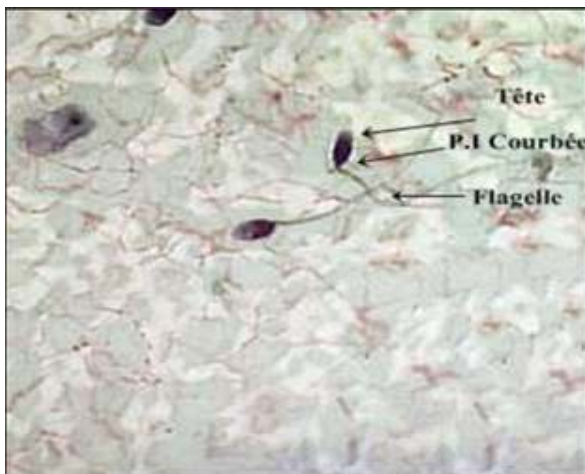


Spz avec une tête effilée

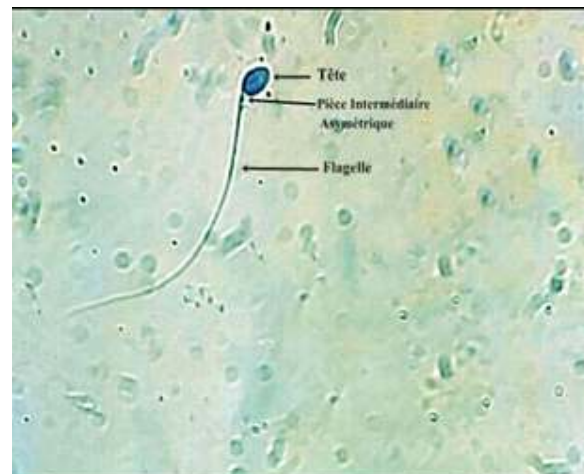


Spz avec une PI épaisse

2. Anomalies de la pièce intermédiaire (PI) :



Spz avec une PI Asymétrique



Spz avec une PI Courbée

3. Anomalies du flagelle



Spz avec flagelle courbé

Annexe XVII:

Cellule de Makler



Cellule de comptage à profondeur déterminée pour l'obtention d'une monocouche des spermatozoïdes.

Le nombre de spermatozoïdes comptés dans 10 carreaux correspond directement à la concentration en spermatozoïdes exprimée en millions par millilitre.

Annexe XVIII :

Matériel et réactifs :

1. Equipement :

- Microscope photonique Leica
- ehuve à 37
- Centrifugeuse de paillasse a gondé libre
- Agitateur
- Leucocymètre-cm-85.
- Haute à flux laminaire verticale
- Réfrigérateur

2. Petit matériel :

- Pot de recueil stérile (60ml)
- Lames et lamelles (22*22mm).
- Micropipettes (10-100 UI à 100-1000D) Gologer
- Cellule de Malassez / cellule de thomas.
- Tubes sec à 50ml, Tubes à fond conique de 15ml
- Papier PH colorimétrique gradué.
- Embouts
- Pipette graduée (3ml).

3. solutions et réactifs :

- Eosine à 1% (5ml)
- Réactifs de coloration de short et Papanicolaou éthanol 50% 70% 100%, hématoxyline Harris solution ODCEA de Papanicolaou
- Haile an immersion WINDSOR laboratory
- spermient> Sydney IVF
- Gamete buffer Sydney IVF
- Fertilization medium Sydney IVF

Annexe XIX:



Micropipette



Tube conique



spermient



Gamète buffer



Centrifugeuse



Coloration pour le spermo-cytogramme



Embouts



La haute de préparation



Pipette pasteur



Cellule de Thomas



Microscope optique



PH mètre



Solutions: Hémis
Hématocritine

Gramme 0.0

Solutions de
Solutions de

BOSNE 1%

Solutions de
Solutions de



Leucocytometre



Etuve



Lame



lamelle



Tube sec



agitateur



Microscope inversé



**Flacon stérile pour
mettre le sperme**



Recueils

Annexe XX :

Fiche de spermogramme

N° dossier :

Age :

Nom et Prénom :

Abstinence :

Spermogramme

Couleur :

PH :

Volume : ml (≥ 1.5 ml)

Viscosité :

Temps de liquéfaction : mn

Agglomérats : + / - .

Remarque : traces du sang / odeurs forte /

Agglutinat : + / - .

Mobilité des spermatozoïdes :

Mobilité des spz	a M.en trajet fléchant	b M.Lente et progressive	c M.sur place	d Immobiles
1 ^{ère} heures	%	%	%	%
3 ^{ème} heures	%	%	%	%

Normes : a+b \geq 30% ; a+b+c \geq 40%

Numération (par ml) :

✓ N. Spermatozoïdes :

spz/ml

Normes :

≥ 15 M/ml

✓ N. Cellules rondes :

Spz Totaux

≥ 39 M/ml

Leucocyte :

≤ 2 M / ml

< 1 M / ml

Spermocytogramme

Sur 100 spermatozoïdes observés ; selon la classification de DAVID ; on a relevé :

Formes typiques : % (≥ 15 %)

Formes atypiques : %

Anomalie.T :

Anomalie du flagelle:

Allongée :

Absent:

Amincie :

Ecourté :

Microcéphale :

Enroulé :

Macrocéphale :

Multiple :

Tête multiple :

Calibre Irrégulier :

Acro.Anormale :

Base anormale :

Anomalie.P.I:

Autres éléments :

Angulation :

Cellules de la ligne :

Reste cytoplasmique :

Polynucléaires :

PI grêle :

Spz en lyse :

Flagelle isolé :

Autre cellules :

I.A.M.= (≤ 1.60)

Conclusion :

Annexe XXI :

Les étapes de Méthode de gradient de densité

- ✓ Au début, un spermogramme est effectué pour évaluer la concentration en spermatozoïdes cela va servir à orienter le type de préparation à faire et non prononcer sur la fertilité du patient.

Cette méthode consiste à déposer l'éjaculat dans une colonne à gradient de densité, les cellules se séparent suivant leur densité en traversant des couches discontinues de densité croissante.

A la fin de la centrifugation, chaque spermatozoïde est situé au niveau du tube correspondant à sa densité. Les spermatozoïdes mobiles et normaux sont généralement plus denses que les spermatozoïdes anormaux.

- ✓ La séparation par gradient de densité ou Swim-up utilise une solution tampon de lavage des gamètes nommé Sydney IVF « gamete buffer » employée comme diluant et un milieu « spermient » Sydney IVF considéré comme une solution mère à 100%. la dilution de ce milieu dans le tampon permet l'obtention de deux densités requises (90% ; 45%).
- ✓ Le gradient de densité 90% est préparé comme suit : 900µl de « spermient » à 100% +100µl de « gamete buffer ».
- ✓ Le gradient de densité 45% est préparé comme suit : 450µl de « spermient » à 100% + 550µl de « gamete buffer ».
- ✓ A l'aide d'une micropipette, 1ml de solution à 90 % est déposé dans tube conique gradué, puis on y ajoute délicatement 1ml de solution à 45% par-dessus en évitant de mélanger les deux solutions. Le tube à gradient bicouche reste stable durant un certain temps.
- ✓ On verse 1ml du sperme dans le tube de gradient délicatement en évitant de mélanger.
- ✓ On centrifuge une première fois pendant 20 min à 1900 tours/min.
- ✓ Aspiration de surnageant de façon circulaire jusqu'au fond du tube et on ajoute 2ml de « gamete buffer ».
- ✓ On centrifuge une seconde fois pendant 10 min à 2400tours/min.
- ✓ Aspiration de surnageant.
- ✓ On ajoute 300µl de « gamete buffer » dans le cas IAC.

AnnexeXXII :

Les étapes de migration ascendante ou " SWIM-UP "

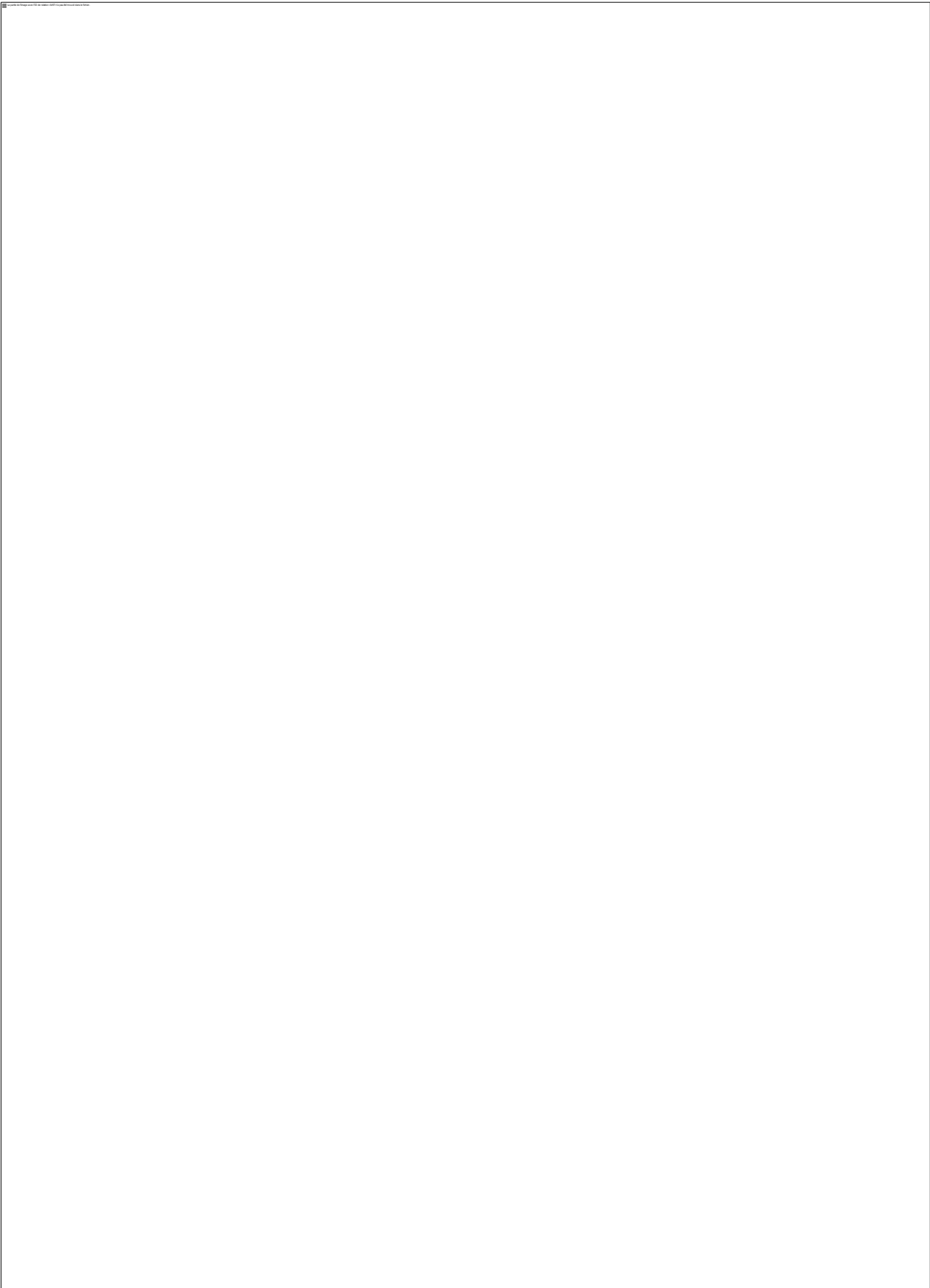
Phase 01 : Dans un tube stérile de 15 ml à fond conique (ou rond si l'on désire augmenter la surface d'échange lors de la migration finale), distribuer au moyen d'une pipette pas-teur stérile ou d'une pipette à usage unique : 1 à 1,5 ml de sperme entier, liquéfié et homogénéisé. Puis 4 ml de milieu de lavage. Fermer le tube avec son bouchon, Homogénéiser le tout par retournement doux. Centrifuger pendant 10 minutes à 600g, soit 1200 à 1800 T/mn selon la centrifugeuse planétaire utilisée.

Phase 02 : Aussitôt la centrifugeuse arrêtée, décanter par aspiration, jusqu'au-dessus du culot de spermatozoïdes. Diluer le culot avec 4 ml de solution de lavage, homogénéiser et centrifuger 10 minutes dans les mêmes conditions que précédemment. Phase : 3 Aspirer le surnageant jusqu'au-dessus du culot de sperme de manière à conserver le culot sous un volume de 0,4 à 0,5 ml environ, puis homogénéiser l'ensemble. Pencher le tube à 45° environ puis déposer très délicatement 0,5 ml de milieu de culture au-dessus du culot homogénéisé (Ferticulthépès ou ISM1 ou ISM2). Laisser migrer à 37°C et sous 5% de CO². Le temps nécessaire (30 à 90 minutes) pour voir la migration se développer sous forme d'un halo trouble au-dessus de la surface de séparation.

Faire un contrôle rapide de la migration en cellule de Thomas.

Prélever en commençant par le haut du halot trouble formé en descendant délicatement, sans venir prélever la couche inférieure puis homogénéiser, compter et incuber à 37°C sous 5% de CO² jusqu'au moment de l'insémination.

Annexe XXIII :



SOLUTION TAMPON DE LAVAGE

La solution tampon de lavage des gamètes Sydney IVF est utilisée pour lever physiquement les gamètes et les préparer à l'étape de fécondation du processus de FIV.

- Conçue pour être utilisée dans des conditions d'air ambiant, et non dans un environnement enrichi en CO₂.
- Tamponnée à la solution HEPES.
- Conçue spécifiquement pour créer les ovocytes et les spermatozoïdes aux procédures de migration ascendante, de séparation par gradient de densité et de dilution.
- Maintient un environnement stable pendant le lavage des ovocytes contenus dans le cumulus.
- Peut être utilisée pendant une ICSI.

UTILISATION

La solution tampon de lavage des gamètes Sydney IVF est conçue pour le lavage des gamètes et les procédures de migration ascendante. Elle est aussi utilisée comme diluant pour les procédures de séparation par gradient de densité et de décongélation des spermatozoïdes. Elle peut aussi être utilisée pour ICSI lorsqu'un environnement tamponné à la solution HEPES est requis. Après l'aspiration de l'ovule, la solution tampon de lavage des gamètes Sydney IVF est utilisée pour lever le complexe ovocyte-cumulus avant son transfert dans le milieu de fécondation Sydney IVF. Les acides aminés non essentels préviennent l'appauvrissement de la réserve interne d'acides aminés de l'ovocyte.

Numéro de commande	Référence produit	Voluma ml
G48258	K.SIGR.20	20
G48259	K.SIGR.50	50
G48260	K.SIGR.100	100

PRODUITS CONNEXES

Solution tampon de rinçage folliculaire Sydney IVF
Spermient Sydney IVF
Trousse de gradient pour spermatozoïdes Sydney IVF
Pipettes Flexipip® Cook®

*Nous possédons les mêmes laboratoires pour prévenir les infections dans nos produits médicaux tous du sang et du plasma humains. Ces produits comprennent la détecteur de marqueurs d'infection qui figure dans les dons individuels et les mélanges de plasma ainsi que les fractions et l'infusion de virus produits à fabrication. Malgré ces précautions, il existe un risque de transmission d'agents infectieux, notamment d'agents non connus, émergeants ou d'autres agents pathogènes par les produits médicaux tous du sang et du plasma. Aucun cas de transmission étiqueté par l'homme s'est enregistré à l'échelle internationale selon les procédures établies conformément aux spécifications de la Pharmacopée européenne. Nous vous recommandons vivement d'informer votre médecin et le personnel de votre centre de FIV Cook Medical pour vos patients.

COMPOSANTS

Acide aspartique	HEPES
Acide L-glutamique	Lactate de calcium
Albumine sérique humaine (A01)*	L-Alanine
Bicarbonate de sodium	L-Asparagine
Chlorure de potassium	L-Arginine
Chlorure de sodium	L-Valine
Dextrose	Ferriéthylène diamine de calcium
Eau purifiée	Phosphate de potassium
Gentamicine	Pyruvate de sodium
Glutamine stabilisée	Sulfate de magnésium
Glycine	

SPECIFICATIONS POUR LA PÉRIODE EN MARCHÉ

pH (dans l'air) : 7,3-7,5
Osmolalité : 285-295 mOsm/kg
Test biologique sur un moyen de culture à base de bicarbonate : ≥ 80 % des embryons témoin mesurant des blastocystes après 12 heures
Endotoxines : < 0,4 UE/ml
Stérilisation : Filtration aseptique
Essai HPLC : 5,00-20,00 mg/ml
Test de survie des spermatozoïdes humains : ≥ 70 % de motilité après 24 heures



SPERMIENT® SYDNEY IVF

Le milieu Spermient Sydney IVF est utilisé pour séparer les spermatozoïdes en fonction de leur densité, à l'aide de solutions de séparation par gradient de densité.

- Vendu à une concentration de 100 % de solution mère à base de silice enrobée de silane afin de pouvoir personnaliser la séparation des spermatozoïdes par densité.
- Peut être dilué dans la solution tampon de lavage des gamètes Sydney IVF pour obtenir la concentration requise.

UTILISATION

Le milieu Spermient Sydney IVF est une solution mère à 100 % qui peut être diluée dans la solution tampon de lavage des gamètes Sydney IVF pour obtenir la densité requise (par exemple, 80 % ou 40 %).^{*} Un gradient à une ou deux couches est alors préparé dans une éprouvette à fond conique. Le sperme liquéfié est placé sur le gradient. L'éprouvette est centrifugée et le culot obtenu est aspiré et lavé dans la solution tampon de lavage des gamètes Sydney IVF. Le culot final est remis en suspension dans le milieu de culture pour spermatozoïdes ou dans le milieu de fécondation Sydney IVF.

Numéro de commande	Référence produit	Volume ml
G32772	K-SISP-20	20
G30445	K-SISP-100	100

PRODUITS CONNEXES

Solution tampon de lavage des gamètes Sydney IVF
Milieu de culture pour spermatozoïdes Sydney IVF
Solution tampon de cryoconservation des spermatozoïdes Sydney IVF
Milieu de fécondation Sydney IVF

COMPOSANTS

Albumine sérique humaine (ASH)**	Glycine HEPES
Bicarbonate de sodium	Lactate de calcium
Chlorure de potassium	L-Taurine
Chlorure de sodium	Particules de silice enrobées de silane
Dextrose	Phosphate de potassium
Eau purifiée	Pyruvate de sodium
Gentamicine	Sulfate de magnésium
Glutamine, stabilisée	

SPÉCIFICATIONS POUR LA MISE SUR LE MARCHÉ

pH (dans l'air) : 7,3-7,5
Osmolalité : 285-295 mOsm/kg
Test biologique sur embryon de souris au stade bicellulaire : \geq 80 % des embryons devenus des blastocystes après 72 heures
Endotoxines : $<$ 0,4 UE/mL
Stérilisation : Filtration aseptique
Essai ASH : 5,00-20,00 mg/mL



^{*}L'utilisation de ce milieu à une dilution inférieure à 40 % ou supérieure à 80 % n'a pas été évaluée et n'est donc pas recommandée.

^{**}Nez pas exposer les zones habituelles pour prévenir les infections dans les produits médicaux issus du sang et de plasma humains. Ces produits contiennent le danger de transmission d'infection spécifique dans les dons individuels et les mélanges de plasma ainsi que l'activation et l'altération des virus pendant la fabrication. Malgré ces précautions, il existe un risque de transmission d'agent infectieux, notamment d'agents non connus, émergents ou d'autres agents pathogènes par les produits médicaux issus du sang et de plasma. Aucun cas de transmission virale confirmée n'a été associé à l'albumine sérique selon les procédures établies conformément aux spécifications de la Pharmacopée européenne. Nous vous recommandons vivement d'inscrire le nom de la patiente et le numéro du lot à chaque fois que vous utilisez un milieu de FV Cook Medical pour une patiente.