



REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR  
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



UNIVERSITE HADJ LAKHDAR BATNA  
FACULTE DES SCIENCES  
DEPARTEMENT S.N.V

## MEMOIRE

*Pour l'obtention du diplôme de*

## MAGISTER

Option : *Biologie Animale*

*Présenté par :*

CHENNAF Ali

### THEME

Etude des facteurs limitant la fertilité masculine dans la  
région de Batna.

### MEMBRES DE JURY

- |                      |                                  |                     |
|----------------------|----------------------------------|---------------------|
| • <b>L. HAMBABA</b>  | <i>Prof, Université de Batna</i> | <i>Présidente</i>   |
| • <b>M.YAHIA</b>     | <i>Prof, Université de Batna</i> | <i>Rapporteur</i>   |
| • <b>R.KAIDI</b>     | <i>Prof, Université de Blida</i> | <i>Examineur</i>    |
| • <b>G. BELAALOU</b> | <i>M.C, Université de Batna</i>  | <i>Examinatrice</i> |

# ***REMERCIEMENTS***

*Au professeur L. HAMBABA de la S.N.V,  
Qui nous a fait l'honneur d'accepter la présidence de notre jury de thèse,  
Hommages respectueux.*

*Au Professeur M. YAHIA, Professeur à S.N.V  
Pour nous avoir fait l'honneur de proposer et encadrer ce travail.  
Sincères remerciements.*

*Au Professeur R. KAIDI,  
Professeur, Université de Blida  
Pour avoir accepté d'examiner mon mémoire et de me faire l'honneur  
d'être partie du jury de thèse.*

*A madame le Docteur G. BELAALOUI,  
Maître de Conférences de Faculté de médecine de Batna,  
Pour sa collaboration appréciée au jury de notre thèse.  
Remerciements.*

A tout le personnel de département S.N.V hadj lakhdar. Batna  
A tout le personnel de CHU Benflis Touhami .Batna  
A tout le personnel de laboratoire Générale de Sanatorium .Batna.  
A tout le personnel de laboratoire Ibn Rochd .Batna  
A tout le personnel de clinique les rosiers. Batna

# Dédicace

A mes parents,  
Sans qui tout cela n'aurait été possible,  
Pour leur soutien, leur confiance et leur écoute,  
Pour tout ce qu'ils m'ont apporté,  
Pour leurs encouragements ininterrompus durant toutes ces années,  
Qu'ils trouvent ici l'expression de toute ma gratitude.

A mes sœurs et à mes frères,  
Pour tous ces bons moments partagés, votre réconfort, votre aide.

A *Docteur Ouadfel. N*,  
Merci de m'avoir supportée dans les deux sens du terme depuis le début.

A mes groupes de clinique les Rosiers,  
Ravie d'avoir passé de bons moments en votre compagnie

A tous les gens qui ont contribué à ce que j'en arrive ici.  
Merci

# Table des matières

Liste des abréviations

Liste des tableaux

Liste des figures

Introduction

## PARTIE. THEORIQUE

|                                                               |    |
|---------------------------------------------------------------|----|
| CHAPITRE I. ANATOMIE DE LA SPHERE URO-GENITALE                | 1  |
| I.1. Organes.                                                 | 1  |
| I.2. Voies spermatiques.                                      | 2  |
| I.3. Glandes annexes.                                         | 4  |
| CHAPITRE II. PHYSIOLOGIE DES TESTICULES                       | 4  |
| II.1. Spermatogenèse et Spermiogenèse.                        | 4  |
| II.2. Régulation hormonale de la spermatogenèse.              | 6  |
| II.3. Ultra structure de spermatozoïde.                       | 7  |
| II.4. Sperme.                                                 | 9  |
| CHAPITRE III. PHYSIOLOGIE DES SPERMATOZOÏDES                  | 10 |
| III.1. Trajet des spermatozoïdes.                             | 10 |
| III.2. Fécondation.                                           | 11 |
| CHAPITRE IV. EXPLORATION DE L'INFERTILITE                     | 12 |
| IV.1. Examens biologiques de première intention systématique. | 12 |
| IV.2. Examens complémentaires de première intention.          | 15 |
| CHAPITRE V. ANOMALIES DE SPERME                               | 19 |

## PARTIE PRATIQUE

|                                                                      |    |
|----------------------------------------------------------------------|----|
| CHAPITRE I. MATERIEL ET METHODES                                     |    |
| I.1. Cas cliniques.                                                  | 25 |
| I.2. Techniques d'analyse de sperme.                                 | 26 |
| I.2.1. Spermogramme.                                                 | 26 |
| I.2.2. Analyse morphologique des spermatozoïdes " spermocytogramme " | 29 |
| I.2.3. Spermoculture.                                                | 30 |
| I.2.4. Biochimie de sperme.                                          | 31 |
| 4.1- Dosage des marqueurs séminaux.                                  | 31 |
| 4.2- Dosage des protéines totales.                                   | 32 |
| I.2.5. Bilan hormonal.                                               | 34 |
| I.2.6. Electrophorèse des protéines par SDS-PAGE.                    | 35 |

## CHAPITRE II. RESULTATS ET DISCUSSION

|                                       |    |
|---------------------------------------|----|
| II.1. Fréquences et type de stérilité | 38 |
|---------------------------------------|----|

|                                                                               |    |
|-------------------------------------------------------------------------------|----|
| II.1.1. Distribution des patients selon le type de stérilité                  | 38 |
| II.1.2. Distribution des patients selon le type de stérilité et selon l'âge   | 39 |
| II.2. Distribution des patients résultats du spermogramme                     | 41 |
| II.2-1-Fréquence des anomalies                                                | 41 |
| II.2.2. Distribution des pathologies selon l'âge                              | 44 |
| II.2-3-Distribution des patients selon anomalies macroscopiques               | 44 |
| II.3-Distribution des patients selon spermocytogramme.                        | 45 |
| II.4-Distribution des pathologies selon l'activité professionnelle.           | 49 |
| II.5-Distribution des patients selon antécédents urogénitaux.                 | 50 |
| II.6.Distribution des patients en fonction des habitudes de la vie            | 52 |
| II.7-Distribution des patients selon les dosages hormonaux.                   | 54 |
| II.8-Distribution des patients selon état des spermocultures.                 | 55 |
| II.9-Distribution des patients selon les dosages biochimiques.                | 58 |
| II.10-Distribution selon la concentration des protéines totales.              | 61 |
| II.11-Électrophorèse des protéines du liquide séminal sur gel polyacrylamide. | 63 |
| <b>CONCLUSION GENERALE.</b>                                                   | 65 |
| <b>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES</b>                                            | 66 |

# GLOSSAIRE

**Adhérences:** voiles fins ou épais qui peuvent entourer les ovaires et les trompes, et empêcher la fécondation.

**Agénésie:** absence de formation d'un organe au cours du développement embryonnaire.

**Anophthalmie:** absence congénitale d'un ou des deux globes oculaires.

**Anovulation :** absence d'ovulation.

**Assistance médicale à la procréation** (AMP ou PMA=Procréation médicalement assistée) : englobe toutes les interventions médicales et biologiques de lutte contre l'infertilité.

**Asthénospermie :** insuffisance de mobilité des spermatozoïdes.

**Cryptorchidie** (ectopie testiculaire) : absence de descente d'un ou des testicules dans les bourses à la naissance.

**Embolisation:** en thérapeutique, introduction dans la circulation de microsphères de plastique destinées à provoquer une obturation mécanique de petites artères dans un territoire défini pour nécroser une formation pathologique.

**Estradiol (E2) :** hormone sécrétée par le follicule ovarien dont le taux varie au cours du cycle menstruel.

**Fécondation in vitro** (FIV) : rencontre de l'ovocyte et du spermatozoïde au laboratoire dans un dispositif (tube ou boîte) appelé à tort éprouvette.

**Fibrome:** tumeur bénigne de l'utérus formée de tissu fibreux et musculaire.

**FIVNAT:** association nationale recensant les résultats d'AMP fournis par les centres français.

**Follicule:** structure ovarienne qui contient l'ovule entouré de cellules nourricières et qui se remplit progressivement jusqu'à l'ovulation de liquide folliculaire.

**FSH:** hormone sécrétée par l'hypophyse qui commande le développement du follicule ovarien.

**Galactorrhée:** écoulement de lait par les seins en dehors de la période d'allaitement.

**Glaire cervicale:** sécrétion de fluide provenant du col de l'utérus, maximum juste avant l'ovulation et qui permet l'ascension des spermatozoïdes du vagin à la cavité utérine.

**GnRH :** gonadotrophine releasing hormone.

**Gonadotrophines:** hormones sécrétés par l'hypophyse (ou par le placenta) agissant sur les gonades (ovaires, testicules).

**HCG:** hormone sécrétée par l'œuf dès son implantation dans l'utérus, elle permet le diagnostic précoce de la grossesse. Elle est utilisée couramment en stérilité pour provoquer l'ovulation.

**HMG:** hormones extraites d'urines de femmes ménopausées pouvant stimuler l'ovulation (remplace l'action naturelle de la FSH et LH).

**Hydrocèle:** épanchement séreux dans la tunique qui entoure le testicule.

**Hydrosalpinx :** enkystement de liquide séreux dans une trompe de Fallope.

**Hypophyse:** glande endocrine située à la base du cerveau en connexion permanente avec l'hypothalamus, elle sécrète des hormones comme la FSH, la LH et la prolactine.

**Hypothalamus:** structure située à la base du cerveau qui reçoit les messages nerveux et régule les grandes fonctions de l'organisme (faim, soif, température, activité sexuelle).

**Inducteurs de l'ovulation:** médicaments capables de provoquer le développement d'un ou plusieurs follicules sur les ovaires.

**Inhibine B :** hormone d'origine ovarienne, capable d'inhiber la biosynthèse et la sécrétion de l'hormone folliculo-stimulante (FSH).

**Insémination artificielle (IA) :** procédé ayant pour but de rapprocher les spermatozoïdes de l'ovocyte en déposant le sperme à l'aide d'un fin cathéter à l'entrée du col ou dans la cavité utérine.

**Insémination intra-utérine (JIU) :** dépôt de sperme préparé au fond de l'utérus.

**Laparotomie:** ouverture chirurgicale de l'abdomen.

**LHRH** (encore appelée GnRH) : hormone sécrétée par une glande du cerveau, hypothalamus, et qui contrôle la libération de FSH et de LH par l'hypophyse.

**Oligoasthénotératospermie (OAT):** diminution de tous les paramètres spermatiques du spermogramme.

**Oligospermie :** insuffisance du nombre de spermatozoïdes dans le sperme.

**Orchite:** inflammation du testicule.

**Prolactine:** hormone de la lactation sécrétée par l'hypophyse.

**Tératospermie :** taux élevé de spermatozoïdes anormaux.

**Varicocèle:** présence de varices autour d'un testicule pouvant altérer la fécondité masculine.

**Zone pellucide:** enveloppe protectrice qui entoure l'ovocyte et l'embryon avant que celui-ci s'implante dans l'utérus.

**Zygote:** Ovocyte fécondé contenant un noyau mâle et un noyau femelle.

## LISTE DES TABLEAUX

|                                                                                                              |    |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Tableau 01.</b> Données actuellement admises pour juger de la qualité du sperme selon OMS.                | 15 |
| <b>Tableau 02.</b> Marqueurs de chaque compartiment et leurs concentrations.                                 | 16 |
| <b>Tableau 03.</b> Répartition des anomalies spermatiques selon le dosage de protéine.                       | 33 |
| <b>Tableau 04.</b> Répartition des sujets selon le type d'infertilité.                                       | 38 |
| <b>Tableau 05.</b> Répartition de type d'infertilité selon les tranches d'âge des hommes.                    | 40 |
| <b>Tableau 06.</b> Fréquence des anomalies macroscopiques du spermogramme.                                   | 46 |
| <b>Tableau 07.</b> Distribution de fréquences des différentes formes atypiques.                              | 47 |
| <b>Tableau 08.</b> Répartition des patients selon les antécédents urogénitaux et les anomalies spermatiques. | 51 |
| <b>Tableau 09.</b> Répartition des sujets selon les habitudes de la vie.                                     | 53 |
| <b>Tableau 10.</b> Répartition des sujets selon le dosage de testostérone.                                   | 55 |
| <b>Tableau 11.</b> Répartition des sujets selon dosage de LH.                                                | 55 |
| <b>Tableau 12.</b> Répartition des sujets selon dosage de FSH.                                               | 55 |
| <b>Tableau 13.</b> Répartition des sujets selon l'état de spermocultures (+/-).                              | 56 |
| <b>Tableau 14.</b> La répartition des germes selon les types d'anomalies.                                    | 57 |
| <b>Tableau 15.</b> Répartition des sujets selon l'état de spermocultures (+/-) et le type de l'infertilité.  | 57 |
| <b>Tableau 16.</b> Répartition les dosages pathologique selon les anomalies spermatiques.                    | 59 |
| <b>Tableau 17.</b> Concentration moyenne en protéines totales du liquide séminal des cas étudiés.            | 62 |



## LISTE DES FIGURES

|                                                                                                                            |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Figure 01.</b> Coupe sagittale de sphère uro-génitale masculin.                                                         | 1  |
| <b>Figure 02.</b> Organisation générale du testicule.                                                                      | 3  |
| <b>Figure 03.</b> Coupe histologique testiculaire montrant le tube séminifère et le compartiment interstitiel.             | 3  |
| <b>Figure 04.</b> Spermatogenèse                                                                                           | 5  |
| <b>Figure 05.</b> Les étapes de différenciation de la spermatide en spermatozoïde.                                         | 6  |
| <b>Figure 06.</b> Régulation hypothalamo-hypophysaire schématisée des fonctions endocrines et exocrines de l'homme adulte. | 8  |
| <b>Figure 07.</b> Ultra structure du spermatozoïde humain.                                                                 | 8  |
| <b>Figure 08.</b> Composition de sperme.                                                                                   | 9  |
| <b>Figure 09.</b> Les différentes étapes de la fécondation.                                                                | 11 |
| <b>Figure 10.</b> Analyse électrophorétique sur gels SDS-PAGE                                                              | 37 |
| <b>Figure 11.</b> Répartition de la population effectuée selon la tranche d'âge et le type de l'infertilité.               | 39 |
| <b>Figure 12.</b> Répartition en pourcentage de spermogramme.                                                              | 41 |
| <b>Figure 13.</b> Distribution de la fréquence des anomalies spermatiques.                                                 | 42 |
| <b>Figure 14.</b> Répartition des spermocytogrammes anormaux selon les cas pathologiques.                                  | 48 |
| <b>Figure 15.</b> Distribution des pathologies selon l'activité professionnelle.                                           | 50 |
| <b>Figure 16.</b> Répartition en pourcentage des sujets selon le germe qui cause l'infection.                              | 56 |
| <b>Figure 17.</b> Répartition en pourcentage des sujets selon le dosage de fructose.                                       | 59 |
| <b>Figure 18.</b> Répartition des sujets selon le dosage de zn.                                                            | 59 |
| <b>Figure 19.</b> Répartition selon le dosage de carnitine.                                                                | 59 |
| <b>Figure 20.</b> La concentration du plasma séminal en fructose par rapport le pourcentage des spermatozoïdes mobiles.    | 61 |
| <b>Figure 21.</b> SDS PAGE des protéines du liquide séminal.                                                               | 64 |

# INTRODUCTION

A Batna et en Algérie et en particulier, la stérilité constitue un drame social. Première cause de mésentente conjugale ou de divorce, elle est considérée comme une fatalité, un sort ou une malédiction infligée au couple. L'homme et ses parents ont coutume d'accuser le plus souvent la femme qui se retrouve sans défense alors que la responsabilité masculine de la stérilité conjugale existe.

Il arrive parfois chez certains couples que le mari refuse de pratiquer les examens et analyses nécessaires qui leur permettraient de soigner leur infertilité. L'argument qu'il évoque est en général le suivant : « Il est interdit de gaspiller de la semence même pour des analyses ». Donc il n'y a rien à faire, il ne reste plus qu'à prier. En réalité, ces hommes se réfugient derrière un interdit qu'ils connaissent mal, par angoisse de découvrir que la stérilité de leur couple ne serait due, en réalité qu'à eux même, ce qui froisserait douloureusement leur égo et leur virilité.

Sans le monde 15% des couples souffrent de stérilité à un moment de leur vie reproductive. Actuellement l'homme est responsable de 30% à 50% des cas de stérilité du couple, et ce trouble affecte un homme sur vingt. Cependant, il peut être difficile de distinguer un homme ayant une fertilité normale d'un autre ayant une fertilité réduite.

La toute première cause en est que le désir de grossesse est repoussé à un âge toujours plus avancé. La question de savoir si les modifications du spermogramme jouent aussi un rôle est très exploité par les médias, mais très controversée dans la littérature scientifique

Dans les pays développés, depuis l'avènement de la fécondation *in vitro* (FIV), la prise en charge des couples stériles connaît un essor considérable avec les techniques et variantes de la procréation médicalement assistée : FIV, Culture Intra-vaginale et Transfert d'embryon (CIVETE), Zygote Intra-Fallopian Transfer (ZIFT), Transfert Embryonnaire Tubaire (TET). Un bilan précis est toutefois pathonécessaire avant tout geste thérapeutique (spermogramme avec spermocytogramme, dosage biochimique, dosage hormonal, échographie, bilan infectieux,...).

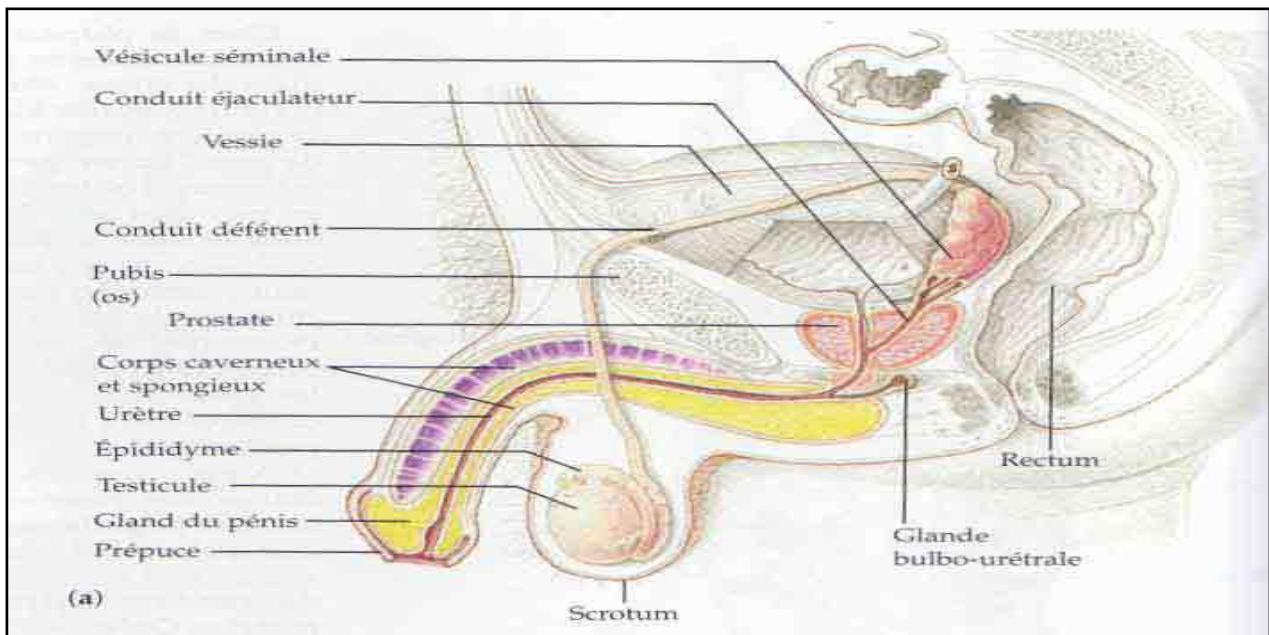
A notre connaissance, peu d'études sur les facteurs étiologiques de la stérilité du couple ont été faites mais les demandes de consultation pour infécondité se font de plus en plus nombreuses. L'objectif de cette étude est d'inventorier les étiologies de la stérilité des hommes dans la région de Batna afin d'améliorer sa prise en charge et d'en établir une bonne stratégie thérapeutique.

# **Partie**

# **Théorique**

## I-1-ANATOMIE DE LA SPHERE URO-GENITALE

L'appareil reproducteur masculin assure la production, le stockage et le transport du matériel génétique contenu dans les gamètes mâles, ou spermatozoïdes [41] [58]. Dant les organes principaux sont les testicules, les épидидymes, les canaux déférents, le canal éjaculateur, l'urètre et le pénis [45]. Les organes auxiliaires sont les glandes bulbo-urétrales, la prostate et les vésicules séminales [28] [31] (Fig.1).



**Figure 1.** Coupe sagittale de sphère uro-génitale masculin.

(d'après jp bailleul et al., 1991)

### I.1.1.Organes.

Le scrotum: est un sac de peau plus ou moins plissée, généralement plus pigmentée que la peau du corps (plus foncée), elle contient des glandes sébacées et couvert de poils [41].

Le dartos (sous la peau), membrane fibreuse recouverte d'un muscle crémaster, dont la fonction est d'élever le testicule de manière volontaire, au moment de l'éjaculation [58].

Les testicules (testes): tous les mammifères possèdent des testicules jumelés, de forme ovoïde, surface lisse, blanc / bleu, ferme, le testicule droit est placé plus haut que le gauche [45] [67].

Chez la plupart des espèces (sauf mammifères marins) ont des testicules internes pendant la vie fœtale, les testicules sont situés dans les fosses lombaires, près des reins (dans la cavité abdominale) [14] [67]; ils vont descendre dans les bourses par l'orifice inguinal à la fin du développement de l'embryon car la température du corps est trop élevée pour permettre la production de spermatozoïdes [58].

La taille des testicules est variable mais les dimensions habituelles sont : 5cm pour le plus grand axe, 3 cm pour le petit axe, et 2,5 cm pour l'épaisseur [67]. Chaque testicule est formé de l'albuginée (= enveloppe fibreuse qui entoure les 300 à 500 lobules testiculaires) ; chaque lobule testiculaire contient un peloton de tubes très fin = les tubes séminifères ; font entre 30 et 70 cm de long pour 350 µm de diamètre, ces tubes aboutissent à un réseau nommé le rete testis ; lui même est constitué de canaux plus large qui communiquent entre eux pour aboutir à l'épididyme [14] (Fig.2).

La paroi des canaux séminifères est le lieu de la spermatogenèse. C'est à l'intérieur de ces tubes séminifères que débute la fabrication des spermatozoïdes [45].

La paroi de ces canaux est composée de 2 types de cellules : les **cellules de Sertoli** qui produisent les substances chimiques nécessaires à la spermatogenèse (plus le rôle de soutien et de nutrition) et les différentes lignées cellulaires de la spermatogénèse [58] (Fig.3).

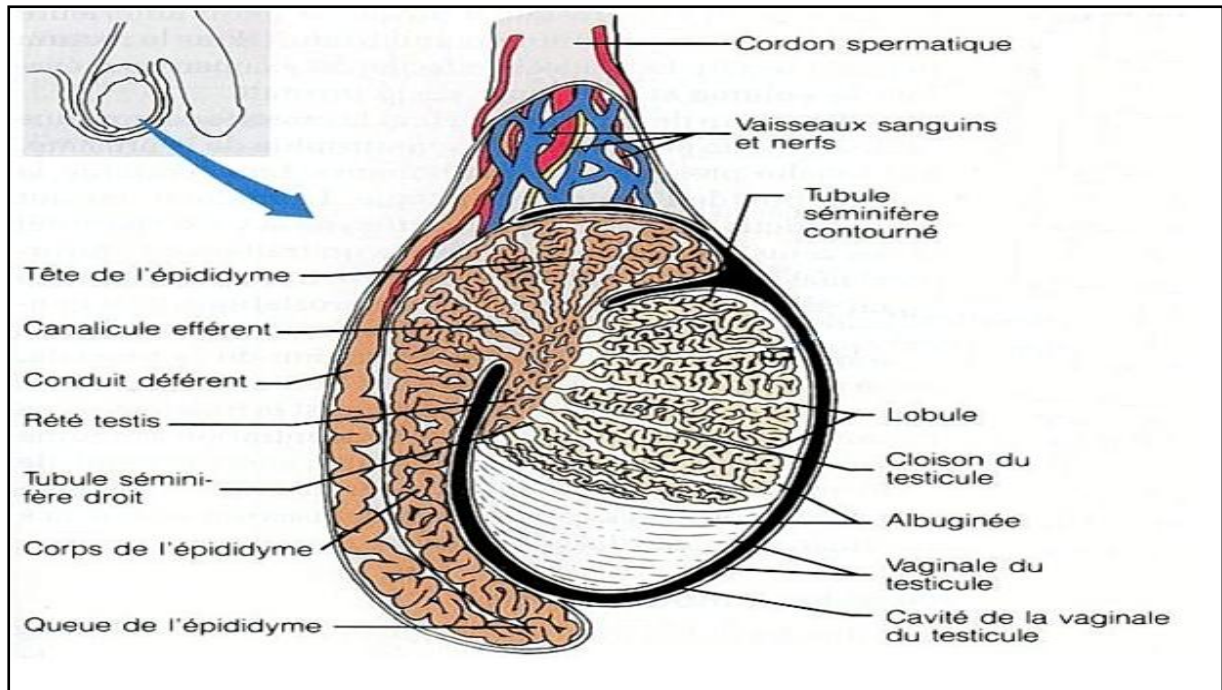
Les cellules de Leydig, aussi nommées cellules interstitielles, qui se trouvent entre les canaux séminifères et qui contrôlent le développement des caractères sexuels primaires et secondaires, et jouent un rôle dans le fonctionnement de l'appareil génital masculin et le comportement sexuel, elles produisent et sécrètent environ 95 % de la testostérone chez l'homme (les 5 % restant viennent des glandes surrénales, ce qui explique que les femmes aient aussi une faible quantité de testostérone) [45] [58] [67] (Fig.3).

### I.1.2.Voies spermatiques

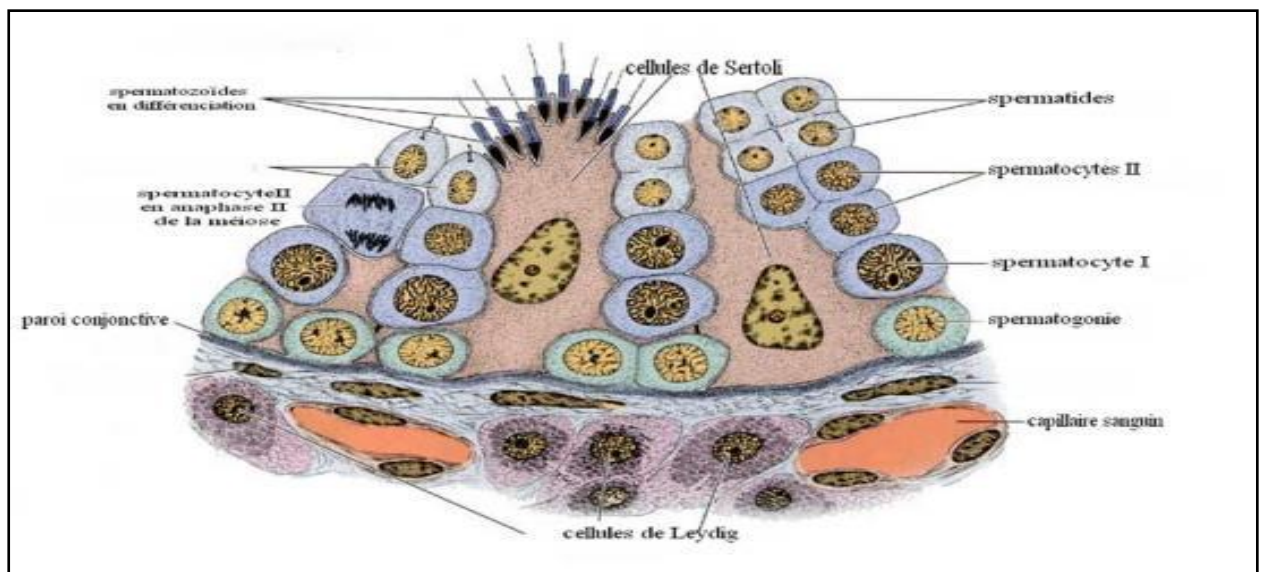
Le Cônes efférents draine le rete-testis. Environ 10 à 12 cônes traversent l'albuginée et se jettent dans la tête de l'épididyme [12].

L'épididyme est un renflement (5 à 7 m chez l'Homme) pelotonné sur lui-même qui prend naissance au sommet du testicule, descend le long de sa face externe et se termine dans un autre canal : le canal déférent [41]. À l'intérieur se trouve un conduit très fin et très long (6m), pelotonné sur lui même, qui va recevoir toutes les sécrétions testiculaires (spermatozoïdes et hormones). Ils permettent aux spermatozoïdes de compléter leur maturation (1 jour dans la tête ; 4 à 5 jours dans le corps et la queue) [47] (Fig.2).

Le canal déférent long de 45 cm, environ 2 mm de diamètre, prolonge celui de l'épididyme et assure le transit des spermatozoïdes jusqu'à l'urètre. Le petit renflement du canal déférent, à la fin de son parcours, est appelé: ampoule différentielle (lieu de stockage des spermatozoïdes) [12] [45].



**Figure 2.** Organisation générale du testicule (D'après Nazzari N, 2002).



**Figure 3.** Coupe histologique testiculaire montrant le tube séminifère et le compartiment interstitiel.

(D'après Nazzari N, 2002)

Le pénis, encore appelé verge est l'organe qui assure l'éjection du sperme, ou l'éjaculation, au moment du rapport sexuel ; il permet aussi l'évacuation de l'urine [47] (Fig.1).

Le gland, est l'extrémité arrondie du pénis [41]. Au bout se trouve un orifice, le méat urinaire. Le gland est recouvert par une peau, le prépuce qui est fixé à sa partie inférieure par le frein du prépuce. Dans certaines cultures, pour des raisons religieuses, le prépuce peut être enlevé, c'est la circoncision [12] [67] (Fig.1).



### I.1.3. Glandes annexes

**Les vésicules** séminales (ou glandes vésiculeuses), sont les deux glandes débouchant dans la prostate située au voisinage de la vessie, produisent plus de la moitié du liquide séminal, mesurant 5 à 10 cm de long, pour un volume de 5 à 10 ml [31] [41].

Les vésicules séminales sécrètent un liquide alcalin de nature visqueuse et de coloration jaunâtre renfermant du fructose ainsi que de l'acide ascorbique [45] [47], des protéines jouant un rôle dans la coagulation (spécifiquement la séminogéline et des prostaglandines) [28]. Les spermatozoïdes et le liquide séminale se mélangent dans le conduit éjaculateur puis pénètrent dans l'urètre et plus précisément dans sa partie prostatique à l'instant de l'éjaculation [37] [58] (Fig.1).

**La prostate ;** est la plus grosse des glandes annexes. Elle entoure la partie supérieure de l'urètre et déverse directement ses sécrétions dans ce dernier par l'intermédiaire de plusieurs petits conduits [28] [37]. Le liquide prostatique (10-30 % du liquide séminal) est fluide, laiteux et relativement alcalin, ce qui a pour effet d'équilibrer l'acidité de l'urine restant dans l'urètre et l'acidité naturelle du vagin. La prostate cause certains problèmes médicaux assez répandus chez l'homme ayant dépassé la quarantaine [28] [47] [58] (Fig.1).

**Les glandes bulbo-urétrales ;** les dernières structures annexes, sont une paire de petites glandes situées le long de l'urètre, sous la prostate. On ne connaît pas encore leur fonction. Elles sécrètent un liquide visqueux avant l'éjaculation [45] [37]. On a suggéré que ce liquide joue le même rôle que le liquide prostatique ou qu'il sert à lubrifier le pénis et le vagin [28] [50] (Fig.1).

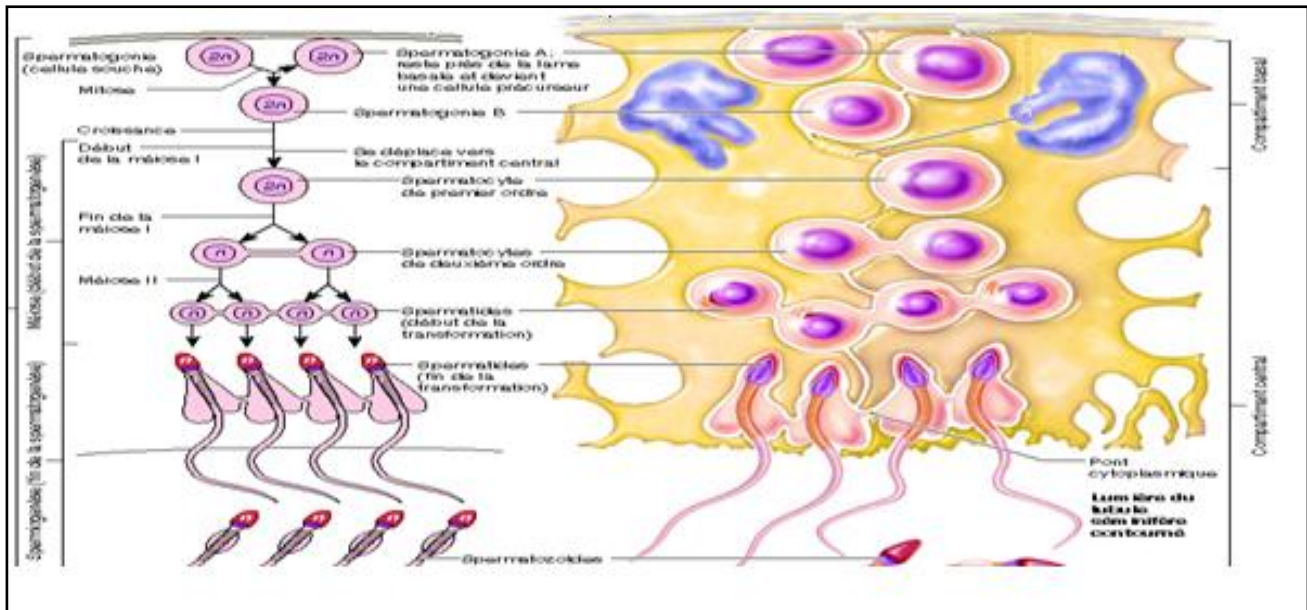
## II/ PHYSIOLOGIE DES TESTICULES

### II-1- Spermatogenèse et Spermiogénèse

A l'opposé des cellules germinales femelles qui entrent toutes en méiose aux premiers stades du développement [41], les cellules germinales mâles conservent une population de cellules qui peut se diviser par mitose et à partir des quelles des cellules méiotiques peuvent émerger tout au long de la vie [72].

Et contrairement à l'ovocyte qui vieillit avec la mère, les cellules germinales mâles est une cellule qui a toujours le même âge. Ceci explique que l'on ne retrouve pas chez l'homme les anomalies de la méiose liées au vieillissement du gamète [67] [69] [72].

La spermatogénèse débute à la puberté, et dure toute la vie, elle correspond à la fabrication continue de spermatozoïdes sous le contrôle de la testostérone et de la FSH [67]. Une éjaculation contient entre 100 à 250 millions de spermatozoïdes [69].



**Figure 4.** Spermatogénèse (D'après MullerY. et Clos J. 1997).

Les spermatogonies sont des cellules souches primitives, qui se trouvent à la périphérie de chaque tubule, et donne des spermatozoïdes suite à la méiose. Les cellules issues d'une spermatogonie maintiennent entre elles des ponts cytoplasmiques, afin qu'elles soient synchrones [25] [69].

Les cellules germinales les moins différenciées sont les spermatogonies de type A, ces cellules peuvent se diviser de très nombreuses fois et donnent des spermatogonies de type B, cellules qui entrent dans un processus de différenciation [69] [72] (Fig.4).

Puis la spermatogonie grandit et devient spermatocyte I (grandes cellules ovalaires au noyau arrondi, contenant plusieurs nucléoles). À ce stade, ce sont toujours des cellules souches avec  $2n$  chromosomes [69]. La première division méiotique conduit à la séparation des chromosomes homologues et à la formation des spermatocytes II qui n'a plus que  $n$  chromosomes. La deuxième division aboutit à la répartition des chromatides de chaque chromosome homologue et donc la formation des spermatides qui migrent vers la "lumière" du tube [23] [25].

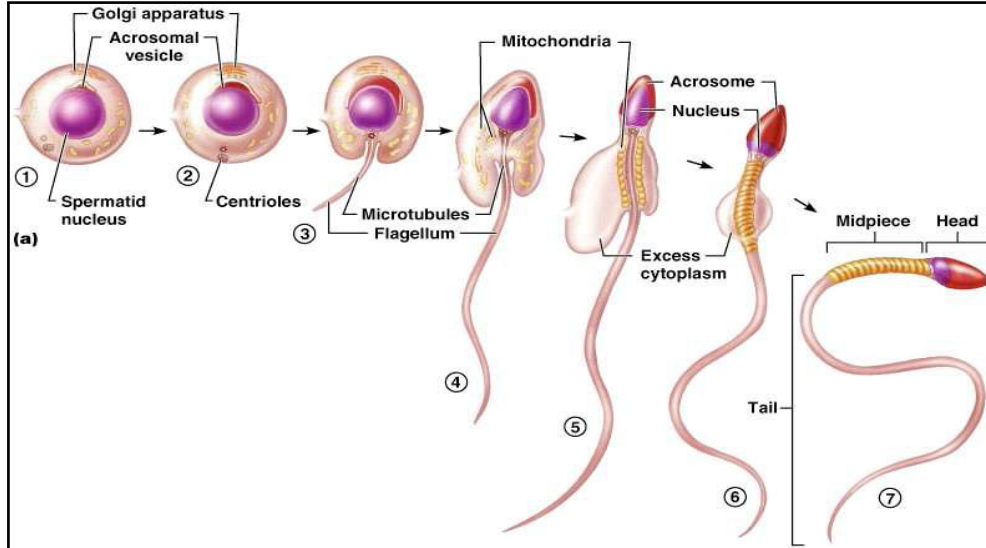
La différenciation de ceux-ci donne finalement le spermatozoïde, au centre du tube la spermiogenèse dure 23 jours [55] (Fig.4). C'est la dernière étape de la spermatogénèse, et comprend des étapes successives suivantes qui peuvent se dérouler de manière synchrone :

- Condensation du noyau : compaction et réduction du noyau, condensation du contenu du noyau à un volume minimal [23] (Fig.5; 1).
- Formation de l'acrosome : Capuchon céphalique contenant des enzymes (lysozyme) qui joue un rôle important dans la pénétration du spermatozoïde dans l'ovule [72] (Fig.5; 2).
- Formation du flagelle : Formation de la queue du spermatozoïde [72] (Fig.5; 3,4).



-Réduction cytoplasmique : Rejet de tous composants cellulaires inutiles du cytoplasme [55] [72] (Fig.5; 5,6).

Les spermatozoïdes sont ensuite libérés dans la lumière du tube séminifère [28] [72] (Fig.5; 7).



**Figure 5.** Les étapes de différenciation de la spermatide en spermatozoïde (D'après E. Blanc *et al.*, 1998).

## II-2- Régulation hormonale de la spermatogenèse

L'installation de la spermatogenèse à la puberté et son maintien dépendent d'un contrôle hormonal hypothalamo-hypophysaire [23] [41] [53].

### II-2.1. Action des gonadotrophines

➤ Chez l'homme, la testostérone joue un rôle plus ou moins important dans le maintien de la spermatogenèse [45] [53] [67].

➤ La FSH en est l'hormone hypophysaire essentielle. Elle est responsable du déclenchement et du maintien de la spermatogenèse, et elle agit sur les tubes séminifères par l'intermédiaire des cellules de Sertoli pour assurer le bon déroulement de la spermatogenèse [67] [75].

➤ La LH joue aussi un rôle indirect, elle agit sur les cellules de Leydig qui produisent la testostérone [67]. Celle-ci, en synergie avec la FSH, entraîne la production par la cellule de Sertoli d'une protéine de liaison appelée ABP (Androgen Binding Protein) [75] [55]. La liaison de l'ABP aux androgènes permet le maintien d'une concentration élevée d'androgènes dans le tube séminifère, nécessaire à la poursuite de la méiose et de la spermatogenèse [55] [67].

Le complexe testostérone-ABP agit sur les spermatocytes en activant la méiose et sur les spermatides en stimulant la spermiogenèse [45] [67].

La testostérone est également responsable de l'apparition des caractères sexuels secondaires et du comportement sexuel.

➤ L'inhibine est une glycoprotéine qui inhibe la sécrétion et la libération de FSH induite par le GnRH [28] [55] [67].

➤ La prolactine joue un rôle favorable sur la stéroïdogénèse. la PRL entraîne une augmentation du nombre de récepteurs leydigiens à LH et la fixation de LH à ses récepteurs [55]. Il s'ensuit un accroissement de la synthèse et de la sécrétion de testostérone [45] [67].

### II-2.2. Rétrocontrôle de la sécrétion des gonadotropines par le testicule.

L'inhibine a une action inhibitrice au niveau hypophysaire et peut-être hypothalamique et réduit aussi la synthèse que la libération de FSH. Si on détruit les cellules de Sertoli, le taux sérique de LH n'est pas modifié alors que celui de FSH s'élève [67]. Si l'on détruit ensuite les cellules de Leydig, le taux de testostérone chute, la LH s'élève au niveau des taux du castré, la FSH également. Donc, le rétrocontrôle de la LH est exclusivement dû à la présence des stéroïdes leydigiens alors que celui de la FSH résulte pour une part des stéroïdes sexuels et, pour l'autre de l'inhibine [23] [53] (Fig.6).

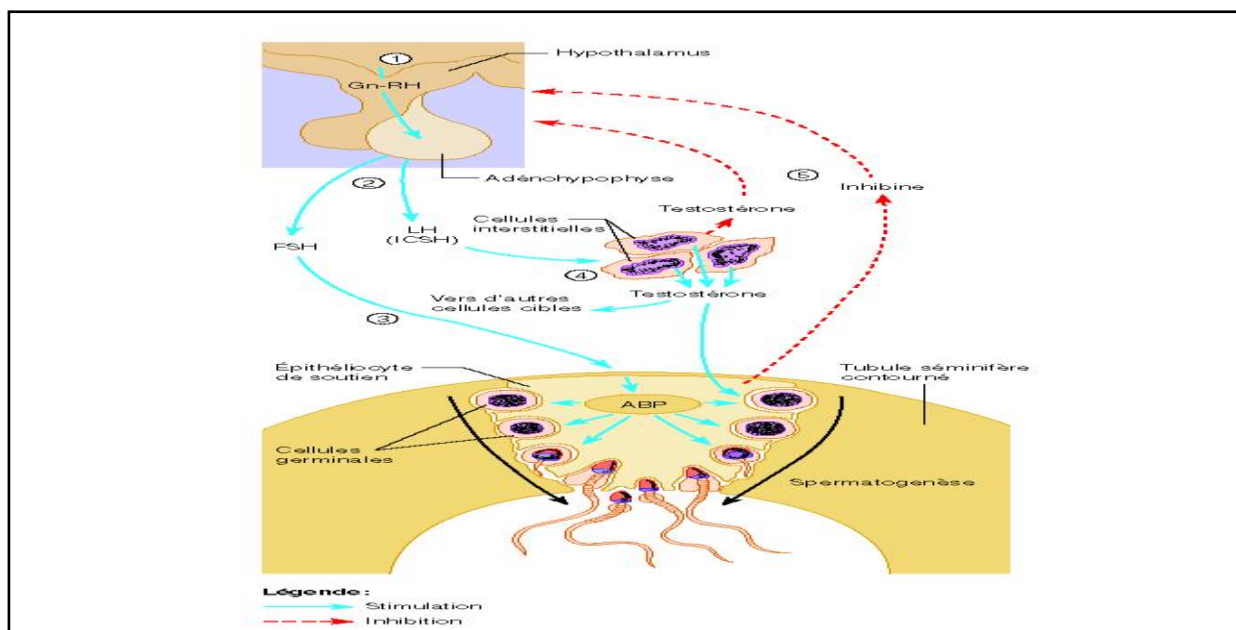
Il existe au niveau du complexe hypothalamo-hypophysaire des cellules ayant des récepteurs pour la testostérone (Cellules cible de l'hormone) [55]. Ces cellules peuvent détecter le taux sanguin de testostérone, au-delà d'une certaine valeur, la concentration de testostérone freine les sécrétions de GnRH, FSH et LH; On parle d'un retro-contrôle inhibiteur [53] (Fig. 6).

### II-3-Ultra structure de spermatozoïde

Le spermatozoïde est une cellule autonome qui mesure 100 à 150  $\mu\text{m}$  de long. Il est constitué de deux parties distinctes : la tête et le flagelle [41] [44] [72].

La tête a un contour très régulier ovalaire avec un grand axe mesurant 5  $\mu\text{m}$  et un petit axe mesurant 3 microns (rapport grand axe / petit axe = 1,66) [44]. La longueur et/ ou la largeur de la tête peuvent être légèrement diminuées sans que celle-ci soit pour autant considérée comme anormale. Le rapport possible grand axe / petit axe peut donc fluctuer entre 1,33 et 2 [72].

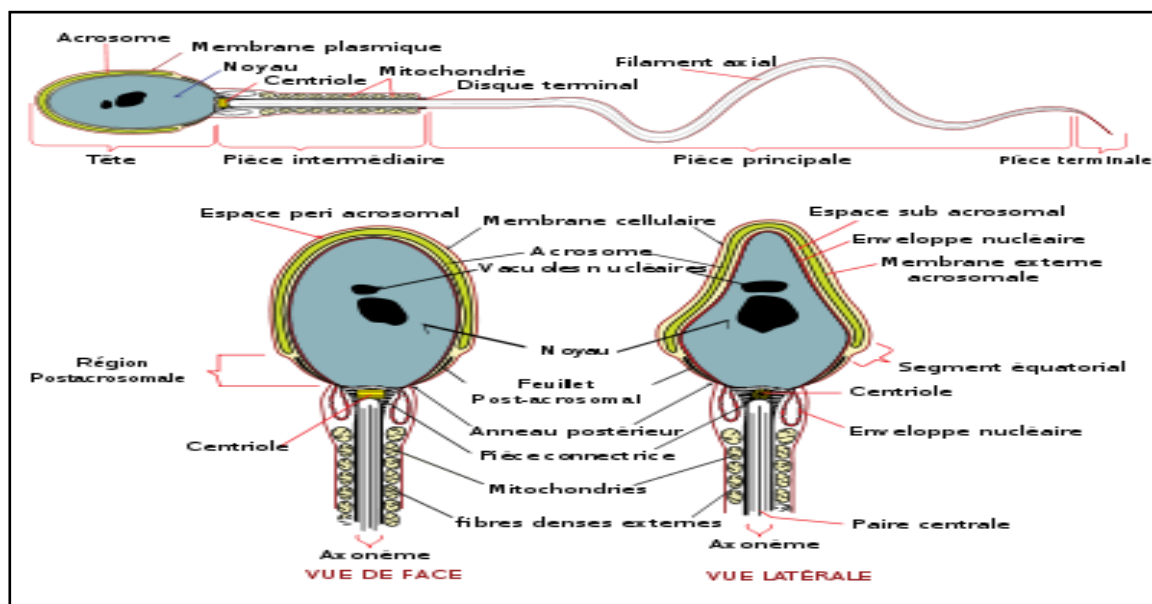
L'acrosome doit couvrir 40 à 70 % de la surface de la tête, avoir un contour régulier et une texture homogène [23] (Fig.7).



**Figure 6.** Régulation hypothalamohypophysaire schématisque des fonctions endocrines et exocrines de l'homme adult.  
(D'après Lindemann, C et *al.*, 1989).

LH :lyteinizing hormone ;FSH :follicule stimulating hormone ;ABP :androgene binding protein .

Le spermatozoïde est également constitué d'un segment intermédiaire situé à la base du renflement [44], son rôle est d'assurer l'énergie (sorte de réservoir de carburant) [47] [75]. La pièce intermédiaire normale peu visible en microscopie conventionnelle mesure de 1,5 à 9 fois la longueur de la tête, a un diamètre de 0,6 à 0,8 micron, son grand axe est dans le prolongement du grand axe de la tête, présente un contour régulier, une texture homogène et un reste cytoplasmique de taille minimale à son niveau n'est pas considéré comme anormal [44] [72] (Fig.7).



**Figure 7.** Ultra structure du spermatozoïde humain. Schéma de la cellule en coupe longitudinale.  
(D'après Jian Pei Ph, 2005).

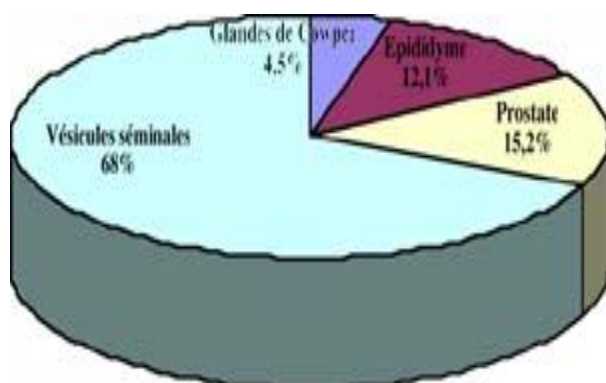
La pièce principale, c'est-à-dire le reste du flagelle, mesure environ 45 micron (soit environ 10 fois la longueur de la tête), à un diamètre de l'ordre de 0,4 à 0,5 micron, est développée avec un contour régulier et un aspect homogène [41] [44].

Le flagelle assure la propulsion de la tête du spermatozoïde et donc sa progression en effectuant des oscillations de droite à gauche à la manière d'un serpent [75] [44]. La mobilité des spermatozoïdes dure entre 12 et 24 heures, pour les trois-quarts d'entre eux [44] (Fig.7).

## II-4-Sperme

Le sperme, ce liquide essentiel à la reproduction humaine et fabriqué par l'appareil génital masculin. Le sperme est un liquide opaque, blanchâtre produit par l'éjaculation, composé de spermatozoïdes en suspension [47], dans le liquide séminal qui est un mélange des sécrétions provenant du testicule, de l'épididyme, des vésicules séminales, de la prostate, ainsi que des glandes de littré et bulbo-urétrales [18] [87].

Le sperme est composé pour 90% de liquide séminal et pour de 10% de spermatozoïdes, c'est un liquide légèrement collant qui sert de milieu protecteur pour les spermatozoïdes. Son PH est alcalin (7,2 à 7,6) ce qui aidera à neutraliser l'acidité naturelle du vagin, favorisant ainsi la progression et la survie des spermatozoïdes dans les organes de la femme. La quantité de sperme émise lors d'une éjaculation est d'environ 2 à 5 ml, chaque millilitre renfermant entre 50 et 130 millions de spermatozoïdes [47] [58]. 15.2 % du volume de l'éjaculat provient des sécrétions prostatiques ; 12.1 % provient des épididymes et les déférents ; 68 % du volume provient des vésicules séminales. Un volume trop faible peut évoquer une éjaculation incomplète [18] [57] (Fig.8).



**Figure 8.** composition de sperme (D'après Matzuk M, 2008). Au moment de l'éjaculation, lors de l'expulsion, les sécrétions des différentes glandes sont expulsées toujours dans le même ordre.

Le sperme contient deux vitamines C et B12, de nombreux sels minéraux comme le calcium, le magnésium, le phosphore, le potassium et le zinc. Le sperme contient aussi deux sucres : fructose et sorbitol, et riche en protéine, en sodium et en cholestérol [47]. Le sperme est un élément corporel qui contient de nombreuses cellules lymphocytaires, cela explique la possibilité de transmission par voie sexuelle de certaines maladies virales; HIV, Hépatite, B et C, et d'autres virus comme CMV [57] [75].

### III/ PHYSIOLOGIE DES SPERMATOZOÏDES

#### III-1-Trajet des spermatozoïdes

Les spermatozoïdes formés se retrouvent dans la lumière des tubes séminifères, mais ils ne sont pas féconds à leur sortie. Pour qu'ils deviennent féconds, 3 étapes sont nécessaires [1]

– un passage au niveau de l'épididyme, ce qui permet la maturation des spermatozoïdes avec des remaniements membranaires au niveau protéique, lipidique et glycoprotéique, avec l'apparition de récepteurs membranaires susceptibles de reconnaître la zone pellucide de l'ovocyte, structures protéiques qui sont ensuite protégées [33]. Les spermatozoïdes acquièrent également un début de mobilité qu'ils n'avaient pas dans les tubes séminifères ; cette acquisition n'est pas leur capacité de mobilité définitive [60]. Des structures de protection sont également mises en place, notamment afin de protéger les récepteurs de l'ovocyte pour qu'ils ne soient pas altérés pendant le voyage. La majeure partie des transformations se font dans l'épididyme [9] [13] [75].

– Le passage par les voies génitales mâles, pendant lequel les sécrétions riches en sucres des glandes annexes (vésicules séminales, prostate et glandes bulbo-urétrales), composées de différentes substances à la base du liquide séminal du sperme, permettent la mise en place des protections, notamment grâce à des replis membranaires dans l'épididyme ; ces sécrétions permettent aussi la nutrition des spermatozoïdes [33] [42].

-L'étape de capacitation des spermatozoïdes, qui se passe dans les voies génitales femelles, l'acquisition du pouvoir fécondant ne se fera que dans les voies génitales femelles et dure environ 2 heures [9] [60]. Un spermatozoïde prélevé dans le testicule n'est jamais fécondant dans les conditions physiologiques. Néanmoins, un spermatozoïde éjaculé ne peut pas immédiatement féconder un ovocyte [33] [61].

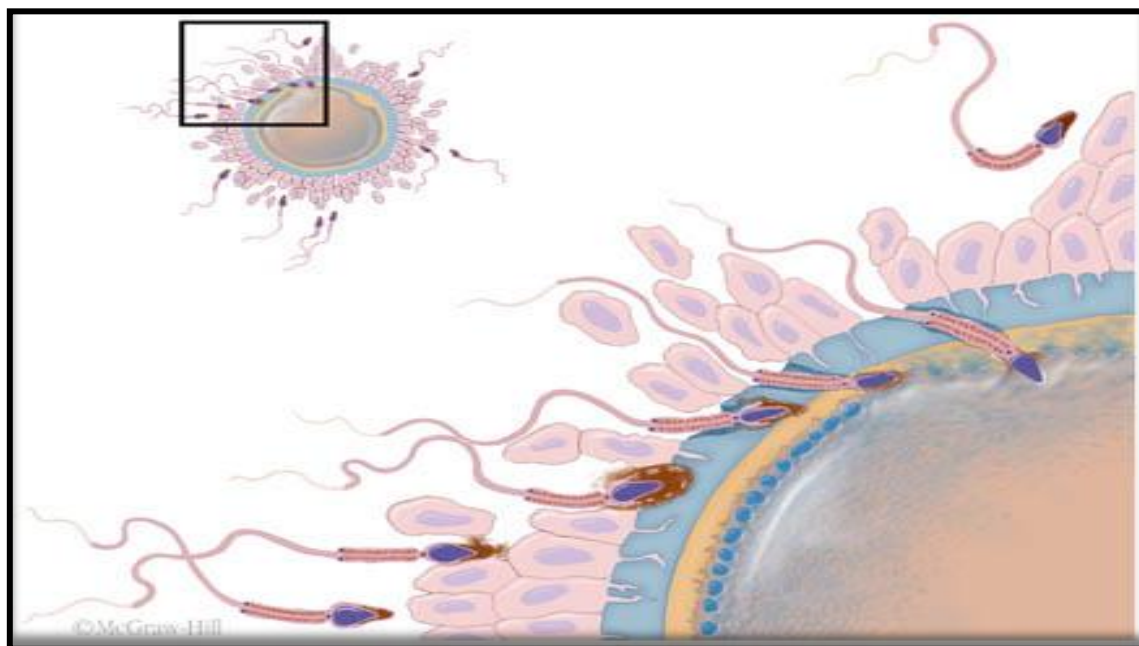
Au cours de leur passage dans l'épididyme, les spermatozoïdes se couvrent de protéines fabriquées par la prostate et la vésicule séminale. Certaines de ces protéines contribuent au blocage temporaire de la fécondance [33]. Le spermatozoïde doit d'abord quitter le liquide séminal avant d'être capable. Cette séparation a lieu au niveau du col utérin, l'élimination du plasma séminal ne suffit pas à la capacitation ; elle nécessite la présence de protéines utérines [48] [61].

Le deuxième changement est un changement de mobilité. L'amplitude et la fréquence des spermatozoïdes capacités augmentent, on les qualifié d'hyper mobiles [61]. La capacitation permet le déroulement des premières étapes de la fécondation, et démasque au niveau de la membrane cytoplasmique du spermatozoïde le récepteur membranaire de la ZP3 [33].

### III-2- LA FECONDATION

Suite à un coït, l'orgasme chez l'homme se manifeste par l'éjaculation de 3 ml de sperme environ dans le vagin [13] [71]. Seuls les éléments mobiles pénètrent dans la glaire cervicale du col utérin, le liquide séminal est laissé au fond de la cavité vaginale où il sera évacué [60] [83].

Les autres sont éliminés par les deux pavillons dans la cavité péritonéale où ils seront phagocytés. Actuellement, on admet que la durée du trajet des spermatozoïdes, de la cavité vaginale jusqu'au tiers externe de l'oviducte, est de 30 minutes en moyenne [13] [48] [83].



**Figure 9.** Les différentes étapes de la fécondation (Flesch F et al. 2001)

Pour que la fécondation réussisse, les deux gamètes doivent se rencontrer à un moment et un état de maturité propice [2] [71] [83]. L'ovocyte doit être entouré des cellules folliculaires et bloqué en métaphase de deuxième division méiotique. Le spermatozoïde doit se trouver dans un état compatible, il doit être mobile afin de pouvoir traverser l'oviducte et être capable d'interagir avec la zone pellucide et rentrer dans l'ovocyte [13] [23]. Il résulte de ces phénomènes une cellule volumineuse : l'œuf fécondé ou zygote, constitué par le cytoplasme de l'ovocyte et par deux éléments nucléaires : le pronucléus femelle et le pronucléus mâle [48].



## IV-L'INFERTILITE

On parle de stérilité lorsqu'un couple reste sans enfant après deux ans de rapports complets, de fréquence suffisamment rapprochée et sans contraception d'aucune sorte [35] [83] [88]. Une stérilité est dite « primaire » lorsqu'il n'y a jamais eu de grossesse [80] [83].

Dans notre pays, il est actuellement admis que 15 à 20 % des couples consulteront à un moment donné pour une difficulté à concevoir. Parmi ces couples, 2/3 obtiendront une grossesse alors que l'autre tiers ne pourra pas réaliser son projet parental par la médicalisation [48].

Dans l'espèce humaine, la fécondabilité, c'est-à-dire la probabilité de concevoir à chaque cycle menstruel, est en moyenne de 25 % par cycle [82]. On connaît actuellement le pourcentage cumulatif de grossesse à l'échelon d'une population en fonction du temps d'exposition [35]. Ainsi, 10 % des couples qui concevront spontanément attendront 18 mois et à 2 ans, 90 % des couples auront conçu. La stérilité reste inexpliquée dans un peu moins de 10 % des cas [69] [80] [82] [83].

Dans un couple stérile, la femme est responsable de l'infécondité dans un tiers des cas et l'homme également dans un tiers des cas [35] [82]. L'homme et la femme sont l'un et l'autre responsables de l'infécondité dans le dernier tiers. Dans l'ensemble, la responsabilité masculine, appréciée par une étude de l'OMS portant sur plus de 6000 couples, est d'environ 50% [69] [80].

### IV-1- BILAN D'UN EXPLORATION DE L'INFERTILITE.

Chez l'homme, la fertilité suppose un parfait fonctionnement de la fabrication des spermatozoïdes (spermatogenèse) et des voies génitales (épididyme, canaux déférents, vésicules séminales, prostate, urètre) [59]. L'évaluation de la fertilité masculine débute par une analyse des constituants du sperme (spermogramme). Une anomalie est considérée comme effective lorsqu'elle est retrouvée à deux reprises sur des spermogrammes faits à distance l'un de l'autre. L'absence totale de spermatozoïdes sur deux spermogrammes successifs définit l'azoospermie [2] [79].

Dans bon nombre de cas, le mécanisme de l'infertilité reste encore incompris, ce qui n'empêche pas que de nombreux moyens thérapeutiques (assistance à la procréation) ont été développés et sont disponibles pour les couples inféconds, sans oublier les problèmes socio-médicaux voire éthiques qui sont associés à la banalisation de ces progrès techniques [88].

#### IV.1-1-Examens biologique de première intention systématique

**A/Le spermogramme :** la réalisation d'un spermogramme, est un des premiers examens de l'exploration de la fertilité du couple [49]. Le spermogramme est informatif lorsqu'il est interprété dans le plus large contexte de l'histoire du patient et de son dossier clinique. Une analyse du sperme

ne peut pas être définie simplement comme normale ou anormale [2] [49] [68]. Il est important pour le clinicien, s'il est bien fait, de connaître les signes cytologiques révélateurs d'une dysfonction testiculaire pour tenter une évaluation approximative de la fertilité masculine [49] [53] [75].

**Normospermie :** Immédiatement après éjaculation, le sperme est déposé dans une étuve à 37° C pour assurer sa liquéfaction (environ 30 min). Au terme de celle-ci, l'examen est réalisé. Un aspect anormal, tel que hémospermie, viscosité forte doit être noté [68].

La normospermie représente le sperme dont les paramètres entrent dans les normes des valeurs de références définies par l'OMS :

- L'aspect : Le sperme est opaque, blanchâtre ou jaune-paille, lactescent. Un sperme brunâtre doit faire rechercher une hémospermie.
- Le volume : le volume normal de l'éjaculat pour 3 jours d'abstinence sexuelle se situe entre (1,5 ou 2 et 6 ml).
- La viscosité du sperme : le liquide séminal coagule rapidement après l'éjaculation puis il se liquéfie secondairement grâce aux enzymes prostatiques.
- Le pH : normal entre 7,2 et 8 (pour certains auteurs : entre 7,5 et 8,5) ; Il est le témoin indirect des sécrétions des glandes annexes (sécrétions prostatiques acides et sécrétions des vésicules séminales basiques) [72].
- La numération des spermatozoïdes : selon les normes de l'OMS (1999), la numération normale est égale ou supérieure 20 millions spermatozoïdes/ml et 40 millions spermatozoïdes par éjaculat. Selon les nouvelles normes de l'OMS-Mai 2010, la numération normale de spermatozoïdes dans l'éjaculat est supérieure à 15 millions/ml et supérieure à 39 millions par la totalité de l'éjaculat.

Si aucun spermatozoïde n'est observé par la technique classique, il est nécessaire de rechercher les spermatozoïdes dans le culot de centrifugation du sperme, avant de conclure ou non à une azoospermie [72].

- La mobilité des spermatozoïdes : selon les normes de l'OMS-1999, dans l'éjaculat, au moins 50 % des spermatozoïdes doivent avoir une mobilité normale (catégories a+b), et aussi, dans l'éjaculat, au moins 25 % des spermatozoïdes doivent avoir une mobilité de catégorie "a"[69] [72].
- Selon les nouvelles normes de l'OMS -Mai 2010, dans l'éjaculat, au moins 30 % des spermatozoïdes doivent avoir une mobilité normale (catégories a+b), et aussi, dans l'éjaculat, au moins 40 % des spermatozoïdes doivent avoir une mobilité de catégorie "a+b+c".
- La vitalité ou le pourcentage des spermatozoïdes vivants à l'éjaculation doit être égale ou supérieur à 75 %.



➤ Le pourcentage de formes anormales des spermatozoïdes doit être inférieur à 50 %. Selon les normes de l'OMS-1999, et en se basant sur la classification de " David " (des anomalies morphologiques des spermatozoïdes), dans l'éjaculât, au moins 30 % des spermatozoïdes doivent avoir une morphologie normale [50] [72].

➤ Présence ou non d'agglutinats de spermatozoïdes : les agglutinats s'expliquent par la présence de spermatozoïdes vivants et porteurs des anticorps anti-spermatozoïdes.

Les agglutinats de spermatozoïdes doivent être différenciés des agrégats de spermatozoïdes, qui sont la réunion et l'accolement de plusieurs spermatozoïdes morts ensemble, qui est un indice de processus immunologique [68] [50]. Si le microscope montre des spermatozoïdes mobiles, mais attachés entre eux par la tête, par la pièce intermédiaire, par le flagelle ou de manière « mixte » (tête-flagelle par exemple), un problème immunologique d'infertilité est soupçonné (à confirmer par d'autres observations) [59] [72].

➤ La numération de globules blancs contenus dans le sperme ; normalement la numération des leucocytes est inférieure à (1 million/ml) [49].

La qualité du sperme varie souvent pour un même individu au cours du temps [2]. Un seul spermogramme anormal n'est pas suffisant pour affirmer une pathologie masculine ; un spermogramme doit donc démontrer 2 ou 3 fois, à un mois d'intervalle, des valeurs semblables pour être considéré comme pathologique. Il sera donc nécessaire d'effectuer d'autres spermogrammes au cours des mois suivants [68] [72].

### **B/ Spermocytogramme**

➤ Examen médical correspondant à l'analyse cytologique et morphologique des spermatozoïdes se pratique sur des cellules fixées sur lame de microscope, après coloration [50] [75].

➤ La classification française de David subdivise les anomalies morphologiques des spermatozoïdes en 7 anomalies de la tête, 2 anomalies de la pièce intermédiaire et en 4 anomalies du flagelle [68] [72].

➤ L'identification, le dénombrement des différentes anomalies et le nombre de spermatozoïdes (SPZ) anormaux permettent de calculer l'index d'anomalies multiples (IAM), la fertilité commence à baisser significativement quand l'IAM > 1,6 [72].

**Tableau 1.** Données actuellement admises pour juger de la qualité du sperme selon OMS (2002)

| Paramètres                           | Valeurs normales<br>(OMS, 2002)        | Valeurs anormales                                                                           | Pathologie                                                                                                                     |
|--------------------------------------|----------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Volume de l'éjaculat</b>          | $\geq 2$ ml                            | 0 ml<br>< 2 ml<br>> 6 ml                                                                    | Aspermie<br>Hypospermie<br>Hyperspermie                                                                                        |
| <b>PH</b>                            | 7,2 à 8                                | -                                                                                           | -                                                                                                                              |
| <b>Numération des spermatozoïdes</b> | $\geq 20$ millions / ml                | 0 / ml<br>< 1 million / ml<br>< 5 millions / ml<br>< 20 millions / ml<br>> 250 million / ml | Azoospermie<br>Oligozoospermie extrême (ou<br>Cryptozoospermie)<br>Oligozoospermie sévère<br>Oligozoospermie<br>Polyzoospermie |
| <b>Mobilité à 1 heure</b>            | $\geq 50$ % de mobilité<br>progressive | < 50 %                                                                                      | Asthénozoospermie                                                                                                              |
| <b>Vitalité à 1 heure</b>            | $\geq 75$ %                            | < 30 %                                                                                      | Nécrozoospermie                                                                                                                |
| <b>Formes typiques</b>               | $\geq 30$ %                            | < 30 %                                                                                      | Tératozoospermie                                                                                                               |
| <b>Leucocytes</b>                    | < 1 million / ml                       | $\geq 1$ million / ml                                                                       | Leucospermie                                                                                                                   |
| <b>Cellules rondes</b>               | < 500 millions / ml                    | -                                                                                           | -                                                                                                                              |
| <b>Agglutinats</b>                   | Absence                                | -                                                                                           | -                                                                                                                              |
| <b>Autres</b>                        | -                                      | Présence de sang<br>Présence de pus<br>Association Oligo-Asthéno-<br>Tératozoospermie       | Hémospémie<br>Pyospermie<br>OATS                                                                                               |

#### IV-1-2-Examens complémentaires de première intention

**A/Biochimie du liquide séminal** : consiste à doser dans le sperme, les substances suivantes: phosphatases acides, citrate, fructose, zinc, L-carnitine libre, alpha-glucosidase [26] [78].

Ces dosages font partie du bilan, de deuxième intention, d'une infertilité masculine, lorsqu'une anomalie a été détectée au spermogramme, elle a surtout un intérêt pour comprendre l'origine des oligospermies (nombre trop faible de spermatozoïdes dans le sperme) et les azoospermies (absence

de spermatozoïdes dans le sperme): anomalie hormonale ou métabolique, obstacle sur les voies génitales masculines, inflammation des glandes,... [43] [48] [78].

Les résultats des dosages précisent l'anomalie détectée au spermogramme ; lorsqu'une obstruction, empêchant la production des spermatozoïdes est suspectée, la chute de certains de ces marqueurs aide à localiser l'obstacle [26] [55].

- les phosphatases acides, le citrate ou le zinc marquent le fonctionnement prostatique. S'ils sont augmentés, ils signent une infection, le pH du sperme est alors souvent basique et le volume élevé. En cas de diminution, on peut évoquer des séquelles infectieuses [19] [78].

**Tableau 2.** Marqueurs de chaque compartiment et leurs concentrations.

(D'après Jezek D et *al.*, 1998).

|                                     | Marqueurs             | Valeurs normales<br>l'OMS -mai 2010         |
|-------------------------------------|-----------------------|---------------------------------------------|
| Marqueurs de<br>l'épididyme         | Carnitine             | 0,2 à 0,6 µmol/l.                           |
|                                     | alpha 1-4 glucosidase | 20 mU                                       |
| Marqueur des vésicules<br>séminales | Fructose              | 1.05 à 5 g/l<br>Soit 67 à 33 mmol/l         |
| Marqueurs prostatiques              | Citrate               | 2 à 8 g/l<br>soit 10.4 à 41.7 mmol/l        |
|                                     | Zinc                  | 80 à 150 microg/ml soit 1.2 à<br>3.8 mmol/l |
|                                     | Phosphatases acides   | 500 à 3500 U/ml                             |

- le fructose est le marqueur des vésicules séminales; il est nul en cas d'agénésie ou d'obstruction basse. Simplement diminué, il peut s'agir de séquelles infectieuses ou d'une atteinte unilatérale [44] [79].

- la carnitine ou l'alpha glucosidase marquent l'épididyme. Effondrés, il s'agit d'une agénésie épididymaire ou d'une obstruction acquise au niveau du corps ou de la queue [48]. En cas d'obstruction plus haute (tête, rete-testis), les marqueurs sont normaux, légèrement diminués ; il peut s'agir de séquelles infectieuses [26] [81].

**B/Dosages hormonaux :** Il sera prescrit d'emblée devant la constatation d'une hypotrophie testiculaire à l'examen clinique, de signes d'hypoandrisme et en cas d'anomalies importantes du spermogramme [72] [86].

**B.1/Hormone Folliculo-Stimulante (FSH):** - Adulte : de 3 à 15 UI/L

Le dosage de cette hormone est utile dans les cas d'azoospermie ou oligospermie sévères, pour savoir si elles sont d'origine sécrétoire [43] [72].

Un taux inférieur peut être le signe d'un hypogonadisme via une insuffisance hypophysaire (insuffisance testiculaire secondaire : le testicule ne reçoit pas le signal lui indiquant de fabriquer les spermatozoïdes) [43] [86].

Pour distinguer un hypogonadisme primaire à une insuffisance secondaire résultant d'un déficit hypothalamo-hypophysaire, on fait un test à la LHRH (on dose la FSH après l'administration de LHRH) [31]. Si, au cours de ce test, la FSH est augmentée, on est face à une insuffisance testiculaire primitive avec trouble de la spermatogenèse [43].

**B.2/Testostérone** circule dans le sang liée à une protéine. Pour compléter le dosage de la testostérone, on peut doser aussi la testostérone libre (qui n'est pas fixée sur la protéine de transport ; c'est cette forme qui agit sur les tissus) [43] [66].

Les insuffisances testiculaires et hypophysaires ont pour conséquences une diminution du taux de testostérone [31] [86]. Certains traitements hormonaux (anti-androgènes, oestrogènes, androgènes de synthèse) sont aussi responsables de la diminution du taux circulant de testostérone [66]. Il vaut mieux éviter l'effort physique avant le prélèvement, car celui-ci augmente le taux de testostérone circulant ; il est conseillé de le faire le matin [50] [86].

**B.3/La LH** stimule la production de testostérone par les cellules de Leydig. Qui va ensuite, d'une part agir sur les cellules de Sertoli qui forment la barrière hémato-testiculaire des tubes séminifères [50] [66]. Ces cellules de Sertoli sont des cellules somatiques qui jouent un rôle central dans la régulation de la spermatogenèse [86]. D'autre part, la testostérone va agir au niveau hypothalamique et hypophysaire pour contrôler la sécrétion hypophysaire de la LH (rétro-action ou "feed-back") [31].

**C/La spermoculture :** Les antécédents d'infection de l'appareil génital (épididymites, orchites, prostatites, infections urinaires, urétrites...) représentent 20 à 25% des cas d'infertilité masculine. Ce chiffre est vraisemblablement sous évalué car la pathologie asymptomatique à Chlamydiae trachomatis représente 40% des urétrites et des épididymites de l'adulte [14] [42].

Des signes indirects d'infection peuvent être détectés sur les examens classiques de spermiologie : modification du volume et du pH du sperme [42], de la mobilité et de la vitalité des spermatozoïdes,

présence d'anticorps antispermatozoïdes de surface de type IgA et IgG, présence de leucocytes objectivée par le dosage de l'lactase dans le sperme [14] [56].

La spermoculture est positive lorsqu'on met en évidence une bactérie pathogène avec un nombre de colonies égale ou supérieur à  $10^3$  [14]. Une recherche du mycoplasme et de la chlamydia trachomatis est effectuée systématiquement par des cultures spécifiques. Celle-ci se fera au laboratoire de bactériologie puisque le laboratoire de spermiologie, habituellement ne réalise pas ces examens, La mise en culture doit être faite immédiatement après liquéfaction du sperme sur des milieux de culture pour recherche de germes aérobies et anaérobies [42] [56].

Une spermoculture négative ne garantit pas l'absence d'infection surtout en présence d'une leucocytose [56].

## V. ANOMALIES DE SPERME

Normalement, un mâle en bonne santé d'adulte éjacule une demi- à une cuillerée à café de sperme pendant l'orgasme, mais la quantité change considérablement [50].

L'absence d'éjaculation est le résultat d'une perturbation du fonctionnement des hormones au sein de l'organisme. Plus rarement l'anéjaculation, c'est-à-dire l'absence de fait suite à une perturbation psychoaffective telle qu'une anxiété, une nervosité excessive. Enfin certains médicaments, comme par exemple les antihypertenseurs, peuvent également engendrer une absence d'éjaculation [36].

Devant une aspermie il faut envisager de faire une recherche de sperme dans les urines pour diagnostiquer une éventuelle éjaculation rétrograde [24] [50]. Chez les hommes avec l'éjaculation rétrograde, la quantité de sperme est diminuée nettement ou il y a une apogée sèche (orgasme sans sperme) [27] [36].

Dans l'éjaculation rétrograde, tous les composants du réflexe éjaculatoire sont présents, sauf que au cours de l'acte sexuel, le liquide séminal s'accumule au niveau de la portion prostatique du l'uretère. La pression exercée par l'accumulation du liquide séminal finit par provoquer l'ouverture du sphincter striée et l'éjaculation du sperme en dehors de la verge [48] [57]. Une commande inversée du sphincter de la vessie avec une ouverture du sphincter lisse avant le sphincter strié entraîne une éjaculation partielle ou totale du liquide séminale dans la vessie [27].

La présence de spermatozoïdes dans les urines émises après échec d'une tentative de recueil de sperme ou une relation sexuelle aspermique ou hypospermiques permet de faire le diagnostic. L'éjaculation rétrograde il s'agit d'un trouble survenant le plus souvent à la suite d'une intervention chirurgicale, essentiellement l'ablation de la prostate. Ou au cours d'une maladie neurologique [36].

### V-1-Anomalies du Nombre des Spermatozoïdes

- **Hyospermie** : volume total de l'éjaculat inférieur à 2 ml (ou dans certains références : volume du sperme entre 0,5 et 2 ml et pour d'autres, inférieur à 1,5 ml) ; elle peut être due à un déficit de sécrétion au niveau des glandes annexes (prostate, vésicules séminales).
- L'hypogonadisme caractérisée par le déficit en testostérone entraîne une azospermie avec hyospermie ou aspermie [14] [41].
- Le volume du sperme diminue progressivement avec l'âge et sans altération des autres paramètres [71].

➤ L'absence de spermatozoïdes au spermogramme qui définit l'azospermie peut avoir deux séries de causes [43] [57] [71].

- L'azoospermie sécrétoire [ou azoospermie non obstructive (ANO)] si l'anomalie est une absence totale de la spermatogenèse qui se déroule dans le testicule, au niveau des tubes séminifères, l'origine de l'altération de la spermatogenèse peut être soit une affection testiculaire primitive congénitale ou acquise ; soit une insuffisance hypothalamo-hypophysaire acquise congénitale [41] [50].

- L'azoospermie est excrétoire [ou azoospermie obstructive (AO)] si la spermatogenèse est conservée mais les spermatozoïdes ne sont pas excrétés dans le sperme en raison de la présence d'un obstacle au niveau des voies excrétoires (épididymes, canaux déférents, canaux éjaculateurs), les lésions peuvent être acquises ou congénitales [comme l'absence bilatérale des canaux déférents (ABCD)] [41] [57]. La distinction entre azoospermie excrétoire et sécrétoire est importante car elle peut conduire à des prises en charge thérapeutiques différentes [36] [71].

- La cryptozoospermie est définie par l'absence de spermatozoïdes observé à l'examen microscopique direct d'une goutte de sperme mais à l'opposé de l'azoospermie [40], une recherche approfondie permet d'en retrouver quelques uns (moins de 100 000 spermatozoïdes dans la totalité de l'éjaculat) [41] [57].

La cryptozoospermie est sévère quand le nombre de spermatozoïdes est inférieur à 10 000 spermatozoïdes dans l'éjaculat [57].

La cryptozoospermie est modérée quand le nombre de spermatozoïdes est situé entre 10 000 et moins de 100 000 spermatozoïdes dans l'éjaculat [44].

- L'oligozoospermie se définit par une diminution du nombre de spermatozoïdes dans l'éjaculat ( $< 50.10^6$ /éjaculat) [50]. C'est le cas le plus fréquent de l'infertilité masculine et c'est un problème difficile à résoudre. Les oligozoospermies inférieures à 1 million peuvent être rattachées aux azoospermies et explorées de la même façon que celles-ci [40] [44] [57].

L'oligozoospermie est rarement isolée et souvent associée avec une asthénie (anomalie de la mobilité) et/ou une tératozoospermie (formes anormales) [49]. Cette oligozoospermie peut avoir plusieurs étiologies : - origine testiculaire sécrétoire ou excrétoire (obstruction unilatérale sur le tractus), - un problème d'éjaculation (incomplète ou rétrograde), - La présence de bactéries, d'infection ou d'inflammation du tractus accompagnée ou non de leucospermie, [42] et - la présence d'auto-anticorps dans le plasma séminal ou sur la membrane plasmique des spermatozoïdes [19] [57] [50].



**V-2-Troubles de la mobilité : Asthenozoospermie.**

- Se caractérise par une chute de la mobilité des spermatozoïdes. Une mobilité est considérée comme normale au-delà de 50 % spermatozoïdes mobiles une heure après l'éjaculation et moins de 30 % de spermatozoïdes mobiles 3 heures après l'éjaculation [19] [32] [70].

- Asthénozoospermie primaire : moins de 50 % de spermatozoïdes sont mobiles (mobilité totale) à la première heure après l'éjaculation [32].

- Asthénozoospermie secondaire : chute de mobilité comparativement à la première heure à la quatrième heure après éjaculation :

Dans les cas d'asthénozoospermie plus ou moins importante, on peut évoquer plusieurs étiologies : un phénomène infectieux et/ou une absence de fructose [32], l'auto-immunisation par anticorps ou une dyskynésie flagellaire c'est-à-dire une anomalie des structures flagellaires de l'axonème ou des structures péri-axonémales mises en évidence par l'étude ultrastructurale du flagelle du spermatozoïde [36] [70].

**V-3-Anomalies morphologiques des spermatozoïdes :**

- Tératozoospermie : (ou moins de 30 % pour certains auteurs et l'O.M.S. 1999) des spermatozoïdes sont normaux.

Il existe des relations significatives entre la fréquence des anomalies de gamètes et les anomalies de certains tests fonctionnels: la mobilité, le test de pénétration dans la glaire, le test de fixation sur la zone pellucide de l'ovocyte [46] [70]. Le taux de clivage en fécondation in vitro est nettement plus faible en cas de tératozoospermie sévère. La mobilité et la tératozoospermie sont des facteurs déterminants dans l'expression du pouvoir fécondant du sperme [36] [70] [84].

**V-4-L'infection**

Selon les auteurs, la concentration seuil peut varier de  $10^3$  à  $10^6$ . Il semble toutefois qu'une valeur supérieure à  $10^5$  soit considérée comme pathologique [71]. Les leucocytes ont surtout une valeur indicative. Leur présence doit faire soupçonner une infection mais aussi un processus inflammatoire (lithiase prostatique, séquelle d'infection, abstinence trop longue) [35].

**V-5-Autoimmunisation anti-spermatozoïde**

Cette auto-immunisation peut être déclenchée par des processus traumatiques ou infectieux des organes génitaux ayant entraîné une réabsorption massive de cet antigène habituellement isolé de la circulation générale. Mais souvent, dans plus de 50 % des cas, il n'y a pas d'antécédent

pathologique ni d'anomalie génitale et seule l'agglutination spontanée des spermatozoïdes dans l'éjaculat évoque cette auto-immunisation [37] [84].

Les signes biologiques d'appel au niveau du spermogramme seront l'auto-agglutination quelquefois associée à des altérations de la mobilité et de la vitalité [84].

### V-6-Autres anomalies

- **Hyperspermie** : volume total de l'éjaculat supérieur à 6 ml ; elle évoque la présence de lésions infectieuses des glandes annexes et en particulier, les vésicules séminales ; elle peut être due aussi à une abstinence sexuelle trop longue [19] [70].
- **Polyspermie ou polyzoospermie** : numération de spermatozoïdes supérieure à 250 millions par ml (ou 200 millions par ml pour certains auteurs) [57].
- **L'hémospERMie et la pyospermie** : traduisent respectivement la détection de sang et de pus dans l'éjaculat ; souvent due à des causes organiques tel que les infections, les traumatismes et les malformations ou idiopathiques dans 33% des cas, sa cause est généralement bénigne [19].
- **Nécrozoospermie** : pas de spermatozoïdes vivants à l'éjaculation ; il faut rechercher un problème infectieux ou oxydatif [19] [57].

Certains auteurs classent la nécrozoospermie en deux catégories :

- **La nécrozoospermie partielle** : dans l'éjaculat, plus de 40 % des spermatozoïdes sont morts (OMS -1999) ou plus de 42 % des spermatozoïdes sont morts (OMS 2010).
- **La nécrozoospermie totale** : pas de spermatozoïdes vivants dans l'ensemble de l'éjaculat.

### V-7-Causes de stérilité masculine

En plus de toute affection pathologique, plusieurs facteurs peuvent influencer négativement la fertilité masculine et être responsables d'une hypofertilité de degré variable [57].

✓ **Age des futurs parents** : Chez l'homme, l'âge intervient de façon moins importante que chez la femme, l'altération des spermatozoïdes ne commençant à s'observer qu'à partir de 45 ans, avec un risque accru d'anomalies chromosomiques au-delà de 55 ans [24] [58].

- **Hypogonadismes hypogonadotropes** : Il s'agit d'une insuffisance de fonctionnement des testicules, due à un trouble de leur contrôle hormonal [24] [65].
- **Déficits congénitaux de la sécrétion de l'hormone LHRH (GnRH)** qui est normalement fabriquée par l'hypothalamus [24] [65].
- **Facteurs psychiques et nutritionnels** [46] [58].

- Maladies générales chroniques [37].

✓ **Insuffisance testiculaire primaire hyper ou normogonadotrope** : Il s'agit d'une anomalie de la production des spermatozoïdes au niveau des testicules [27].

- Anomalies chromosomiques (syndrome de Klinefelter), maladie caractérisée par la présence de chromosomes X supplémentaires chez certains hommes. Ces hommes présentent une pilosité sexuelle masculine plus discrète, des petits testicules et, parfois, une gynécomastie (développement de seins) [65].

- Tumeurs testiculaires (tumeurs bénignes et cancers) [24] [57].
- Cryptorchidie (anomalie de position du testicule qui n'est pas au fond de la bourse) [40].
- infection virale des testicules (orchite), notamment par le virus des oreillons [25] [37] [42].

Une atrophie bilatérale des testicules s'observe dans 10% des orchites ourliennes (virus des oreillons) [24] [65].

- Torsion du cordon spermatique entraînant une nécrose ischémique testiculaire (trouble de la vascularisation du testicule) [24] [37].

- Varicocèle (dilatation de veines autour du testicule) [27] [40].
- Traumatismes testiculaires (coup de pied, accident de vélo ou de voiture) [40].
- Infection généralisée virale ou bactérienne, états fébriles [25] [37].
- Antécédent de chirurgie (hernie inguinale, torsion du cordon spermatique) [24] [27] [47].
- Exposition professionnelle et environnementale à des toxiques : insecticides, métaux lourds, herbicides (agents anti spermatogéniques) [27].

- Exposition professionnelle à la chaleur (sidérurgiste, métallurgiste, boulanger) [27] [42].
- Exposition professionnelle aux radiations ionisantes [27] [57].
- Alcool : En plus de réduire la libido, et donc la fréquence des rapports sexuels, une forte consommation d'alcool (plus de 2 verres par jour) chez l'homme, comme chez la femme, semble allonger notablement le délai de conception du couple [47] [58] [65].

- Les drogues [24] [47].
- Tabac : En plus d'allonger le délai de conception, il réduirait la quantité et la qualité des spermatozoïdes [65] [47].

✓ **Causes obstructives par anomalies du transport des spermatozoïdes** : Les canaux qui acheminent les spermatozoïdes des testicules vers l'urètre peuvent être obstrués (bouchés) ou absents [24] [40].

- Malformations congénitales de la voie séminale : absence des canaux déférents associée à des anomalies rénales [24] [47].

✓ **Pathologie prostato-vésiculaire** : infections de la prostate et des vésicules séminales (épididymite, déférentite, vésiculite, prostatite, urétrite) [25] [27] [46] [65].

- Tumeurs de la prostate (bénigne ou maligne) [65].

✓ **Anomalies de la structure ou de la mobilité des spermatozoïdes.**

- Anomalies spécifiques de la tête spermatique (globozoospermie, microcéphalie) [24] [27].
- Anomalies structurales du flagelle (syndrome des cils immobiles) [40] [81].

✓ **Troubles du comportement sexuel.**

- Troubles de l'érection (impuissance) [24] [27] [65].
- Anéjaculations : éjaculation rétrograde (absence d'éjaculat, existence d'un orgasme, présence de spermatozoïdes dans les urines) [57].

✓ **Facteurs chimiques, physiques et risques professionnels :**

- **Métaux lourds** : tels que:

- le plomb (poterie, céramique, peinture, pesticides, plomberie, soudure...) [40]
- le mercure (dentisterie, céramique, piles, pesticides, photographie, soudure...) [57] [65].
- le manganèse [57].

- **Gaz anesthésiques** : sont responsables d'une augmentation du risque d'anomalies morphologiques des spermatozoïdes chez le personnel de salles d'opérations, de cliniques dentaires et vétérinaires [24] [40].

- **Chaleur** : (boulangerie, blanchisserie, textile, fonderies, position assise de longue durée des chauffeurs routiers), diminue considérablement la quantité des spermatozoïdes [46] [65]. Il est conseillé d'éviter les sources de chaleur trop importantes (bains chauds), les positions assises de longue durée (chauffeurs routiers) et enfin, les caleçons ou pantalons trop serrés qui gardent les spermatozoïdes au chaud et les altèrent [24] [46] [58].

✓ **Causes idiopathiques**

Une cause à l'infertilité masculine est retrouvée dans 50 à 60 % des cas à la suite de tous les examens pratiqués [65]. Lorsqu'aucune cause n'est retrouvée on parle d'infertilité masculine « idiopathique ». Dans ces cas, les causes de l'anomalie spermatique restent inconnues [24] [27].

**Partie**

**Pratique**

## I.1. CAS CLINIQUES

Sur une période de 10 mois (de décembre 2010 à septembre 2011), nous avons effectué dans le service d'urologie du CHU de Batna et, les Services d'urologie et Gynéco-Obstétrique de la clinique médico-chirurgicale les rosiers, Batna. Une étude prospective sur les facteurs de risque qui touchent la fertilité masculine dans la région de Batna, des couples vus en consultation par les médecins de ces services pour des problèmes d'infécondité. Les hommes étudiés avaient un statut de fertilité variable, et pour un objectif secondaire de cette étude est de confronter les résultats observés à ceux observés chez autres régions algériennes.

Nous avons considéré comme atteint de stérilité, tout sujet n'ayant jamais été l'auteur d'une grossesse (stérilité primaire) ou n'étant pas l'auteur de nouvelles grossesses (stérilité secondaire). Tous les hommes ont bénéficié d'un bilan volontairement univoque et standardisé comprenant un interrogatoire, un examen clinique complet, un bilan hormonal exhaustif.

Le spermogramme avec spermocytogramme ont été effectués dans le Laboratoire d'histologie et la Biologie de Reproduction d'une clinique privée (D<sup>r</sup> OUADFEL. Batna), ainsi que les dosages biochimiques et le bilan hormonal dans le Laboratoire de Biochimie centrale du CHU de Batna, avec un spermoculture dans le Laboratoire de Microbiologie (clinique ibn roched). L'électrophorèse des protéines séminales au niveau laboratoire Générale de Sanatorium de Batna.

### ➤ **L'interrogatoire se fait d'après (Letur-Könirsch H, 1999)**

C'est une étape fondamentale du diagnostic car l'interrogatoire fournit la moitié des éléments d'orientation lorsqu'il est conduit avec attention [17] [10].

L'interrogatoire contient le numéro de patient, l'âge, et l'adresse. et précise les caractéristiques de l'infertilité que sont sa durée [52], la notion de grossesses antérieures avec la partenaire actuelle ou d'autres partenaires [11] [16] [52], les traitements antérieurs déjà entrepris, un éventuel bilan de la partenaire et les traitements qui lui ont été appliqués [8] [10] [52].

Les habitudes sexuelles doivent être précisées, en particulier l'absence d'impuissance, de coudure de la verge et la qualité des érections [52], l'utilisation habituelle de lubrifiants pouvant être toxiques pour les spermatozoïdes. La période des rapports en fonctions des phases du cycle, la fréquence des rapports (ex : profession à absences régulières), la fréquence des masturbations [11].

(Ces renseignements sont aisément obtenus si l'interrogatoire est mené avec tact et en expliquant le pourquoi des questions) [10] [52].

Dans les antécédents, on recherchera la notion de cryptorchidie et d'orchidopexie dans l'enfance, le type de traitement appliqué et à quel âge, une cure de hernie, une intervention sur le col vésical, une torsion du testicule ou un traumatisme, les caractéristiques de la puberté [52] [16] [8].

On recherchera un diabète, une sclérose multiple, une orchidectomie, un antécédent de cancer, de chirurgie rétropéritonéale ou pelvienne, une endoscopie urétrale ou vésico-prostatique, un antécédent de sondage urinaire, la notion d'un traumatisme du bassin.

Les antécédents infectieux seront précisés : infections virales, oreillons surtout après la puberté, rubéole, variole, tuberculose, ..., maladies vénériennes (gonocoques, chlamydiae, ...).

Les traitements médicaux seront recensés, de même que l'exposition à des toxiques (pesticides, chimiothérapie, cocaïne, tabac, ...) [52], l'exposition à la chaleur (bains chauds, sauna, professions exposées) ou aux rayons [16].

On recherchera dans la famille la notion d'autres cas de stérilité déjà documentée, de fibrose kystique (mucoviscidose) de déficit en récepteurs aux androgènes [17] [8].

## **I.2. TECHNIQUES D'ANALYSE DE SPERME**

### **I.2.1. SPERMOGRAMME**

#### **1.1. Conditions de recueil de sperme**

Le sperme est recueilli au niveau de laboratoire, par masturbation, dans un réceptacle stérile. Il est indispensable d'examiner une éjaculation recueillie en totalité, le sperme étant composé des sécrétions successives de la prostate, des épидидymes et des vésicules séminales, dont le mélange ne s'effectue qu'au moment de l'émission. Une abstinence sexuelle de 3 à 5 jours est conseillée avant le recueil, ce délai influence le volume et la numération.

Divers facteurs externes peuvent modifier les résultats, le spermogramme donc est interprété en fonction des conditions du recueil et de tout ce qui a pu arriver au patient les 3 mois précédents.

Lors de l'éjaculation, le sperme coagule pour se liquéfier progressivement à température de 37°C, généralement en une vingtaine de minutes et l'examen est débuté à partir de ce moment.

#### **1.2. Paramètres mesurés dans le spermogramme:**

- **Examen macroscopique:** l'examen macroscopique permet d'évaluer un certain nombre de paramètres selon le protocole suivant :

- **Liquéfaction:** on met le sperme recueilli dans l'étuve pendant une période de 15 à 30 min. Il prend normalement moins de 20 minutes pour l'échantillon de passer d'une épaisseur de gel en un liquide.

➤ **Le volume:** il est mesuré de façon précise à l'aide d'une pipette calibrée; il est normalement compris entre 2 à 6 ml. Un volume trop faible peut évoquer une éjaculation incomplète, et en cas d'absence totale d'éjaculat on note une aspermie.

➤ **Le pH:** il est mesuré à l'aide d'un papier indicateur de pH sur lequel on dépose une goutte de sperme; attendre 20-30 secondes (la couleur doit être uniforme) la couleur de la zone imprégnée est comparée à une échelle de lecture.

➤ **La viscosité:** est évaluée semi quantitativement en observant la manière dont le sperme s'écoule à l'extrémité de la pipette.

• **Analyse microscopique:** L'analyse microscopique est réalisée, après préparation des échantillons en fonction du paramètre à apprécier, grâce à une observation sous un microscope photonique de type Leica, aux grossissements 40x.

➤ **La vitalité (pourcentage de spermatozoïdes vivants):** la méthode d'évaluation de la vitalité des spermatozoïdes est basée sur l'exclusion d'un colorant vital par les spermatozoïdes vivants, à l'opposé le colorant pénètre les spermatozoïdes morts à membrane altérée.

Elle est évaluée par des colorants comme l'éosine-nigrosine; une goutte de sperme est ajoutée à 2 gouttes d'éosine à 1% et après 30 sec, on ajoute 3 gouttes de nigrosine à 10% (dans le sérum physiologique). Un frottis est réalisé, on compte 100 spermatozoïdes sur différents champs du frottis et on évalue le pourcentage de ceux qui sont morts " roses " ou vivants " blancs ".

#### **Réalisation d'un frottis:**

On dépose 10 µl de sperme bien homogénéisée à l'extrémité d'une lame, puis on étale cette goutte en s'aidant d'une autre lame inclinée à 45° par rapport à la première on obtient dans ces conditions un frottis peu épais limitant de possible artefacts de coloration du fond de la préparation et offrant un contraste optimal des spermatozoïdes après coloration .

L'éosine-nigrosine est préparée à l'emploi pour préparer la solution de l'éosine-nigrosine :

**1-l'éosine:** dans 100 ml de sérum physiologique (NaCl 9 ‰) on ajoute 1g d'éosine yellowish, bien mélangé puis filtrer.

**2-Nigrosine:** dans 100 ml de sérum physiologique (NaCl 9 ‰) on ajoute 10 g de nigrosine, bien mélangé jusqu'à disparition des cristaux puis filtrer.

➤ **Mobilité des spermatozoïdes:** elle est appréciée à l'examen direct sur une goutte de sperme (0,1 ml) entre lame et lamelle (22 x 22 mm), le poids de la lamelle étale l'échantillon permettant une observation optimale à 37°C au faible grossissement, puis au fort grossissement sur 5 à 10 champs choisis au hasard.



La durée et l'intensité de la mobilité sont immédiatement déterminées après dilution à intervalle de 5 min jusqu'à l'immobilisation totale des spermatozoïdes. Cette mobilité est estimée selon l'OMS (1999), en 4 indices d'intensité :

**Grade A** (rapide progressive), spermatozoïdes nagent et avancent rapide en ligne droite mouvement fléchant sup a  $25\mu\text{m/s}$  à  $37^{\circ}\text{C}$ .

**Grade B** (lente et progressive), des spermatozoïdes nagent en avant, mais soit en une ligne courbe ou tordu, ou lentement (motilité linéaire ou non linéaire).

**Grade C** (non progressive), spermatozoïdes déplacent leurs queues, mais ne pas aller de l'avant (motilité local uniquement).

**Grade D** (immobiles), spermatozoïdes ne se déplacent pas du tout.

➤ **La numération:** Elle est appréciée par comptage des spermatozoïdes dans un hémocytomètre (cellules de Mallassiez ou autre), après immobilisation des spermatozoïdes dans une solution de Ringer formolée à 1%. La dilution se fait au minimum, 50  $\mu\text{l}$  du sperme liquéfié bien homogénéise pour une d'élution de  $1/20^{\text{eme}}$  (50  $\mu\text{l}$  de sperme pour 950  $\mu\text{l}$  de diluant).

Bien homogénéiser le mélange (sperme+ diluant) et l'introduire 10  $\mu\text{l}$  par capillarite dans chacune des chambres de la cellule, et placer la cellule en chambre humide pendant 5 min pour permettre l'immobilisation totale et la sédimentation des spermatozoïdes. Seul les spermatozoïdes entiers sont comptés (tête + flagelle).

**Préparation de la Solution de Ringer:** Dans une fiole qui contient 1l d'eau distillée on mélange 0.300g de  $\text{CaCl}_2$ , 0.250g de  $\text{KCl}$  puis 6.5 g  $\text{NaCl}$  et 30,2 de  $\text{NaHCO}_3$ . Après l'obtention d'une solution homogène, on laisser reposer 24 heures, puis on filtre et on mesure le pH de la solution et on ajuste à environ 6,7-6,8, si nécessaire avec une solution d'acide citrique concentrée. La pression osmotique de la solution est d'environ 310 milliosmoles. La solution peut être conservée à  $+4^{\circ}\text{C}$ , le PH étant contrôlé mensuellement.

**Calcul de la concentration:** on effectue le calcul de la concentration des spermatozoïdes, on utilise l'équation suivante.

➤ Cas de faible concentration prévisible, comptage de toute la chambre;

Si **x** le nombre de spermatozoïdes comptés;

$$\text{Concentration} = X \times 20 (\text{dilution}) \times 1000 (\text{v en } \text{cm}^3 \text{ ml}) = X \times 20000/\text{ml}.$$

➤ Cas de forte concentration prévisible, on fait le comptage de 2 carreaux non consécutifs;

Si **z** le nombre de spermatozoïdes comptés;

$$\text{Concentration} = Z \times 20 (\text{dilution}) \times 50000 (\text{v en } \text{cm}^3 \text{ ml}) = Z \times 10^6/\text{ml}.$$

Toutes les concentrations sont exprimées en millions\* $10^6/\text{ml}$ .

➤ **Les cellules rondes** : le principe de la détermination de la concentration en cellule rondes est le même que celui de la concentration des spermatozoïdes.

Nous avons compté toutes les cellules autres que les spermatozoïdes qui ayant sédimenté dans la chambre de la cellule de mallassiez avec le même principe de comptage et de calcul pour déterminer la concentration en million /ml. Ce compte est fait dans le même temps que celui des spermatozoïdes.

➤ **Agglutination** : est définie par l'attachement de spermatozoïdes mobiles entre eux, l'agglutination est évaluée sur au moins 10 champs pris au hasard et le degré d'agglutination est notée de 1-3 croix, ainsi que le type d'agglutination exp : par la tête, la pièce intermédiaire ou le flagelle ou de manière mixte.

### I.2.2. L'analyse morphologique des spermatozoïdes " SPERMOCYTOGRAMME "

Est effectuée sur un frottis après fixation et coloration de Papanicolaou. Une classification à entrées multiples est nécessaire pour tenir compte de l'existence de plusieurs anomalies sur le même spermatozoïde (David et al, 1975). La classification française de David répartit les anomalies en 15 groupes différents dont 7 anomalies de la tête, 3 anomalies de la pièce intermédiaire et 5 anomalies flagellaires.

**2.2. Technique** : La coloration est faite par la coloration de Papanicolaou (prêt à l'emploi) modifiée cette technique est largement employée pour le diagnostic cytologique de routine et donne de bons résultats pour l'évaluation de la morphologie des spermatozoïdes et les cellules germinales. Le frottis a été séché à l'air puis fixé pendant 5-15 min dans une solution contenant de l'alcool à 95% et de l'éther à parts égales et puis la coloration selon les étapes (voir annexe 1).

### 2.3. Lecture :

La lecture des lames colorées est faite à l'objectif x 100 à immersion. La lecture a été faite en queue de frottis sur des champs microscopiques jointifs avec balayage de la lame et des champs si l'échantillon est très concentré, on ne doit pas lire sur un seul champ.

### 2.4. Anomalies de la morphologie de spermatozoïdes

#### ➤ Les anomalies de la tête

- **L'allongé** : ce spz ne garde pas les proportions classiques. La longueur dépasse largement le double du diamètre, elle dépasse fréquemment les 5 µm.

- **Tête amincie** : le petit axe a une longueur plus petite que la normale et le grand axe présente une longueur normale.

- **Le macrocéphale** : par sa forme, il ne se distingue pas d'un spz normal. Tout en gardant la forme ovale typique, sa longueur dépasse 5 µm.

- **Le microcéphale** : sa forme est normale, mais sa longueur est inférieure à 3  $\mu\text{m}$ .
- **Acrosome absent ou anormale** : On classe dans cette catégorie toute anomalie de taille, de contour ou de texture de la région acrosomique ainsi que l'absence d'acrosome.
- **Têtes multiples** : Il y a plus d'une tête par spermatozoïde, elles peuvent être accolées et occuper une surface totale similaire à celle d'une seule tête ou bien être parfaitement dissociées.
- **Base anormale** : toutes les anomalies de contour et de texture de la région post-acrosomique

➤ **Les anomalies de la pièce intermédiaire**

- **Le reste cytoplasmique** : il s'agit du cytoplasme attaché à la pièce intermédiaire (plus rarement à la tête). La taille du cytoplasme doit être au moins aussi grande que la moitié de la tête, ou de plus grande taille.
- **Pièce intermédiaire grêle** : le diamètre de la pièce intermédiaire est égal ou inférieur au diamètre de la pièce principale dans sa partie initiale. Cette anomalie correspond à une gaine mitochondriale qui ne s'est pas constituée.
- **Angulation** : la pièce intermédiaire ne se trouve pas dans l'axe longitudinal de la tête, mais possède une angulation dépassant les 90°.

➤ **Anomalies du flagelle**

- **Flagelle absent** : les têtes isolées sont comptées dans cette catégorie.
- **Flagelle court** : le flagelle est significativement court (<5 fois la longueur de la tête).
- **Flagelle irrégulier** : le diamètre de la pièce principale est variable, présentant des rétrécissements ou des élargissements.
- **Flagelle enroulé** : le flagelle est enroulé autour de la tête ou en dehors de la tête.
- **Flagelles multiples** : il y a plus d'un flagelle par spermatozoïde, la pièce intermédiaire étant commune ou multiple.

### I.2.3. SPERMOCULTURE

- **Examen direct** : L'examen directe est fait à l'état frais du sperme entre lame et lamelle pour viser la présence de levures ou de parasites notamment le *Trichomonas Vaginalis*, la coloration de gram permet la recherche de l'existence ou non de diplocoques à gram négatif *Neisseria Gonorrhoeae*, de levure de cocci à gram positif de bacilles à gram négatif.
- **Culture** : Après dilution au 1<sup>0ème</sup> du sperme dans le sérum physiologique, le prélèvement et ensemencé sur une gélose chocolat, gélose au sang en milieu aérobie et anaérobies et une gélose Sabouraud pour la recherche de levures (*candida*).

La recherche de *Mycoplasma Hominis* et d'*Ureaplasma Urealyticum* se réalise sur des milieux synthétiques enrichis en sérums et en extrait de levure. L'identification se fait sur les propriétés métaboliques (fermentation du glucose hydrolyse de l'arginine ou de l'urée).

Dans les cultures monomicrobiennes le germe est identifié et un antibiogramme est réalisé si la concentration est sup ou égale à  $10^3$  UFC/ml.

#### I.2.4.BIOCHIMIE DE SPERME

##### I.2.4.1.Dosage des marqueurs séminaux

Pour le dosage des différents éléments (Zn, Fructose et l-carnitine) ; nous avons utilisé comme appareil un analyseur automate METROLAB 2300 ; dont la distribution des réactifs et des échantillons ainsi la dilution de ces derniers sont faites de façon automatique en un temps programmé. Cet automate possède 9 longueurs d'onde situées entre 340 et 750 nm

##### 1-1-Dosage de l-carnitine

Pour le dosage de la l-carnitine l'enzyme déclenchant sera la carnitine acétyl transférase (CAT). Le marqueur dosé est le premier substrat d'une cascade de réactions enzymatique à 37° C. C'est donc le paramètre limitant la dernière réaction est la réaction indicatrice aboutit à la formation ou à la consommation de NADH<sub>2</sub> ou NADPH<sub>2</sub> dont on mesure la variation en point final par spectrophotomètre UV à 340 nm. Le dosage se déroule en 2 temps on incube d'abord le plasma séminal avec un premier réactif contenant le tampon de réaction, les substrats annexes nécessaires et les différentes enzymes de la cascade, excepte la première enzyme.

Puis on ajoute le deuxième réactif qui déclenche la première enzyme qui initialise la cascade de réactions, et on effectue la mesure en fin de réaction quand le substrat initial est épuisé.

**Calcul :** pour les calculs des concentrations de l-carnitine séminal, on utilise la formule suivante :

$$C_{\text{carnitine}} (\mu\text{mol /L}) = (\Delta A_{\text{échantillon}} / \Delta A_{\text{standard}}) \times C_{\text{standard}}$$

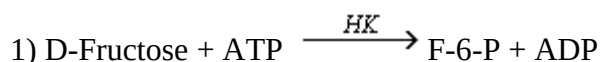
Si l'échantillon a été dilué, le résultat doit être multiplié par le facteur de dilution F.

##### Concentration de la carnitine en mg / éjaculat.

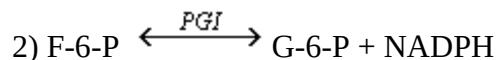
$$(\text{Concentration de l-carnitine en (mg /100 ml)}) / 100 \text{ ml} \times \text{volume éjaculat en ml}$$

**1.2-D-fructose :** le fructose est une substance sécrétée par les vésicules séminales. Il est stocké sous la forme de D-fructose.

Le D-Fructose sont phosphorylés par l'enzyme hexokinase (HK) et l'adénosine-5'-triphosphate (ATP) (1) en fructose-6-phosphate (F-6-P) avec la formation simultanée en adénosine-5'-diphosphate (ADP).



F-6-P est converti en G-6-P par le phosphoglucose isomérase (PGI).



Le F-6-P réagit avec le NADP pour former du gluconate-6-phosphate et du NADPH. L'élévation du NADPH est obtenue par réaction stoichiométrique avec l'élévation du fructose, l'augmentation du NADPH est mesurée par son absorbance moyenne.

Longueur d'onde: 340 nm / Trajet optique: 1cm / Température: 20-37 °C

**Calcul :** pour les calculs des concentrations de fructose séminal, on utilise la formule suivante :

$$\Delta \text{DO fructose} = [\text{DO}_3 - \text{DO}_2] \text{ éch}$$

$$C = 0,8693 \times \Delta \text{DO} [\text{g/l de D-Fructose dans l'échantillon}]$$

**1-3-Zinc :** Le zinc forme avec le 5-Br-PAPS un complexe coloré en rouge violet dont on mesure l'absorbance en point final à 560 nm, celle-ci est directement proportionnelle à la quantité de zinc contenue dans l'échantillon.

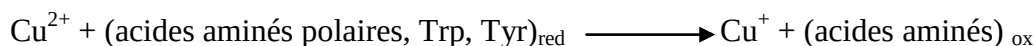
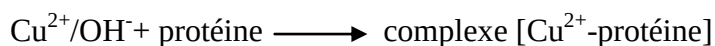
Le dosage se déroule en 1 seul temps, on incube 10 µl de plasma séminal avec 3 ml de la solution de travail prêt à l'emploi (Calmagite 80 µmol/L, EGTA 60 µmol/L, diéthylamine 0,2 mol/L.).

**Mode opératoire:** pour les calculs des concentrations de fructose séminal on utilise la formule suivante :  $C \text{ (m mol /L de zinc)} = (\Delta A_{\text{échantillon}} / \Delta A_{\text{standard}}) \times C_{\text{standard}}$

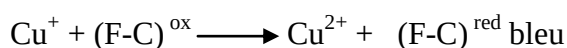
#### I.2.4.2. Dosage des protéines totales

Principe: La concentration en protéines séminales a d'abord été déterminée par le Protein Assay (Bio-Rad) qui est un dosage compatible avec la présence de détergents ou d'agents réducteurs, inspiré de la méthode de Lowry et al. (1951) [38]. Cette méthode de dosage comprend deux étapes distinctes :

1-La Complexation d'ions  $\text{Cu}^{2+}$  avec les atomes d'azote, des liens peptidiques de la protéine dans des conditions de pH alcalin. Le  $\text{Cu}^{2+}$  est ainsi réduit au  $\text{Cu}^+$ :



2- Les ions  $\text{Cu}^+$  et les radicaux du Trp, Tyr et Cys réduisent le complexe acide phosphotungstique/acide phosphomolybdique (couleur jaune) contenu dans le réactif Folin-Ciocalteu ( $\text{Na}_2\text{MoO}_4 + \text{Na}_2\text{WO}_4 + \text{H}_3\text{PO}_4$ ), produisant ainsi une couleur bleue.



L'absorbance des solutions, mesurée à une longueur d'onde comprise entre 500 nm et 750 nm, est proportionnelle à la concentration des protéines présentes dans les échantillons.

**2. 1- Échantillons utilisés :** le dosage de protéines totales a porté sur 140 échantillons de plasma séminal prélevés sur les 140 sujets étudiés.

Les échantillons utilisés comme témoins sont les malades qui n'expriment aucune anomalies soit dans les spermogrammes, spermocytogramme, spermoculture, les dosages biochimiques ou hormonaux.

**Tableau 3.** Répartition des pathologies selon le dosage de protéine.

| pathologie                       | Nombre de cas |
|----------------------------------|---------------|
| Témoins                          | 8             |
| Asthenospermie                   | 36            |
| Oligo-asthéo-térato-necrospermie | 15            |
| Oligo-asthénospermie             | 12            |
| Oligo-asthéo-tératospermie       | 10            |
| Tératospermie                    | 8             |
| Oligospermie                     | 7             |
| Asthénotératospermie             | 7             |
| Azoospermie                      | 7             |
| Asthéo-térato-necrospermie       | 7             |
| hypospermie                      | 5             |
| Polyspermie                      | 4             |
| Polyasthénospermie               | 3             |
| Necrospermies                    | 3             |
| Asthéo-necrospermies             | 3             |
| Oligo- asthéo-nercrospermies     | 3             |
| Akthéno-oligospermie             | 2             |

Le dosage se déroule en 2 temps on incube 300 µl de plasma séminal avec 2 ml de la solution de travail prêt à l'emploi (Réactif de Lowry) pendant 5 mn puis on ajoute en 2<sup>ème</sup> temps le folin qui va virer vers le bleu dans 40 min.

L'appareil utilisé « automate METROLAB 2300 » ; dont la distribution des réactifs et des échantillons ainsi la dilution de ces derniers sont faites de façon automatique en un temps programmé.

## **I.2.5.DOSAGES HORMONAUX**

**1.1. Prélèvement et préparation des échantillons :** les prises de sang ont été effectuées pour les dosages hormonaux. Les prélèvements ont été réalisés avec des tubes héparines de 5ml.

Les prélèvements de sang sont centrifugés à 5000 g pendant 02 minutes. Les sérums sont ensuite récupérés et stockés dans des tubes et congelés à -80°C jusqu'au moment du dosage. Le dosage de testostérone, le FSH, et le LH se fait par la même technique :

### **➤ Testostérone**

Le principe du dosage associe la méthode immuno-enzymatique par la compétition à une détection finale en fluorescence EFLA. Le cône (sensibilisé par des immunoglobulines polyclonales de lapin anti-testostérone) a usage unique sert à la fois de phase solide et de système de pipetage. Les autres réactifs de la réaction immunologique sont prêts à l'emploi et pré-répartis dans la cartouche.

Toutes les étapes du test sont réalisées automatiquement dans l'instrument, elles sont constituées d'une succession de cycle d'aspiration et refoulement du milieu réactionnel.

On prélève l'échantillon, puis on le transfère dans le puits contenant le conjugué qui est un dérivé testostérone marqué à la phosphatase alcaline, il s'effectue une compétition entre la testostérone de l'échantillon et la testostérone marquée vis-à-vis des sites de l'anticorps spécifique anti testostérone fixe sur le cône. Des étapes de lavage éliminent les composés non fixés. Lors de l'étape finale de révélation le substrat (4-méthyl – ombelliferyl phosphate) est aspiré puis refoulé dans le cône. L'enzyme du conjugué catalyse la réaction d'hydrolyse de ce substrat en un produit (4-méthyl-ombelliférone) dont la fluorescence émise est mesurée à 450 nm, la valeur du signal de fluorescence est inversement proportionnelle à la concentration de l'antigène présent dans l'échantillon. À la fin du test, les résultats sont calculés automatiquement par l'instrument par rapport à une courbe de calibration mémorisée puis imprimés.

### **➤ LH et FSH**

Le principe du dosage associe la méthode immuno-enzymatique sandwich à une détection finale en fluorescence EFLA.

On prélève l'échantillon puis on transfère dans le puits contenant des anticorps anti-(LH/FSH) marqués à la phosphatase alcaline, Des étapes de lavage afin d'augmenter la vitesse de réaction.

Cette opération permet à l'antigène de se lier d'une part aux immunoglobulines fixées sur le cône et d'autre part avec les anticorps anti-(LH/FSH) marqués formant ainsi un sandwich. Des étapes de lavage éliminent les composés non fixés. Lors de l'étape finale de révélation, le substrat (4-méthyl-ombelliferyl phosphate) est aspiré puis refoulé dans le cône, l'enzyme du conjugué catalyse la réaction d'hydrolyse de ce substrat en un produit (4-méthyl-ombelliféron) dont la fluorescence émise est mesurée à 450 nm la valeur du signal de fluorescence est proportionnelle à la concentration de l'antigène présent dans l'échantillon.

#### ➤ Mode opératoire

On fait sortir uniquement les réactifs nécessaires, pour l'analyse et les laisser pendant 30 min à température ambiante avant l'utilisation. On utilise une seule cartouche (TESTO, LH ou FSH) et un cône test pour chaque échantillon. On place dans l'instrument les cônes teste et les cartouches puis on démarre l'analyse (toutes les étapes sont gérées automatiquement par l'instrument). Les résultats sont obtenus en 60 min environ, à la fin de l'analyse, on retire le cône et la cartouche de l'instrument.

### I.2.6.ELECTROPHORESE DES PROTEINES SEMINALES PAR SDS-PAGE

La méthode utilisée dans ce travail est l'électrophorèse verticale sur plaque en mini-gel de polyacrylamide (80 × 85 mm) contenant 12 puits, décrite par Laemmli (1970). Dans cette méthode, on admet que les complexes SDS protéines (conditions dénaturantes) possèdent une même charge globale négative. Dans ce cas, seul le paramètre encombrement moléculaire intervient dans la vitesse de migration et, donc, dans la séparation des protéines.

Le SDS ( $\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_{10}-\text{CH}_2-\text{O}-\text{SO}_3-\text{Na}^+$ ) est un détergent anionique qui se fixe sur les protéines, masquant leurs charges propres, et transformant donc les protéines en complexes anioniques [74]. Ainsi, les protéines ont toutes le même rapport charge sur masse, et ne sont plus séparées en fonction de charges électriques uniformes. De plus, ces charges étant négatives, les protéines vont migrer selon leurs poids moléculaires, de la cathode (haut du gel) vers l'anode (bas du gel). Le SDS rompt aussi les liaisons hydrogènes, bloque les interactions hydrophobes, déplie partiellement les protéines et les stabilise sous une forme déroulée.

Le gel de polyacrylamide agit comme un tamis moléculaire retenant plus ou moins les protéines en fonction de leur taille et de celle des pores. La distance de migration du polypeptide-SDS est proportionnelle au logarithme de son poids moléculaire. Par conséquent, une protéine de bas poids moléculaire migre plus loin à travers les pores du gel qu'une protéine de poids moléculaire plus



élevé. Plus ce gel est de grande taille, plus la résolution est importante en affichant des spots bien séparés.

### V.1. Extraction des protéines totales

L'extraction des protéines totales du liquide séminal a été réalisée selon le procédé à savoir :

La solution est laissée pendant 2 heures à 65°C puis centrifugée à 10000g pendant 10 minutes à 4°C.

### V.2. Préparation des gels

Les gels prêts à l'emploi présentent l'avantage d'être coulés sur un support plastique ce qui, d'une part, évite de les préparer et facilite leur manipulation et, d'autre part, permet de conserver indéfiniment les résultats après coloration et séchage. Ils sont fournis en outre avec les produits nécessaires pour préparer le tampon et le colorant. L'inconvénient est qu'ils reviennent plus chers que les gels coulés par l'utilisateur.

Les gels continus de polyacrylamide 1D (80 × 85 mm × épaisseur 1,5mm) étaient préparés à partir d'une solution contenant les monomères acrylamide et bisacrylamide.

Les volumes des différents constituants de la solution monomère composant le gel sont indiqués dans (annexe 3).

### V.3. Analyse électrophorétique

Une cuve pour électrophorèse clinique est formée de deux réservoirs de tampon séparés munis chacun d'une électrode de platine. Chaque support de gel est placé à cheval au dessus de la cloison qui sépare les deux réservoirs.

Le protocole d'électrophorèse comporte le dépôt des échantillons, la mise en place des gels, la migration électrophorétique, la fixation du gel et sa coloration puis une décoloration du fond. Une fois séchés, les gels peuvent être conservés indéfiniment.

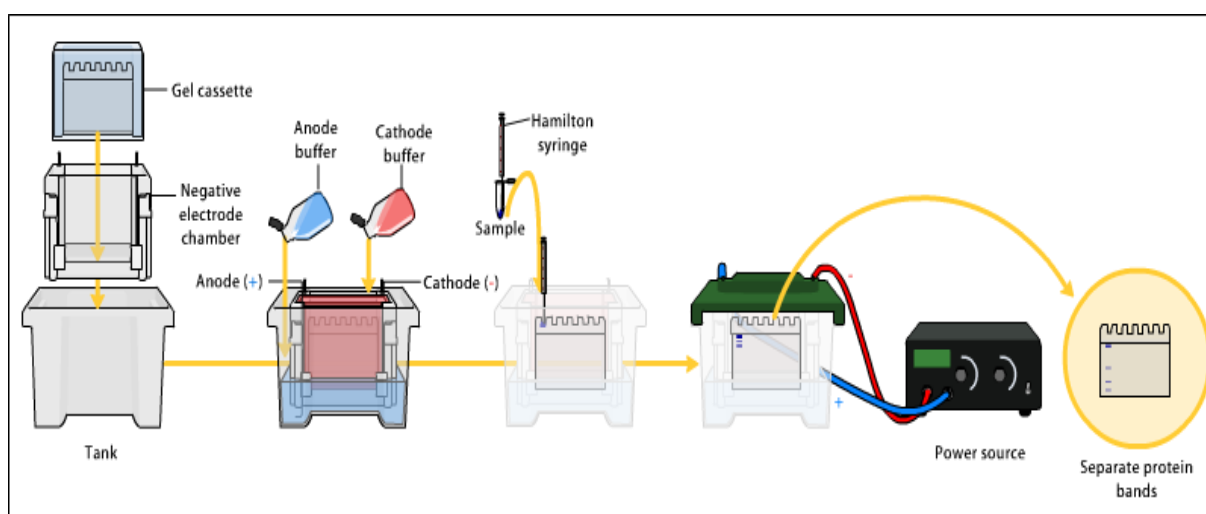
20 µl de protéines, extraites des différents échantillons, sont déposés délicatement dans les puits correspondants dans la partie supérieure du gel. La SDS-PAGE a été lancée pendant environ 2h, en utilisant un générateur Power Pac Universal Power Supply (Bio-Rad).

Au début de la SDS-PAGE, un faible ampérage de 20mA/gel a été appliqué pendant 1h, afin de laisser le bleu de Bromophénol entrer dans le gel. Puis, un ampérage plus élevé de 40mA/gel a été appliqué entre 1h à 3h, jusqu'à ce que le front de migration ait atteint le bas du gel.

**Révélation des protéines.** Après électrophorèse, les protéines sont fixées et colorées dans une solution de bleu de Coomassie Brilliant R-250 (Sigma) à 0,25%, préparé comme suit : 100 mg de

poudre de bleu de Coomassie G 250 sont dissous dans 50 ml d'éthanol absolu, puis on y ajoute 100 ml d'acide orthophosphorique à 85%. Le mélange résultant est ajusté avec de l'eau distillée à un volume final de 1000 ml, puis filtré et conservé à froid (4 °C).

Les bacs de colorant contenant les gels ont été placés sous agitation orbitale pendant au moins 1h. Le colorant a ensuite été éliminé et chaque gel a été décoloré par une solution contenant 70 mL d'acide acétique, 50mL d'éthanol et de l'eau. L'étape de décoloration a été répétée plusieurs fois, pendant 15-30 minutes jusqu'à ce que le bruit de fond de la coloration soit acceptable.



**Figure 10.** Analyse électrophorétique sur gels SDS-PAGE (D'après Wiltfang J et al., 1991)

**V.5. Analyse des gels** l'analyse des profils des protéines générales, obtenus après séparation par électrophorèse sur gel polyacrylamide (SDS- page), a été réalisée sur la base de la présence ou l'absence de bande après révélation et observation des gels séchés sur une table lumineuse.

L'évaluation des masses moléculaires des polypeptides séparés est possible par référence à des marqueurs de masses moléculaires connues (Promega, Madison, États-Unis).

Nos résultats confirment qu'à Batna le problème de stérilité connaît des causes multifactorielles avec des associations fréquentes.

En Algérie, les couples avec problèmes de stérilité sont estimés à 12% (Daroui, 2001). A Batna, il est difficile d'apprécier ce pourcentage. Toutefois, dans notre service, nous avons constaté une fréquence notable des consultations pour infécondité. Pour les examens complémentaires, nous avons choisi les moyens d'investigation en fonction des possibilités offertes localement par les services du CHU de Batna et des cliniques privées de la ville.

Certains auteurs (Cabau A, 1983) hiérarchisent le bilan à effectuer pour réduire le coût de la prise en charge. Dans notre pratique, cette façon de procéder allonge la période exploratoire et force les couples à revenir beaucoup trop fréquemment. Cela constitue une incontestable source d'abandon, certains couples provenant de régions éloignées de Batna. Nous avons par conséquent programmé dès les premières consultations, pour chaque couple, une série d'examens standards à réaliser dans un minimum de temps.

## II.1. FREQUENCE ET TYPE DE STERILITE

### II.1.1. Distribution des patients selon le type de stérilité.

L'enquête menée à partir des dossiers de consultation d'urologie montre qu'au cours des dix derniers mois, 140 patients souffrent de stérilité sur les 584 hommes reçus en consultation dans les services d'urologie, soit 24 %, dont l'âge moyen est compris entre 18 et 60 ans. Selon le motif de consultation, nous avons recensé 34 individus célibataires et 106 individus mariés soit des proportions respectives de 24.29% et 75.71% de la population étudié (Tab. 4).

Le délai de consultation des patients varie selon la gravité des cas, entre 1 et 4 mois le nombre de consultants pour la stérilité primaire est le double de celui reçu pour la stérilité secondaire alors que de 4 à 10 mois.

**Tableau 4.** Répartition des sujets selon le type d'infertilité.

|                 | Célibataires | Mariés | Infertilité Primaire | Infertilité Secondaire |
|-----------------|--------------|--------|----------------------|------------------------|
| <b>Effectif</b> | 34           | 106    | 102                  | 38                     |
| <b>%</b>        | 24.29%       | 75.71% | 72.85%               | 27.14%                 |

Le taux élevé des cas consultants pour une infertilité primaire (72.85 %) par rapport au taux des infertilités secondaires (27.14%) peut s'expliquer par le contexte social et la tendance qu'auraient les couples n'ayant pas d'enfant à consulter plus souvent que les autres pour traiter leur infertilité.

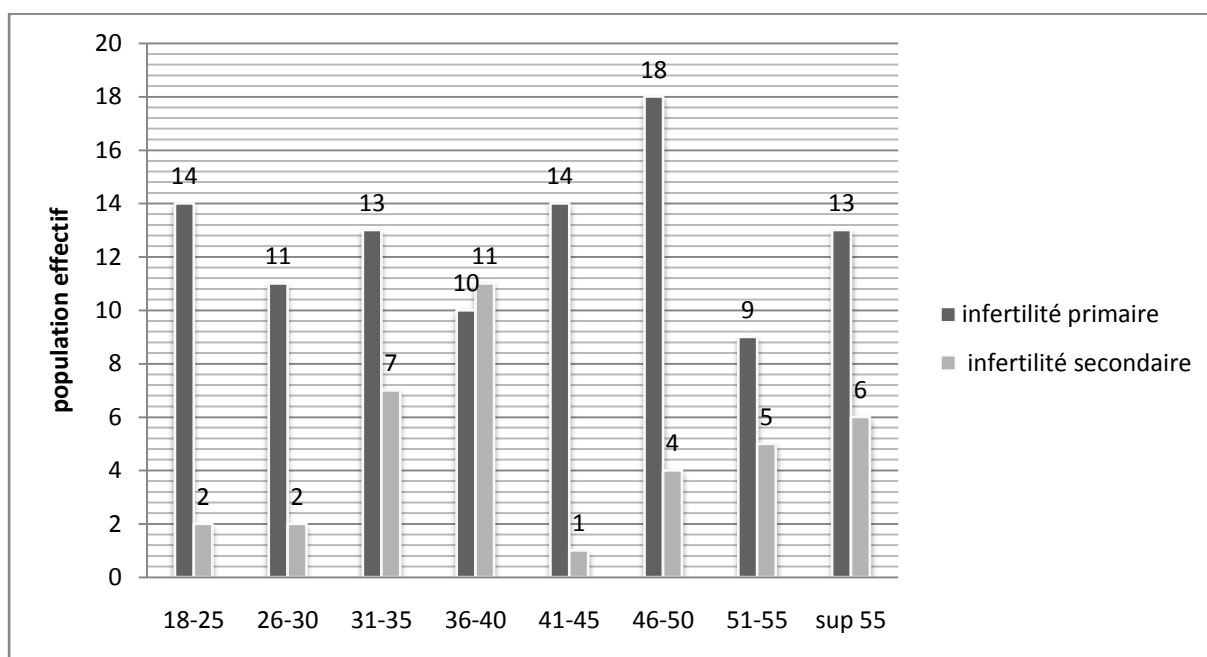
Des études menées en Algérie par (Daroui, 2001), dans la région de Annaba, indiquent des taux d'infertilité primaire de 73,48 % et d'infertilité secondaire de 26,52 %, et par (Zagheb, 2008) dans la région de Constantine a des pourcentages respectifs de 74,73 % et 25,27 %. Par ailleurs, les travaux de (Mohamdi et *al.*, 1995) à Oran révèlent des taux d'infertilité primaire et secondaire de 67 % et 33 % respectivement.

### II.1.2. Distribution des patients selon le type de stérilité et selon l'âge

L'observation des différentes classes d'âge (Figure. 11) et (tab. 5). L'âge moyen des hommes est de 39,7 ans (extrêmes 20 et 65 ans).

Nous ne notons pas de grande différence au niveau du nombre d'individus selon les classes d'âges dans notre échantillon, cela est dû au fait que la majorité des hommes de notre étude ont été récupéré dans une période très courte de 10 mois.

Les résultats liés à l'âge de la population étudiée indiquent que les patients les plus touchés par la stérilité primaire se situent dans la tranche d'âge de 46-50 ans avec 17.65 % des cas de l'infertilité primaire tandis que ceux de la stérilité secondaire sont de 36 - 40 ans avec 28, 95% des cas. Le pourcentage des patients âgés plus de 50 ans présentent 23.33 % des cas étudié. Ces groupes d'âge se rapprochent de ceux retrouvés par (Mohamdi et *al.*, 1995).



**Figure 11.** Répartition de la population effectuée selon la tranche d'âge et le type de l'infertilité.

**Tableau 5.** Répartition de type d'infertilité selon les tranches d'âge des hommes

|               | Infertilité Primaire |       | Infertilité Secondaire |       | Total | %      |
|---------------|----------------------|-------|------------------------|-------|-------|--------|
|               | Fréquence            | %     | Fréquence              | %     |       |        |
| <b>18-25</b>  | 14                   | 13.73 | 2                      | 5.26  | 16    | 11.43  |
| <b>26-30</b>  | 11                   | 10.78 | 2                      | 5.26  | 13    | 9.29   |
| <b>31-35</b>  | 13                   | 12.75 | 7                      | 18.42 | 20    | 14.29  |
| <b>36-40</b>  | 10                   | 9.8   | 11                     | 28.95 | 21    | 15.00  |
| <b>41-45</b>  | 14                   | 13.73 | 1                      | 2.63  | 15    | 10.71  |
| <b>46-50</b>  | 18                   | 17.65 | 4                      | 10.53 | 22    | 15.71  |
| <b>51-55</b>  | 9                    | 8.82  | 5                      | 13.16 | 14    | 10.00  |
| <b>Sup 55</b> | 13                   | 12.75 | 6                      | 15.79 | 19    | 13.57  |
| <b>Total</b>  | 102                  | 100   | 38                     | 100   | 140   | 100.00 |

Les résultats obtenus dans nos échantillons pourraient s'expliquer par le fait que l'augmentation de l'âge est un facteur de risque de l'infertilité prépondérante [1][4][25].

Aujourd'hui, 35 ans est l'âge moyen pour les hommes pour avoir leur premier enfant, alors qu'à 50 ans, la possibilité de fécondation des ovocytes est fortement diminuée. Un taux de fausses couches plus élevé et un taux de grossesse diminué ont également été rapportés lorsque l'homme a plus de 50 ans [3][25]. En revanche, la spermatogenèse augmente au cours de la puberté et atteint une phase de plateau à l'âge de 42 ans, et décroît ensuite [3][4][35].

(Auger J et *al.*, 2005) ont suggéré qu'il y a une relation inverse entre le volume et la qualité du sperme avec l'âge du patient, et que les paramètres spermatiques étaient au optimum entre 30 et supérieur à 35 ans, cependant, il y a un fort déclin significatif après 55 ans [25] [3].

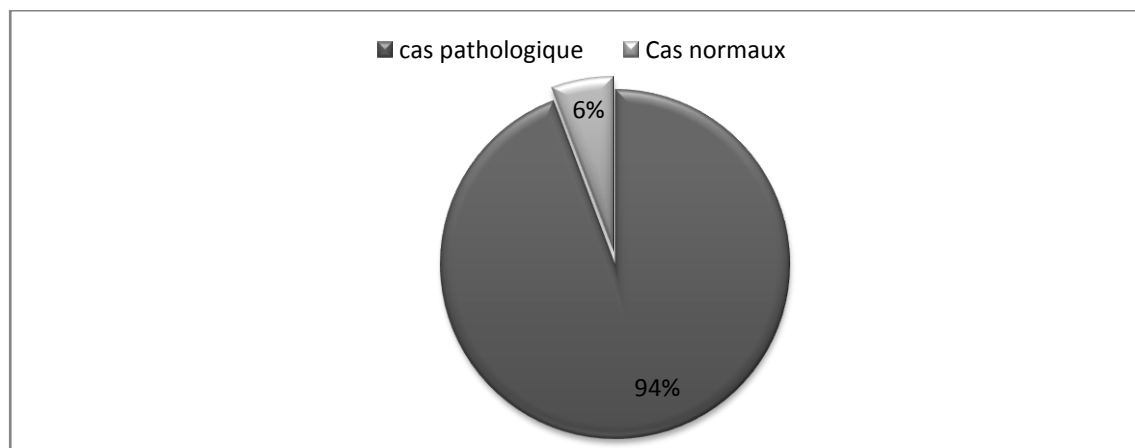
Selon (Auger J et *al.*, 1993) a été constatée à une diminution du liquide séminal, de la mobilité, et de morphologie typique des spermatozoïdes mais pas de leur concentration dans le sperme. Les mêmes auteurs après 12 ans suggèrent une modification de la vascularisation testiculaire et une raréfaction des cellules de Sertoli et de Leydig, avec diminution du taux de testostérone [1].

Par contre les études ne font pas état d'une absence totale de spermatozoïdes, c'est-à-dire d'azoospermie en fonction de l'âge [68]. D'ailleurs, un nombre non négligeable d'hommes âgés ont une fonction de reproduction peu ou pas altérée et il existe beaucoup de variations interindividuelles et de facteurs environnementaux venant modifier les résultats [51] [73].

## II.2.DISTRIBUTION DES PATIENTS EN FONCTION DU SPERMOGRAMME

### II.2.1.Fréquence des anomalies

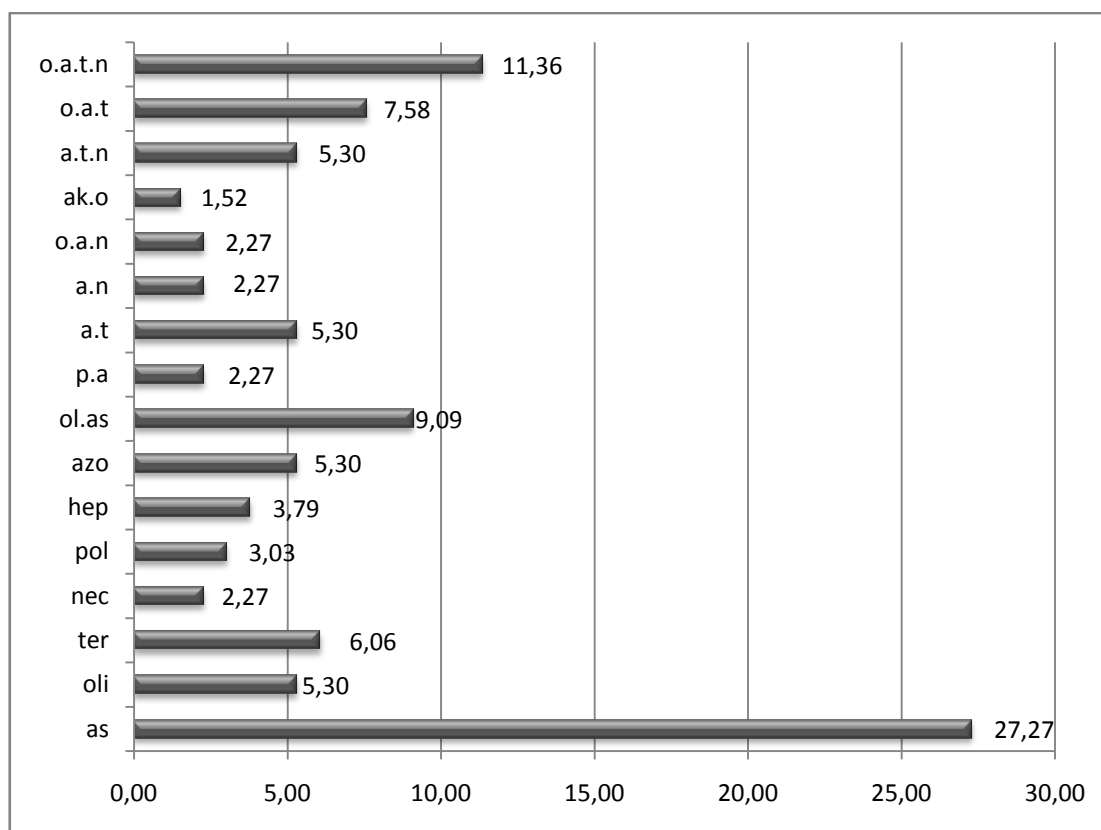
Sur les 140 spermogrammes réalisés dans le service, nous avons révélé 132 anomalies portant aussi bien sur la qualité que sur la quantité du sperme. Tandis que 08 cas sont normaux (Figure 12 et 13) soit des taux de 94 % et 6 % respectivement. Ces résultats concordent avec ceux obtenus par (Daroui, 2001), où il a été enregistré dans une première étude 85,20 % de cas pathologiques et 14,80 % de cas normaux sur une population de 210 hommes.



**Figure 12.** Répartition en pourcentage des cas normaux et pathologiques

Parmi les 132 cas pathologiques que nous avons recensés, une anomalie majeure est observée, elle s'agit de l'asthénospermie (AS) avec 27,27 % des cas, suivie respectivement par l'asthénospermie-oligo-teratospermie (OATNS) avec 11,36%, l'oligo-asthénospermie (OAS) 9,09 %, l'asthénospermie-oligo-teratospermie (ATOS) 7,58 %, et la tératospermie (TS) 6,06 %. Des anomalies à moindre fréquence sont aussi observées, telles que l'oligospermie (OS), l'asthénospermie-tératospermie (ATS), l'azoospermie (AZ), et l'oligo-asthénospermie-necroospermie (OANS) avec des proportions identiques 5,30 %. Par ailleurs, des proportions identiques sont enregistrées dans le cas de poly-asthénospermie, oligo-asthénospermie-necroospermie, asthénospermie-necroospermie, hepospermie, polyspermie, necroospermie ; ils sont de l'ordre de 2,80 %. Enfin 2 cas isolés d'akthénospermie (AKOS) sont notés, ils représentent 1,52 % des cas étudiés (Figure. 13).

- **L'asthénospermie:** (27,27 %) contre 03,65 % retrouvé par (Zagheb, 2007) et 24,33% retrouvé par (Mohamdi et al., 1995). La mobilité diminuée (asthénie) peut avoir plusieurs origines soit une malformation au niveau du flagelle (non corrigable) [73] [53], et ceci est interprétable à partir de la description des anomalies (spermocytogramme): flagelles enroulés, angulation, pièce intermédiaire grêle etc..., soit la mauvaise qualité du plasma séminal (spermatozoïde bien constitué, pas d'anticorps) [36] [20].



**Figure 13.** Distribution de la fréquence des anomalies spermatiques

Les asthénospermies sont liées aussi à des problèmes auto-immuns : des anticorps peuvent quitter le sang et franchir la barrière immunologique des testicules et « attaquer » les spermatozoïdes comme s'ils s'agissaient de corps ou d'organismes étrangers [20] [32] [53]. L'observation au microscope montre alors une agglutination des spermatozoïdes limitant leur mobilité [79]. Ce phénomène semble souvent associé à des problèmes fonctionnels tels que l'obstruction (unilatérale ou bilatérale) des voies spermatiques, éventuellement congénitale, ou à une épididymite, une varicocèle, ou aux conséquences d'une opération de reconnexion des voies spermatiques après une vasectomie [20] [53] [68].

Des infections, même anciennes et terminées (comme les oreillons), des infections sexuellement transmissibles (comme les chlamydiae) peuvent avoir une influence néfaste sur la mobilité des spermatozoïdes [51] [53]. Par ailleurs, (Lindemann C et *al.*, 1989) ont rapporté que l'absence du fructose avec un nombre normal de spermatozoïdes est associée à certaines asthénospermies [53].

**-L'oligo-astheno-terato-nicrospermie:** (OATNS) avec 11.36%, proche du taux (8,85 %) de (Mohamdi et *al.*, 1995), le diagnostic repose sur la réalisation de plusieurs spermogrammes montrant une diminution du nombre et de la mobilité des spermatozoïdes associées à une fréquence élevée de formes anormales ainsi le nombre des spermatozoïdes morts [43] [36] [32].

Les OATN sont un simple symptôme dont les causes sont extrêmement variées [54]. L'enquête étiologique chez ces patients est similaire à celle utilisée chez les sujets atteints d'azoospermie. Chez près de 10% des patients atteints d'OATN extrême ( $< 106$  spermatozoïdes/ml), des microdélétions du bras long du chromosome Y ont été mises en évidence [29] [68] [73]. L'élévation de la température testiculaire ou scrotale, isolée ou associée à celle de l'ensemble du corps, entraîne des perturbations de ses fonctions qui se traduisent par une diminution de la qualité et de la quantité des gamètes produites [32] [36] [54].

**Azoospermies:** dans notre étude un taux élevé d'azoospermie (5.07 %) est marqué, inférieur à celui rapporté par (Zagheb, 2007) qui est de (17,59%). Chez ces hommes infertiles, l'azoospermie associée à un dosage de FSH normal (sauf chez 2 cas) faisait suspecter, en premier lieu, une anomalie excrétoire.

**Azoospermies excrétoires ou obstructives (AO): 3 patients (42% des cas d'azoospermie)**

Parmi les causes congénitales,

- Un obstacle sur le canal déférent d'origine post infectieuse chez 2 patients (28% de l'azoospermie) : Les obstacles canal déférent acquis, dont l'origine infectieuse n'est le plus souvent que présumée (gonocoque, tuberculose, chlamydiae), représentent l'étiologie principale des azoospermies excrétoires [43] [73]. Chez ces patients, le déférent est souvent palpable parfois gros ou présentant des nodules [36] [43].
- L'anomalie des cônes efférents du rete testis chez 1 patient (14 %). Le diagnostic repose sur la non-perception de canaux déférents à la palpation, associée à une distension de la tête et une atrophie du corps de l'épididyme.

**Azoospermies sécrétoires ou non obstructives (ANO): 4 patients (58%).** Chez ces patients c'est le tableau de normogonadisme qui domine et le diagnostic est confirmé par les dosages hormonaux. Dans la moitié des cas, ces patients présentent un profile hormonal normal mais avec des éthologies différents.

- Antécédents de cryptorchidie uni ou bilatérale opérées après l'âge de 2 ans : 1 patient.
- Antécédent d'orchite ourlienne : 1 patient
- Varicocèle et testicule unique : 1 patient
- Aucun antécédent notable, aucune exposition professionnelle, azoospermie secondaire : 1 patient.

**-L'oligospermie :** est de 9.09 %, fréquence proche de celle retrouvée par (Daroui. 2001) qui est de 10,55 %. Est doué, a sont des déficits quantitatifs suspects de la présence d'un problème génétique sous-jacent occasionnant une anomalie dans le bon déroulement du processus biologique



complexe qu'est la spermatogénèse [72] [73]. Jusqu'à présent, ils n'étaient pas explorés sur le plan génétique dans la mesure où le phénotype de ces patients était normal en dehors du trouble de la spermatogénèse à l'origine de l'infertilité [36] [54].

Dans notre étude, l'oligospermie a des origines très diverses :

- Dilatation des veines (varicocèle testiculaire) du cordon spermatique (2 cas)
- Atrophie des testicules secondaires à une infection par le virus ourlien (3 cas)
- Infection de la prostate (1 cas)
- Infection des vésicules séminales (1 cas)

### **II.2.2.Distribution des anomalies de spermogramme selon l'âge.**

L'asthénospermie semble être l'anomalie qui touche toutes les tranches d'âge. la tranche d'âge la plus affectée est celle des 46 – 50 ans avec une fréquence de 22 et de 36-40 ans avec 20 cas sur 140 individus formant l'échantillon d'étude, soit un taux de 15,71 % et 14.28% .

### **II.2.3.Distribution des patients selon les anomalies macroscopiques**

Les résultats relatifs à la concentration des leucocytes consignés dans le (Tab. 6), montrent que 32 cas parmi les 140 sujets étudiés ont une concentration élevée de leucocytes, ils représentent 19,28 % des patients. Les asthénospermies et les oligo-asthéo-térato-necrospermie avec la tératospermie représentent 65.62 %, des cas qui ont des taux pathologiques des leucocytes et les 34.38 % sont distribués sur les autres anomalies. Ces résultats concordent avec ceux obtenus par (Daroui, 2001) où il a été enregistré un taux élevé de leucocytes chez 23.25% des cas.

Concernant les pH anormaux, dont les résultats sont consignés dans le (Tab. 6) sur 140 spermogrammes réalisés, 24 cas de pH anormal qui représente 17.14% des cas on été trouvé. Comme la précédente, les asthénotératospermies, les oligo-asthéo-térato-necrospermie et l'oligo-asthénospermie représentent 45.33% avec 11 cas.

Le pourcentage de pH anormaux est similaire avec les résultats des autres études ou elles en trouvent 15.2% des cas (Zagheb, 2007).

Concernant l'agglutinats, nous avons recensé une absence d'agglutinats chez 80,72 % des cas, 10,18 % représentent un agglutinat fort et 09,10 % représentant un faible agglutinat. Les asthénospermies et les et l'oligo-asthénospermie représentent 37.33% des cas avec 10 cas, l'asthénospermies représentent 50.22% des cas qui on une forte agglutination.

### II.3.Distribution des patients selon les anomalies de spermocytogramme

Nous avons réalisé 47 spermocytogramme sur les 140 hommes soit 33.57% des cas. Se sont les patients qui présentent des anomalies de la morphologie de spermatozoïdes c.à.d. teratospermie. Le reste des cas sont des normaux, ils représentent 66.43%.

La répartition des spermocytogrammes anormaux illustrée par la (Fig.14). Sur ces 47 spermocytogramme, l'oligo-astheno-terato-necrospermie semble être la pathologie prédominante avec une prévalence de 31.91%. Par ailleurs, l'oligo-astheno-teratospermie 21.27 %, la teratospermie 17.02 %, l'astheno-teratospermie 14.89%, en fin 14.89% des spermocytogrammes correspondent à des astheno-terato-necrospermies.

Des moyennes des différentes atypies morphologiques des spermatozoïdes selon les cas pathologiques rencontrés ont été établies. Elles sont rapportées par le (Tab. 7).

L'analyse de la distribution des fréquences des différentes anomalies des cas atypiques, consignés dans le (Tab. 7), montre que dans le cas des atypies du flagelle enroulé est la plus rencontrée avec des moyennes comprises entre 21.94% et 29.11% selon les cas pathologiques recensés.

Les astheno-térato-necrospermies sont la pathologie qui représentent des prévalences les plus élevées des atypies de la tête, elles sont en moyenne de 49.16%, suivie par la teratospermie avec (44.45%) puis l'oligo-astheno-teratospermie, astheno-teratospermie et oligo-astheno-térato-necrospermies avec (42.45%, 39.43% et 34.73%) respectivement.

Par ailleurs, l'astheno-tératospermies est la pathologie qui représente plus des atypies de flagelle 39.19%, suivie par l'oligo-astheno-térato-necrospermies et oligo-astheno-teratospermie avec (36.1% et 35.61%) puis teratospermie et astheno-térato-necrospermies avec (28.81% et 28.28%) respectivement.

En fin pour les anomalies de la pièce intermédiaire, les pathologies les plus touché sont les teratospermies et l'astheno-tératospermies avec (26.65 % et 26.08 %) puis oligo-astheno-térato-necrospermies (24.47%) et l'oligo-astheno-teratospermies et astheno-térato-necrospermies (22.66% et 21.94%) respectivement.

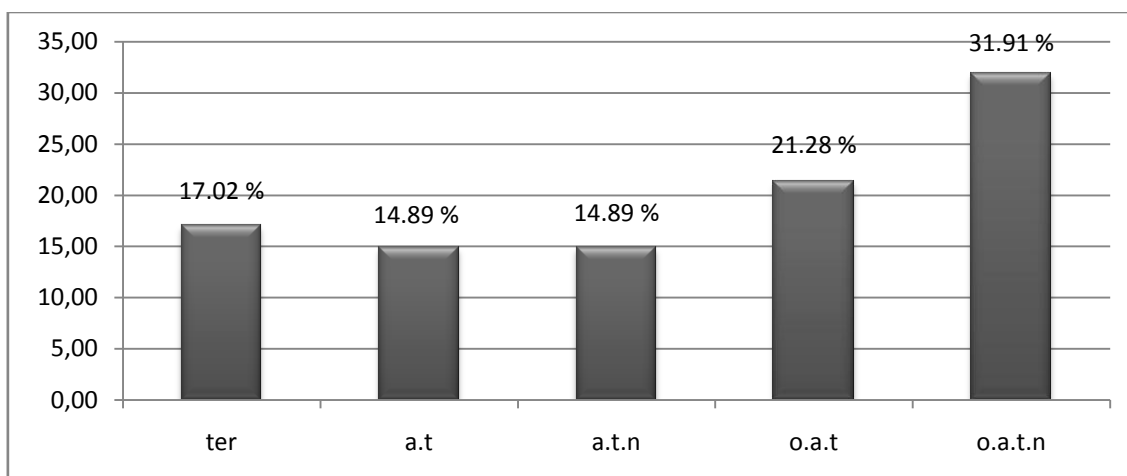
Les atypies de la tête sont dominées par l'anomalie de l'acrosome absent ou anormal et la base anormale avec une fréquence moyenne de (12.69% et 11.25%). Par ailleurs les atypies de flagelle sont dominées par la forme enroulée avec une fréquence moyenne de 26.75%. En fin pour les atypies de la pièce intermédiaires, l'angulation est l'anomalie la plus rencontrée avec (13.46%).

**Tableau 6.** Fréquence des anomalies macroscopiques du spermogramme.

| PARAMETRES             | Valeurs Normales<br>(OMS,2002) | Valeurs<br>Anormales   | AS | OLI | TER | NEC | POL | HEP | AZO | OL.AS | P.A | A.T | A.N | O.A.N | AK.O | A.T.N | O.A.<br>T | O.A.T.N | TOT |
|------------------------|--------------------------------|------------------------|----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-------|-----|-----|-----|-------|------|-------|-----------|---------|-----|
| <b>PH</b>              | 7,2 à 8                        | -                      | 4  | 0   | 1   | 1   | 2   | 1   | 2   | 3     |     |     | 1   | 1     |      | 1     | 2         | 5       | 24  |
| <b>Leucocytes</b>      | < 1 million / ml               | ≥ 1 million / ml       | 6  | 1   | 6   |     |     | 1   | 2   |       | 1   | 1   |     |       | 1    |       | 4         | 9       | 32  |
| <b>Cellules rondes</b> | < 500 millions /ml             | > 500 millions /<br>ml | 1  |     | 1   |     | 1   |     | 1   |       |     | 1   |     |       |      |       |           | 1       | 6   |
| <b>Agglutinats</b>     | Absence                        | Presence               | 5  |     | 2   |     | 1   |     | 3   | 5     | 2   | 1   |     | 2     |      | 2     | 1         | 3       | 27  |

**Tableau 07.** Distribution de fréquences des différentes anomalies des formes atypiques.

|                                          |                            | TER     | A.T     | A.T.N   | O.A.T   | O.A.T.N | Moyenne |
|------------------------------------------|----------------------------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|
| <b>Anomalie</b>                          | Allongée                   | 7.65    | 5.22    | 4.25    | 4.27    | 3.26    | 4.66    |
|                                          | Amincie                    | 4.52    | 3.14    | 2.88    | 3.54    | 2.69    | 3.28    |
|                                          | Macrocéphale               | 3.25    | 4.35    | 4.55    | 4.23    | 4.65    | 4.26    |
|                                          | Microcéphale               | 3.69    | 2.21    | 6.22    | 3.54    | 5.99    | 4.55    |
|                                          | Base Anormale              | 11.32   | 9.52    | 13.22   | 12.52   | 10.25   | 11.25   |
|                                          | Dupliquée                  | 1.21    | 0.96    | 1.55    | 1.1     | 0.58    | 1.00    |
|                                          | Acrosome absent ou anormal | 12.9    | 9.33    | 16.49   | 13.25   | 12.01   | 12.69   |
| <b>Atypies de la tête</b>                | <b>Total</b>               | 44.54 % | 34.73 % | 49.16 % | 42.45 % | 39.43 % | 41.70%  |
|                                          | Reste cytoplasmique        | 13.21   | 11.2    | 9.22    | 9.77    | 8.26    | 10.00   |
|                                          | Angulation                 | 12.22   | 14.22   | 13.21   | 11.21   | 15.39   | 13.46   |
|                                          | Grêle                      | 1.22    | 0.66    | 0.23    | 0.96    | 0.82    | 0.81    |
| <b>Atypies de la pièce intermédiaire</b> | <b>Total</b>               | 26.65 % | 26.08 % | 22.66 % | 21.94 % | 24.47 % | 24.27%  |
|                                          | Absent                     | 3.33    | 5.22    | 2.32    | 3.31    | 2.37    | 3.15    |
|                                          | Court                      | 2.21    | 3.66    | 1.96    | 1.84    | 4.23    | 2.95    |
|                                          | Enroulé                    | 21.94   | 29.11   | 23.22   | 28.25   | 28.86   | 26.75   |
|                                          | Dupliquée                  | 1.33    | 1.2     | 0.68    | 2.21    | 0.64    | 0.98    |
| <b>Atypies du flagelle</b>               | <b>Total</b>               | 28.81 % | 39.19 % | 28.18 % | 35.61%  | 36.1%   | 33.83 % |
| <b>Effectif</b>                          |                            | 8       | 7       | 7       | 10      | 15      | 47      |
| <b>%</b>                                 |                            | 17.02 % | 14.89 % | 14.89 % | 21.28 % | 31.91%  | 100%    |



**Figure 14.** Répartition des spermocytogrammes anormaux selon les cas pathologiques.

La tératospermie est l'un des facteurs déterminants dans l'expression du pouvoir fécondant du sperme, il a été montré que les spermatozoïdes morphologiquement anormaux manifestent une diminution de leur capacité de se lier à la zone pellucide (Phillip E et *al.*, 2005).

Daroui en 2001, a trouvé que la majorité des spermatozoïdes montrent des têtes irrégulières, et la deuxième plus commune anomalie sont les microcéphales où il a trouvé 3.5% de têtes allongées, 52.6% de têtes irrégulières, 0,3 % de macrocéphale, 22,8 % de microcéphale, 2,5% d'anomalies d'acrosome, 4,5 % d'anomalies des pièces intermédiaires, et 4,4% d'anomalies de flagelle. Ces résultats concordent avec ceux obtenus dans notre étude par la prédominance des têtes irrégulières, mais ils sont différents dans les autres anomalies.

Par ailleurs nos résultats regroupées dans le (tab. 7) ont montré que les atypies de la tête semblent être la pathologie prédominante avec une prévalence de 41.70 % en particulier l'anomalie du acrosome absent ou anormal (12.69 % des cas) et la base anormale (11.25 % des cas).

(Rougerie G et *al.*, 1979) ont rapporté que les irrégularités de la tête des spermatozoïdes sont très fréquentes chez les hommes, elles correspondent le plus souvent à des acrosomes malformés. L'absence de l'acrosome est due à une perturbation de la spermiogénèse, empêchant la fécondation, elle se caractérise par des spermatozoïdes microcéphales à têtes rondes et denses [43].

Les atypies du flagelle représentent 33,83% des cas en particulier, l'anomalie flagelle enroulée avec (26,75 % des cas). Tandis que dans les atypies du flagelle, un pourcentage notable de flagelles enroulés et/ou courts est associé à une asthénospermie importante par défaut de structure. Tandis que les allongements de la tête associés à des anomalies de la pièce intermédiaire sont fréquemment observés en cas de varicocèle.

Les atypies de la pièce intermédiaire représentent 24,27 % des cas, en particulier, l'anomalie d'angulation (26,75 % des cas) et le restes cytoplasmiques avec (10,00 % des cas). Les spermatozoïdes avec restes cytoplasmiques, souvent dénommés spermatozoïdes immatures ont été associés à l'inefficacité de la spermiogenèse qui implique moins d'étapes conduisant à un contrôle moins rigoureux de la qualité [72] [82]. L'excès de la présence de résidus cytoplasmiques dans les spermatozoïdes des hommes stériles suggère que le contrôle de la spermiogenèse est encore moins efficace que celle observée dans des conditions normales [2] [13] [43].

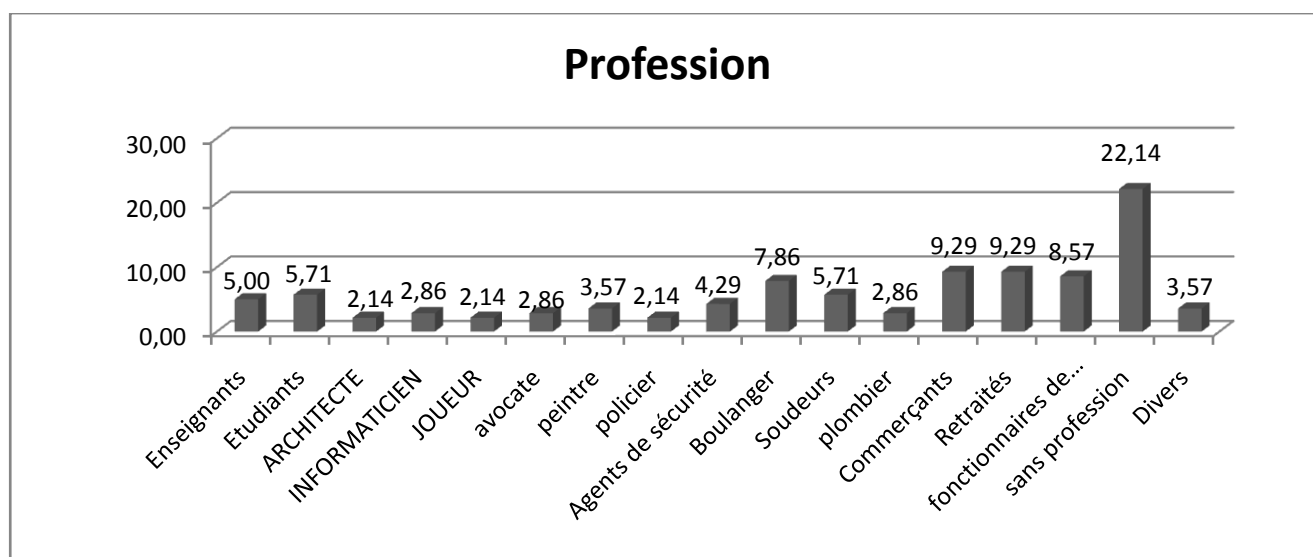
La tératospermie peut être le résultat d'un trouble androgénique [6]. Il est bien connu que la synthèse de testostérone par les cellules de Leydig agit sur les cellules de Sertoli pour le contrôle de la spermiogenèse et la fin de la phase de spermiation [16] [25] [43]. D'une part la testostérone joue un rôle dans la stimulation des cellules de Sertoli dans l'élimination des restes cytoplasmiques et d'autre part, lors du passage dans l'épididyme, la testostérone est en partie impliquée dans la maturation des spermatozoïdes [5] [25] [42] [79]. Les mêmes auteurs ont conclu l'implication d'une augmentation de la concentration de testostérone séminale intratesticulaire dans la présence d'un pourcentage élevé de spermatozoïdes avec un reste cytoplasmique dans la pièce intermédiaire qui pourrait provenir, en partie, d'un échec dans l'élimination des restes cytoplasmiques par quelques cellules de Sertoli [5] [25] [42] [51] [66].

Les anomalies notées dans la morphologie des spermatozoïdes ont été observées après un état fébrile, une exposition exogène de chaleur (chez les boulangés 23.40% des cas de tératospermie). Ainsi qu'une association avec la varicocèle 17.02 % (Le tabac a été aussi associé aux anomalies morphologiques et la mobilité des spermatozoïdes 30.21% des cas. Des spermatozoïdes morphologiquement anormaux ont été aussi observés chez un groupe d'hommes exposé à des substances phényliques (1 plombier et 4 fonctionnaires de la santé).

#### **II.4.Distribution des patients selon l'activité professionnelle.**

La répartition des patients selon l'activité professionnelle, consignée dans le (figure. 15), fait ressortir que 22,14 % ne possèdent aucune profession. Parmi la population en activité les commerçants et les retraités représentent la proportion la plus élevée, elle est de l'ordre de 9,29 %, suivi des fonctionnaires de la santé et les boulangés avec des taux respectifs de 8.57%, et 7,86%. La proportion la moins élevée est celle des enseignants, des entrepreneurs et des étudiants et soudeurs et en fin les autres professions avec des pourcentages inférieurs à 5%.

Nos résultats sont en accord avec ceux de (Daroui, 2001), qui a signalé que les patients sans profession et les boulangés sont les plus touchés par le problème de l'infertilité.



**Fig15.** Distribution des pathologies selon l'activité professionnelle.

## II.5.Distribution des patients selon les Antécédents urogénitaux

Sur les 140 patients, que nous avons recensé au cours de cette étude, 82.86% des patients ont présenté des Antécédents urogénitaux, parmi celle-ci les infections urogénitale (48 cas soit 34.29%), la varicocèle (16 cas soit 11.43%), Oreillon et (orchite) (15 cas soit 10.71 %) comme principal antécédent, lors de l'interrogatoire et l'examen clinique, et des antécédents combinés sont aussi notés avec des taux relativement faibles (Tab. 8).

Le canal de l'épididyme peut être atteint par des germes urinaires [14] [28] [51]. Ou il y a un risque d'abcès et d'infection généralisée ou encore un risque de lésions irréversibles sur le petit canal de l'épididyme entraînant une obstruction de celui-ci et un risque ultérieur d'infertilité masculine [76] [81].

Si ce n'est pas une épididymite, il peut s'agir d'une torsion du cordon qui fait plusieurs tours sur lui même et empêche le sang d'oxygéner le testicule [14] [58]. Les cellules souches fabriquant les spermatozoïdes sont très sensibles à l'anoxie [76]. Dans notre études, l'épididymite et les torsions testiculaires représentées chez (12 cas soit 8.56%) des patients, 2 cas d'asthenospermie, 5 cas d'oligo-astheno-terato-necrospermie, et 5 cas d'oligospermie.

-Les oreillons sont des infections virales des glandes salivaires, les enfants entre 5 et 10 ans sont les plus susceptibles de contracter les oreillons [25] [51].

En général, ça ne va pas plus loin, même chez les adultes, toutefois, un adolescent ou un adulte mâle sur 5, souffre d'orchite, une infection inflammatoire des testicules, rapidement masquée

par l'œdème inflammatoire scrotal. La température oscille entre 38,5° C et 39° C. Elle peut être très douloureuse et entraîne la stérilité [17] [51] [81].

**Tableau 8.** Répartition des patients selon les antécédents urogénitaux et les anomalies spermatiques.

| Antécédent urogénital                                                 | Effectif | %       |
|-----------------------------------------------------------------------|----------|---------|
| • Sans antécédent                                                     | 24       | 17.14 % |
| • Infection urogénitale                                               | 48       | 34.29 % |
| • Les anomalies congénitales                                          | 4        | 2.86 %  |
| • Varicocèle                                                          | 16       | 11.43 % |
| • Cryptorchidie                                                       | 7        | 5.00 %  |
| • Traumatisme et torsion testiculaire                                 | 8        | 5.71 %  |
| • Anormale du volume testiculaire                                     | 2        | 1.43 %  |
| • Chirurgies qui peuvent endommager la vascularisation des testicules | 3        | 2.14 %  |
| • Oreillon et post-inflammatoire (orchite)                            | 15       | 10.71 % |
| • Urétrite                                                            | 3        | 2.14 %  |
| • Le cancer du testicule                                              | 3        | 2.14 %  |
| • Anomalies idiopathique                                              | 7        | 5.00 %  |

Il apparaît dans notre étude que les oreillons et l'orchite sont enregistrés chez 15 cas soit 10.71 % des cas de stérilité masculine.

-La cryptorchidie est aussi une cause connue d'infertilité. L'absence ou le retard d'abaissement des testicules cryptorchides est responsable des nombreuses anomalies du spermogramme [25] [71] [76].

Il est actuellement acquis que les testicules non descendus à la fin de la première année de vie ne le seront plus ultérieurement [28] [71]. A partir de cet âge, l'altération des cellules de Leydig et l'absence de croissance du diamètre des tubules séminifères entraînent une diminution du nombre de spermatogonies à partir de 2 ans ; cette diminution deviendra irréversible à partir de 4 ans [25] [67]. Après la puberté, ces testicules sont responsables d'azoospermie [51] [58] [67]. La fertilité estimée à 0% chez les cryptorchides bilatéraux et 35% chez les cryptorchides unilatéraux [16] [44].

Dans notre étude la découverte de la cryptorchidie avait été faite avant 4 ans chez 7 malades (5,00%), 4 d'entre eux n'ont été opérés qu'après 4 ans. dans notre étude la cryptorchidie présente chez un seul cas d'azoospermie.



-La varicocèle est la dilatation variqueuse des veines du plexus pampiniforme, ont été constatés que les patients infertiles avec varicocèle présentent un sperme avec une densité diminuée, et une diminution de la motilité et la morphologie anormale [5] [76].

Les varicocèles se trouvent dans environ 15% de la générale population masculine, ce constat indique que les varicocèles sont principalement acquises au cours de la puberté [36]. Dans notre étude 11% des hommes ont des varicocèles, 6% chez les hommes atteints de stérilité primaire, et 14% des cas d'infertilité secondaire. Cette donnée de prévalence soutient la thèse selon laquelle la varicocèle peut affecter la fonction des testicules, et cet effet peut être progressif avec le temps.

Les anomalies retrouvées au spermogramme sont une oligospermie (5 cas), et une asthénospermie (7 cas), oligo-asthéo-tératospermie (2 cas), et un cas d'azoospermie. Ces anomalies ne sont pas constatées, seuls 15 à 20% des hommes qui présentent une varicocèle consultent pour infertilité. Ainsi la majorité des hommes porteurs d'une varicocèle sont fertiles, bien qu'ils aient une numération de spermatozoïdes légèrement plus faible que la population générale [67] [76]. La corrélation entre l'importance de la varicocèle et la sévérité des anomalies du spermogramme n'est pas établie avec certitude [51] [82].

La température élevée du scrotum entraîne une déficience spermatogénèse. Ainsi, qu'une varicocèle unilatérale peut avoir des effets sur les deux testicules [46] [76] [82], l'augmentation de la température du scrotum aboutit à une faible synthèse de testostérone. (Pambou, 1984) l'ont déjà observé, certains stades de la spermatogénèse sont spécifiquement sensibles à des températures élevées [65].

## **II.6.Distribution des patients en fonction des habitudes de la vie.**

Il n'existe pas de différence statistiquement significative entre les 4 groupes (Alcooliques, Fumeurs, Drogueurs, et Sujet normal). Pour ce qui est de la numération des spermatozoïdes ( $28.4 \pm 0.8$  pour les non fumeurs vs  $27.5 \pm 0.6$  millions/ ml pour les fumeurs), du pourcentage de spermatozoïdes mobiles ( $28.9 \pm 1.6$  vs  $28.4 \pm 0.8$  % pour les alcooliques) et du dosage de testostérone ( $5.23 \pm 0.5$  vs  $5.20 \pm 0.2$  % pour les drogueurs. Le calcul du nombre de spermatozoïdes mobiles et morphologiquement normaux par ml (10,4, 10,6, 10,5 et 11,1 millions/ml dans les groupes 1 à 4 respectivement).

Selon l'OMS (1999), environ un tiers de la population de plus de 15 ans fume [89] [39]. Des études épidémiologiques ont montré que de manière dose-dépendante, la consommation de tabac conduisait à un retard à la conception [89] [91]. Dans plusieurs études, ont montré que le taux de l'infertilité diminué chez les grands fumeurs (plus de 10 cigarettes/jour) comparé aux non fumeurs [5] [34] [39].

**Tableau 8.** Répartition des sujets selon le mode de vie.

|               | Effectif | N <sup>ER</sup> DE<br>SPZ<br>millions/ml | MOBILITE<br>% | TES<br>µg/L | LH UI/L  | FSH<br>UI/L | Fruc g/l | L-Car<br>µmol/l. |
|---------------|----------|------------------------------------------|---------------|-------------|----------|-------------|----------|------------------|
| • Alcooliques | 7        | 28.1± 0.2                                | 28.4±0.8      | 5.22±0.3    | 4.56±0.3 | 7.55±1.1    | 3.48±0.7 | 0.29±0.1         |
| • Fumeurs     | 74       | 27.5± 0.6                                | 27.5±1.4      | 5.21±0.5    | /        | 7.50±1.3    | 3.23±0.5 | 0.33±0.2         |
| • Drogueurs   | 3        | 28.2± 0.3                                | 28.8±1.4      | 5.20±0.2    | /        | 7.81±0.8    | 3.55±0.3 | 0.39±0.2         |
| Sujet normal  | 56       | 28.4± 0.8                                | 28.9±1.6      | 5.23±0.5    | 4.60±0.7 | 8.40±0.4    | 3.56±0.7 | 0.38±0.7         |

Il s'agit d'une altération globale de la qualité du sperme et probablement d'une diminution du pouvoir fécondant [19] [34]. Il existe une différence dans le taux de FSH chez les hommes qu'il fume ou pas. Ainsi, après regroupement, le taux de FSH est de  $7.50 \pm 1,3$  UI/L chez les fumeurs et  $8.40 \pm 1,9$  UI/L chez les non fumeurs. Ces résultats sont en contradiction avec ceux (Collodel G et *al.*, 2009), qui montrent une diminution du taux de FSH chez les fumeurs [19] [34] [85] [91]. Dans notre étude, il n'existe pas d'azoospermie vraie en relation avec la quantité de cigarettes fumées, tout au plus une oligospermie ou on a 5 cas d'oligospermie chez les fumeurs [85] [91]. Ces données suggèrent que certains composants de la fumée de cigarette peuvent interagir de manière directe ou indirecte avec la qualité des gamètes, [85] [39] affectant leur fonction et leur viabilité [19] [39] [85] [91].

Il apparaît dans notre étude que le nombre des spermatozoïdes est plus élevé d'environ (3.5%) chez les non alcooliques que chez les alcooliques [91]. La vitesse des mouvements des spermatozoïdes serait plus démunie chez les alcooliques avec toutefois une diminution de la qualité de spermatozoïdes en termes de morphologie (4.1%). Ces résultats sont en désaccord avec la littérature [34] [29].

Nous n'avons pas observé de différence dans la numération, la mobilité et la morphologie des spermatozoïdes des drogueurs comparés aux non drogueurs. Or, la littérature est là encore conflictuelle. Selon (Hughes E et *al.*, 1996), la consommation de marijuana n'affecte pas les paramètres spermatiques conventionnels mais augmente de manière significative le nombre de cellules rondes et de leucocytes, source majeure de radicaux libres [19] [51] [85].

Pour conclure, notre étude n'a pas mis en évidence d'effets délétères majeurs de la consommation de tabac, alcool, drogue sur les gamètes. La littérature quand à elle est conflictuelle sur de nombreux points [39]. Cela est dû à de nombreux facteurs : nombre de patients, consommation journalière moyenne, durée de la consommation, etc.

## II.7. Distribution des patients selon les dosages hormonaux.

Les résultats du dosage hormonal des 140 patients exprimés en moyenne sont regroupés dans les tableaux (10, 11,12). Ces derniers montrent que la plus part des patients on un bilan hormonal normal, 121 cas soit (86.42%) et 19 cas sur 140 cas étudiés soit 13.57 % ont une perturbation hormonale.

Par ailleurs, on observe des hypo-testrironemies dans 6 cas, soit 4.29 % des cas globaux, une hyper-testrironemie chez 4 cas, soit 2.89 % des cas.

D'après les résultats de notre étude, Il est à noter que l'azoospermie est l'anomalie la plus touchée par des taux bas de FSH avec 2 cas suivie par l'hypospermie avec 1 cas.

Les polyspermies et la poly-asthenospermie sont les pathologies qui représentent des taux élevé de FSH un cas pour chaque anomalie.

Comme dans le cas de dosage de FSH, l'azoospermie est l'anomalie la plus touchée par des taux bas de LH avec 2 cas, soit 66.66% des cas, suivi par l'oligospermie avec 1 cas, par contre la polyspermie, la poly-asthenospermie, et oligo-asthéo-térato-necrospermies sont les pathologies qui représentent des taux élevés de LH, un cas pour chaque anomalie.

En fin pour le dosage de la testostérone, l'azospermie et hypospermie sont les anomalies les plus toucheés par l'hypo-testosteronimie avec 2 cas et l'oligo-asthéo-teratospermie, l'oligospermie 1 cas. Pour l'hyper-testostéronimie semble être majoritairement présentes dans le cas de polyspermie (3 cas), poly-astheospermie 1 cas et l'oligo-asthéo-teratospermie 1 cas.

L'hypogonadisme (6 cas soit 4.29 %) est défini comme un taux bas de testostérone avec LH normale ou élevée. Une mise en garde importante est que les faibles taux de LH ne sont pas toujours en corrélation avec les taux de FSH bas, et vice versa [15] [18] [31] [67].

Parmi 140 dosages hormonaux réalisés, on estime que 4 sur 100 hommes infertiles ont des niveaux bas de testostérone. L'hypogonadisme est défini comme un faible niveau de testostérone sérique totale (la plage normale, 200-800 ng / dL) qui peuvent être associés aux résultats cliniques tels que diminution de la libido [15] [67] [86], l'infertilité, des modifications dans la répartition des poils du corps [31] [86].

En 10/09/2011, le premier cas d'un hypogonadisme du à une LH biologiquement inactive a été rapporté chez un homme dans notre étude. Ce patient a consulté à l'âge de 19 ans pour un impubérisme, 3 de ses oncles maternels avaient consulté pour une infertilité. Son taux de LH était élevé, son taux de FSH normal et son taux de testostérone bas. Des injections répétées d'hCG exogène ont entraîné une augmentation de volume des testicules, une virilisation normale et un nombre de spermatozoïdes égal à 11 millions par millilitre [15].

Des taux anormaux LH, FSH n'indiquent pas nécessairement une spermatogenèse anormale [31]. Le taux de FSH est corrélé plus étroitement avec le nombre total de spermatogonies, et moins bien avec le nombre de spermatides matures, ou la numération des spermatozoïdes [15] [18] [58]. Les autres causes endocriniennes telles l'hypo/hyper LH, FSH n'ont pu être dépistées, Généralement, ces causes sont rares, inférieures à 1,5% de cas [15] [18] [31]. Nous avons observé une proportion assez élevée de troubles hormonaux (hyper/hypo LH, FSH, testostérone 17, 32%) par rapport aux valeurs rapportées par (Daroui, 2001).

**Tableau 10.** Répartition des sujets selon le dosage de testostérone.

| tes         | Nombre | Pourcentage |
|-------------|--------|-------------|
| < 2 µg/L    | 6      | 4.29%       |
| 2- 3.5 µg/L | 23     | 16.43%      |
| 3.5- 5 µg/L | 30     | 21.43%      |
| 5- 6.5 µg/L | 43     | 30.71%      |
| 6.5- 8 µg/L | 34     | 24.29%      |
| > 8 µg/L    | 4      | 2.86%       |

**Tableau 11.** Répartition des sujets selon dosage de LH.

| LH         | Nombre | Pourcentage |
|------------|--------|-------------|
| <2UI/l     | 3      | 2.14%       |
| 2-4.5UI/l  | 40     | 28.57%      |
| 4.5-7UI/l  | 37     | 26.43%      |
| 7-9.5UI/l  | 27     | 19.29%      |
| 9.5-12UI/l | 27     | 20.00%      |
| >12UI/l    | 4      | 2.86%       |

**Tableau 12.** Répartition des sujets selon dosage de FSH.

| FSH        | Nombre | Pourcentage |
|------------|--------|-------------|
| < 3 UI/L   | 3      | 2.14%       |
| 3-6 UI/L   | 34     | 24.29%      |
| 6-9 UI/L   | 36     | 25.71%      |
| 9-12 UI/L  | 33     | 23.57%      |
| 12-15 UI/L | 30     | 21.43%      |
| > 15 UI/L  | 4      | 2.86%       |

## II.7. Distribution des patients selon l'Etat des spermocultures

Sur la base des résultats des spermocultures nous avons recensé parmi les 140 spermocultures réalisées, 48 sont révélées positives et sont considérés comme cas pathologiques, tandis que 92 cas sont des cas normaux soit des taux de 34.29 % et 65.71 % respectivement (Tab. 13).

Les sujets ayant souffert au moins une fois d'urétrite infectieuse représentent 38,1 % des cas. Parmi les 48 cas pathologiques que nous avons recensé, deux germes majeurs sont observées (Fig.16) *Escherichia coli* 43,75 %. *treponema vaginalis* 22.92%, suivi respectivement par *Entérocoque* et *Staphylocoque doré* (16.67 % et 8.33%) des cas. Des germes à moindre fréquences sont aussi observés, tels que *pseudomonas aeruginosa* et *streptocoque* avec 2 cas.

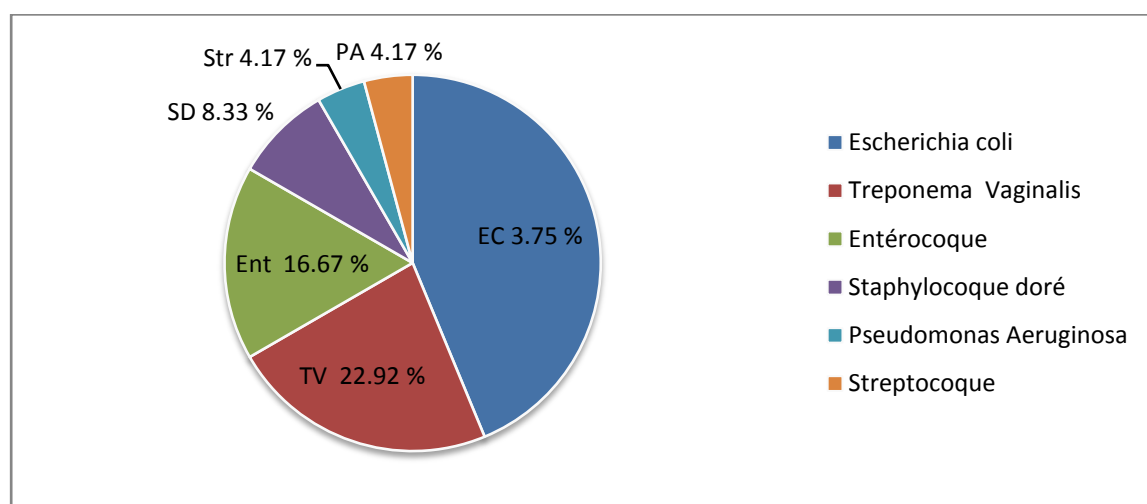
La répartition des germes selon la pathologie, consignée dans le tableau 14, l'asthénospermie et tératospermie semblent être les pathologies les plus touchées avec respectivement 15 et 10 cas sur 48 détectés soit (31,25% et 20,83 %), suivi de l'oligo-asthéo-térato-necrospermies et oligo-asthéo-necrospermies (7cas) soit 14,58 %. L'azoospermie et oligo-asthéo-tératospermie (5 cas soit 10,41%), asthéo- necrospermies, oligo-asthéo-tératospermies (3 cas, 6,25%).

Concernant le type de l'infertilité, *l'escherichia coli* et *Entérocoque* semblent être les causes principales de l'infertilité primaire avec respectivement 11 et 5 cas, suivi par *Treponema Vaginalis*, *Staphylocoque doré* avec (3et 2 cas) respectivement. Des cas isolés sont à noter pour *Pseudomonas Aeruginosa* et *Streptocoque*.

*Treponema Vaginalis* constitue le germe le plus rencontré chez le groupe des célibataires avec 8 cas/16 suivi d'*Escherichia coli* (5 cas). Pour l'infertilité secondaire. *Escherichia coli* (16 cas), *Entérocoque* (6 cas), *Treponema Vaginalis*

**Tableau 13.** Répartition des sujets selon l'état de spermocultures (+/-)

|                          | Effectif | %       |
|--------------------------|----------|---------|
| spermocultures réalisées | 140      | 100 %   |
| spermocultures négatives | 92       | 65.71 % |
| spermocultures positives | 48       | 34.29 % |



**Figure 16.** Répartition en pourcentage des sujets selon le germe qui cause l'infection.

**Tableau 14.** La répartition des germes selon la pathologie.

|                               | as | ter | azo | a.n | o.a.n | o.a.t | o.a.t.n | Nombre | Pourcentage |
|-------------------------------|----|-----|-----|-----|-------|-------|---------|--------|-------------|
| <b>Escherichia coli</b>       | 6  | 2   | 3   | 2   | 3     | 2     | 3       | 21     | 43.75       |
| <b>Treponema Vaginalis</b>    | 4  | 3   | 1   | /   | 1     | 1     | 1       | 11     | 22.92       |
| <b>Entérocoque</b>            | 1  | 2   | /   | 1   | 1     | 1     | 2       | 8      | 16.67       |
| <b>Staphylocoque doré</b>     | 1  | 1   | /   | 2   | /     | /     | /       | 4      | 8.33        |
| <b>Pseudomonas Aeruginosa</b> | 1  | /   | /   | /   | 1     | /     | /       | 2      | 4.17        |
| <b>Streptocoque</b>           | /  | /   | 1   | /   | /     | 1     | /       | 2      | 4.17        |
| <b>Total</b>                  | 15 | 10  | 5   | 3   | 3     | 5     | 7       | 48     | 100         |

**Tableau 15.** Répartition des sujets selon l'état de spermocultures (+/-) et le type de l'infertilité.

|              | Spermocultures positives |         |          |         |
|--------------|--------------------------|---------|----------|---------|
|              | Effectif                 | %       | Effectif | %       |
| Célibataires | 34                       | 24.29 % | 16       | 33.33 % |
| Mariés       | 106                      | 75.71 % | 32       | 66.67 % |
| Total        | 140                      | 100 %   | 48       | 100 %   |

-D'après (Jameson R et *al.*, 1981), les infections génitales figurent parmi les grandes causes de stérilité chez les hommes en Afrique. Il signale une incidence de 66,6% comme facteur de stérilité en Afrique [14]. Ce taux est supérieur aux 34.28% que nous avons observé.

Dans notre étude, la pathologie infectieuse génito-urinaire représente avec les troubles de la spermatogénèse le 2ème groupe étiologique de l'infertilité masculine. Les concentrations de leucocytes dans le sperme est un indicateur important pour l'infection ou une inflammation du tractus génital masculin [37] [58] [81]. L'infection peut induire une infertilité de différentes façons : réduction de la spermatogénèse (16.52%), induction de processus auto-immuns, dysfonctionnement des spermatozoïdes en particulier réduction de leur mobilité (27.08 %), occlusion inflammatoire des canaux éjaculateurs [14] [25] [37].

Beaucoup d'études ont fait le lien entre l'infection ou l'inflammation du tractus génito-urinaire masculin à l'infertilité masculine, l'impact de leucocytes dans le tractus génital masculin est complexe et pas totalement connu [56] [42]. Les faibles niveaux de globules blancs ont des effets positifs importants dans la phagocytose de spermatozoïdes anormaux [67]. Toutefois, dans la leukocytospermie peut avoir des effets nocifs sur le sperme et la fonction des spermatozoïdes et

peut entraîner l'infertilité masculine [14] [81] [37]. La concentration des spermatozoïdes, la motilité sont diminués, ainsi que l'augmentation anormale de la morphologie des spermatozoïdes anormaux et des cellules germinales immatures, sont signalés chez les hommes avec un leucocytospermie) [25] [56].

Les microorganismes infectieux provoquent des lésions tissulaires (épithélium et tissu conjonctif sous jacent) soit directement, soit par l'intermédiaire de leurs produits de sécrétion [42] [81]. L'inflammation résulte aussi du nombre de leucocytes activés et des cytokines qu'ils sécrètent [14] [58] [42].

Parmi les études effectuées qui montrent une aggravation des paramètres spermatiques par les leucocytes est celle de (Marcus H et *al.*, 1993) qui ont constaté que la leucospermie a été corrélée avec une baisse importante du nombre total de spermatozoïdes (-41%), du pourcentage des spermatozoïdes mobiles (-22%), de la vitesse des spermatozoïdes (-12%) ainsi que le nombre total des spermatozoïdes mobiles (-66%) ou encore la détérioration de la morphologie normale des spermatozoïdes [14] [37] [42] [81].

Dans notre série, nous n'avons pas pu, pour raisons divers (manques de réactifs), réaliser une recherche sur *Chlamydiae trachomatis*.

L'interprétation d'une spermoculture, est toujours délicate malgré les conseils de recueil précis, et difficilement informatif [67] [56]. La majorité de nos patients ont présenté un sperme de couleur beige jaunâtre, évocatrice de cellules exfoliées en grand nombre et vraisemblablement de colonies de germes [37] [42] [58].

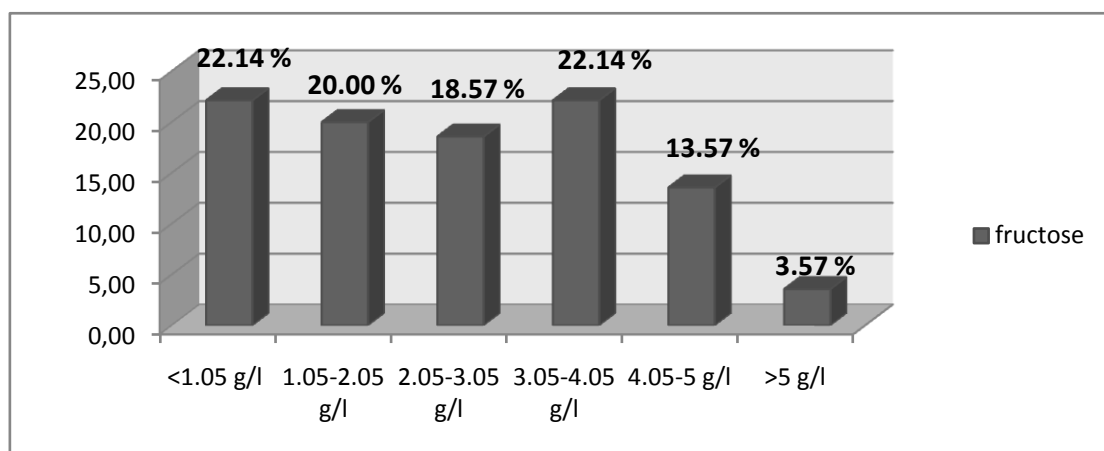
## II.8. Distribution des patients selon les dosages biochimiques.

Les résultats du dosage de marqueur biochimique du plasma séminal des 140 patients exprimés en moyenne sont regroupés dans les (Figures. 17, 18, 19).

Ces dernières montrent que les fréquences relatives des concentrations de fructose normal sont supérieures au fructose anormal soit des taux de 74.29 % et 22.71 % respectivement. De même pour les taux de l-carnitine avec des fréquences de 95 % et 5 % respectivement pour les taux normaux et anormaux. Par ailleurs pour le dosage de zinc avec les fréquences de 94.29% et 5.71 respectivement.

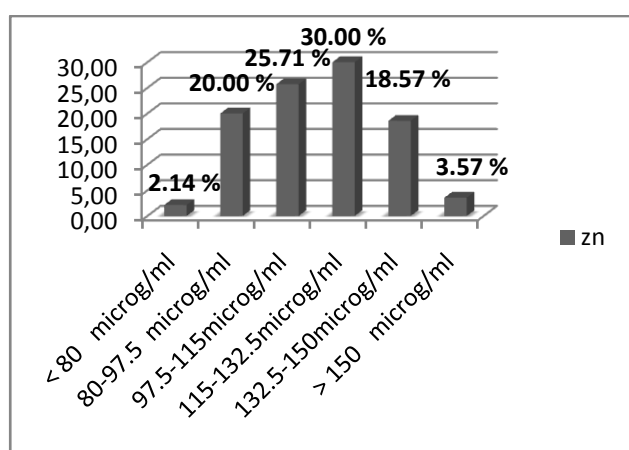
L'asthénospermie est la pathologie qui représente de prévalence la plus élevée de fructose anormal avec (22 cas/ 36) soit 61.11% des cas du fructose seminal anormal, suivi par oligo-astheno-terato-nicrospermie avec (4 cas/36). Des anomalies à moindre fréquence sont aussi observées, tels que polyspermie, azoospermie avec (2 cas/36). Enfin des cas isolés d'oligo-asthenospermie,

oligospermie, teratospermie, hepospermie, oligo-astheno-teratospermie, et poly-asthenospermie, il représente 4.28 % des cas étudiés (Tab. 16).

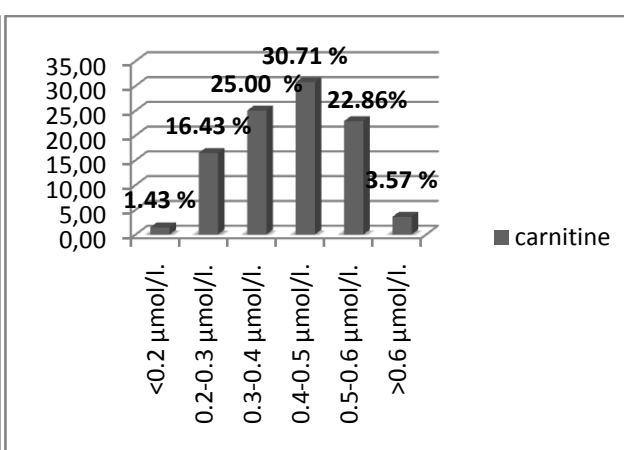


**Figure 17.** Répartition en pourcentage des sujets selon le dosage de fructose.

**Figure 18.** Répartition des sujets selon le dosage de zn



**Figure 19.** Répartition des sujets selon le dosage de carnitine.



**Tableau 16.** Répartition des dosages pathologiques sur les anomalies spermatiques

| Fructose         | as | oli | ter | pol | hep | azo | ol.as | p.a | o.a.t | o.a.t.n | Nombre | Pourcentage |
|------------------|----|-----|-----|-----|-----|-----|-------|-----|-------|---------|--------|-------------|
| <1.05 g/l        | 22 | 1   | 1   | /   | 1   | 2   | 1     | /   | 1     | 2       | 31     | 22.14 %     |
| >5 g/l           | /  | /   | /   | 2   | /   | /   | /     | 1   | /     | 2       | 5      | 3.75 %      |
| <b>Zn</b>        |    |     |     |     |     |     |       |     |       |         |        |             |
| < 80 µg/ml       | /  | /   | /   | /   | 1   | 2   | /     | /   |       | /       | 3      | 2.27 %      |
| > 150 µg/ml      | /  | /   | /   | 2   | /   | 1   | /     | 1   |       | 1       | 5      | 3.79 %      |
| <b>Carnitine</b> |    |     |     |     |     |     |       |     |       |         |        |             |
| <0.2 µmol/l.     | /  | /   | /   | /   | 1   | 1   | /     | /   | /     | /       | 2      | 1.52 %      |
| >0.6 µmol/l.     | /  | /   | /   | /   | /   | /   | /     | 1   | 1     | /       | 2      | 3.79 %      |



En ce qui concerne les dosages biochimiques, cette enquête semble être, la plus grande étude prospective corrélant le zinc séminal, les concentrations de fructose et les concentrations de l-carnitine avec la qualité du sperme.

Tout d'abord, il est important de préciser que les profils biochimiques ne permettent pas de prédire a priori la survenue d'infertilité, sauf lorsqu'ils mettent en évidence des déséquilibres majeurs et sauf dans le cas d'azoospermie excrétoire et éventuellement de localiser le niveau de l'occlusion [63] [67] [78]. La question de la corrélation entre la concentration de zinc dans le plasma séminal et la qualité du sperme est controversée [78]. (Navarro B et *al.*, 2008) a rapporté que les concentrations en zinc séminales ont été trouvées à être plus faible chez les patients souffrant d'infertilité idiopathique [63]. (Bourcigaux N et *al.*, 2008) ont trouvé que la concentration de zinc augmente avec nombre de spermatozoïdes augmenté [15].

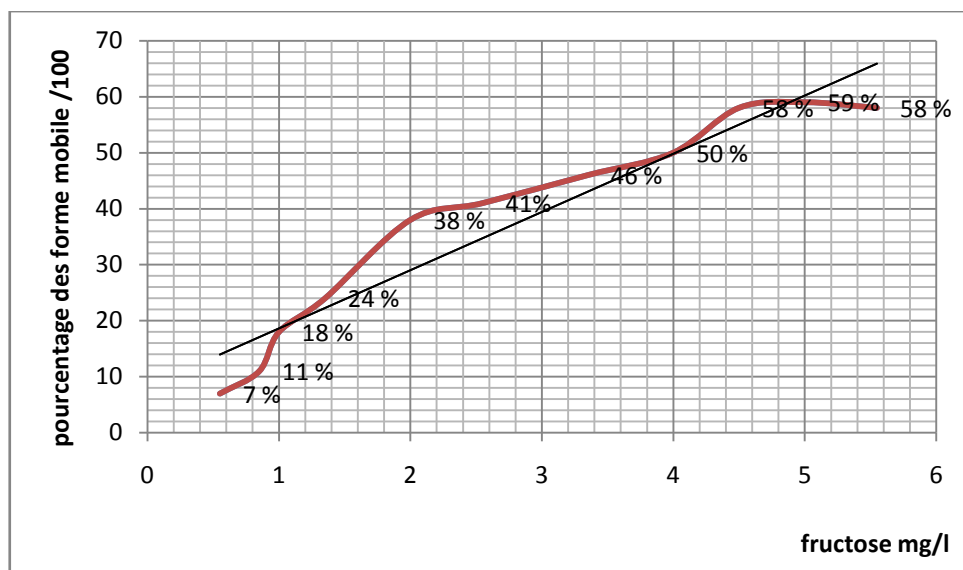
En revanche, (Soufir J et *al.*, 1983) ont trouvé une corrélation inversée entre les concentrations de zinc et la mobilité des spermatozoïdes [78]. Plusieurs études ont rapporté que la thérapie orale de zinc améliore la qualité séminale dans l'infertilité idiopathique [63]. Une enquête réalisée par (Darszon, A et *al.*, 1999) n'ont trouvé aucune corrélation entre les concentrations de zinc séminal, la densité du sperme, mobilité des spermatozoïdes, la morphologie des spermatozoïdes ou de l'âge du patient [23][63] [67]. Ceci pourrait expliquer nos résultats, les fréquences de 94.29% des cas ont des concentrations normales de zinc et 5.71% pour les concentrations anormales.

Une corrélation entre les concentrations de fructose séminal et l'activité séminale a été rapporté par (Soufir J et *al.*, 1983) qui ont rapporté que la concentration de fructose diminué avec une densité croissante de sperme. Pour tester l'hypothèse que l'augmentation de la concentration en fructose provoque une augmentation de l'activité du sperme plutôt que la mobilité de spermatozoïdes en raison de l'utilisation métabolique accrue, nous avons comparé le nombre total de spermatozoïdes mobiles progressivement avec la concentration en fructose et a trouver une corrélation positive significative entre ces deux paramètres.

La figure montre que la concentration du plasma séminal de fructose pour les patients avec un nombre de spermatozoïdes mobiles varie beaucoup d'un peu plus de 0,5 mg/ml - 6 mg/ml.

Dans notre étude 22.44 % des hommes ont des taux faibles de fructose séminale ce qui explique le taux élevé de l'asthenospermie (27,27%).

Par ailleurs, des concentrations normales de l-carnitine ont été observées chez les hommes infertiles de notre étude. Il est difficile de savoir si une carnitinopathie est réellement associée à l'infertilité [78].



**Figure 20.** La concentration du plasma séminal en fructose par rapport au pourcentage des spermatozoïdes mobiles

#### II.10. Distribution des anomalies selon la concentration des protéines séminales.

Les résultats du dosage de la concentration des protéines séminales sont regroupés dans le (tableau 17). Ces derniers montrent que la teneur en protéines séminales dans le cas des témoins est en moyenne de l'ordre de 23,52 g/l. par contre l'asthenospermie et un peu bas avec une concentration moyenne de  $23,31 \pm 2,30$  g/l, la polyspermie dont la teneur moyenne est de 23,11 g/l et la polyasthénospermie avec une concentration moyenne de 23,05 g/l. pour les autres cas pathologiques, la concentration en protéines séminales est plus faible surtout dans les cas des oligo-astheno-térato-necrospermies et des hypospermies avec des teneurs respectives de  $18,95 \pm 0,58$  g/l et  $19,33 \pm 1,07$  g/l.

L'analyse protéomique profonde du liquide séminale humain a révélé plus de 900 protéines [6] [62]. Dont les fonctions prédominantes sont la formation du coagulum et la liquéfaction [38], protection et support métabolique pour les spermatozoïdes, et aussi des fonctions immunologiques importantes jugées par le nombre important des protéines liées à ces fonctions [6] [55]. Cette analyse a révélé aussi qu'un nombre important des protéines extracellulaires incluant plusieurs protéases représentent les deux tiers du protéome du liquide séminal [30] [72].

Certaines protéines du plasma séminal humain sont identiques aux protéines du sang tels que l'albumine, glycoprotéines, globuline, inhibiteur de l'acrosine et transferrine et que d'autres protéines peuvent s'infiltrer dans le plasma séminal par leur largage à partir des spermatozoïdes malformés ou morte [62] [87]. (Montagnon D et *al.*, 1990) a rapporté que la contenance en protéines du plasma séminal varie entre 20 et 60 g /l. Une étude récente sur les protéines du liquide

séminal humain menée par (Manjunath P et *al.*, 2002), a montré que la concentration des protéines du liquide séminal humain se situe dans l'intervalle de 35 à 55 g/l [72] [55] [38] [30]. Tandis que la concentration moyenne des protéines totales dans notre étude était  $23,52 \pm 1,60$  g/l.

**Tableau 17.** Concentration moyenne en protéines totales du liquide séminal des cas étudiés.

| pathologie                       | Nombre de cas | Concentration $\pm$ DS g/l |
|----------------------------------|---------------|----------------------------|
| Témoins                          | 8             | $23,52 \pm 1,60$           |
| Asthenospermie                   | 36            | $23,31 \pm 2,30$           |
| Oligo-asthéo-térato-necrospermie | 15            | $18,95 \pm 0,58$           |
| Oligo-asthénospermie             | 12            | $21,25 \pm 1,77$           |
| Oligo-asthéo-tératospermie       | 10            | $19,25 \pm 1,64$           |
| Tératospermie                    | 8             | $21,27 \pm 1,46$           |
| Oligospermie                     | 7             | $20,63 \pm 2,11$           |
| Asthénotératospermie             | 7             | $22,69 \pm 1,49$           |
| Azoospermie                      | 7             | $20,79 \pm 1,07$           |
| Asthéo-térato-necrospermie       | 7             | $22,31 \pm 1,84$           |
| hypospermie                      | 5             | $19,33 \pm 1,07$           |
| Polyspermie                      | 4             | $23,11 \pm 0,95$           |
| Polyasthénospermie               | 3             | $23,05 \pm 1,09$           |
| Necrospermies                    | 3             | $22,68 \pm 1,02$           |
| Asthéo-necrospermies             | 3             | $22,85 \pm 1,06$           |
| Oligo- asthéo-nercrospermies     | 3             | $22,31 \pm 1,26$           |
| Aktheno-oligospermie             | 2             | $22,51 \pm 1,23$           |

Selon la littérature il y a des différences dans les teneurs en protéines totales du plasma séminal de l'être humain, et il est difficile de mesurer avec exactitude la concentration des protéines qui dépend fortement des techniques de dosage utilisées.

Nos résultats concordent avec ce qui a été trouvé par (Rothe G, 1994), ces derniers ont constaté chez les azoospermiques des valeurs supérieures que les oligospermiques nous laissent partager la suggestion que les tubules séminifères des azoospermiques secrètent anormalement des degrés élevés de substances protéiques [74]. Même l'indépendance de taux des protéines des autres paramètres du spermogramme est appuyée par l'étude de (Manjunath P et *al.*, 2002) qui ont conclu

que la concentration des protéines totales dans le plasma séminal n'a pas de relation avec le nombre des spermatozoïdes [55].

### II.11. Electrophorèse des protéines du liquide séminal sur gel polyacrylamide.

Les profils électrophorétiques des protéines séminal, recensant la totalité des bandes visibles (35 bandes numérotées dans un ordre croissant selon le sens de la migration), sont rapportés en (Figure 29).

Les profils correspondant aux différents cas sont caractérisés par la présence et/ou l'absence des bandes caractéristiques, comparés au profil électrophorétique relatif au témoin.

Le profil correspondant à l'Asthenospermie présente un profil électrophorétique avec l'absence des bandes n° 12-14-21-27-32.

Les patrons les plus proches à celle de témoin sont les patrons représentant les cas pathologiques d'asthenospermie, l'azoospermie, et l'oligospermie avec l'absence de 5 bandes pour chaque cas.

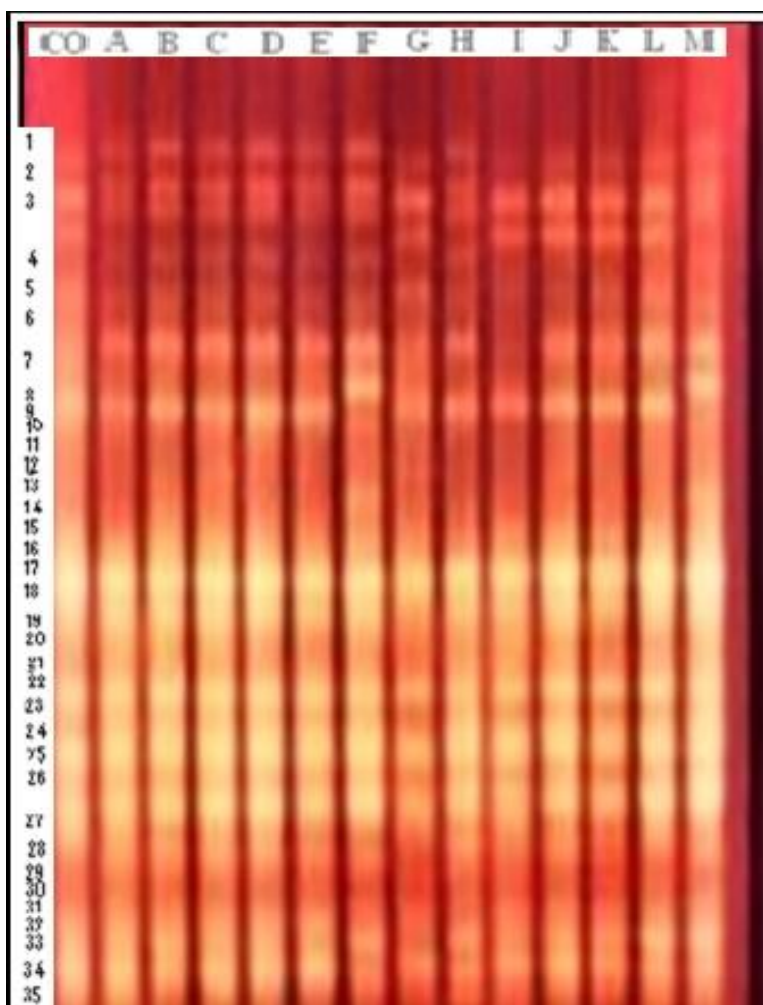
Dans le cas de l'hypospermie on note l'absence de 11 bandes. Dans le cas d'azoospermie, cette dernière est caractérisée par l'absence de 5 bandes 4-5-18-30-32.

La synthèse des résultats de l'électrophorèse des protéines totales du plasma séminal indique, que les cas pathologiques sont caractérisés par l'absence de plusieurs bandes protéiques. Le nombre de bandes protéiques absentes varie de 5 à 11 bandes protéiques selon les cas pathologiques analysés.

La bande protéique numéro 34 est absente dans un cas seulement, il s'agit de l'hypospermie. Il est à noter que c'est la pathologie qui représente aussi l'absence du plus grand nombre de bandes protéiques, 11 bandes au total. Par ailleurs, la bande 2 est absente dans 3 cas sur les 13 cas pathologiques analysés. De même pour la bande protéique 6 et la bande protéique 10 et 32. D'autres parts, les bandes protéiques 5, 31, et 33 sont absentes dans 4 cas sur les 12 cas pathologiques.

Concernant les bandes protéiques 14, 21, et 30 sont absentes dans 5 cas sur les 12. La bande 12 est caractérisée par son absence dans la moitié des cas pathologiques étudiés à savoir 6 cas sur un total de 12. Dans le cas des asthénospermies et les oligo-asthéo-térato-necrospermies, nous avons trouvé des différences dans l'asthénospermie par rapport au contrôle par absence des bandes 12-14-21-27-32 et dans les oligo-asthéo-térato-necrospermie par l'absence des bandes 4-5-6-7-18-21-27 ce qui concorde pas avec les résultats de (Zagheb, 2007).

Les résultats hétérogènes et non concordants peuvent être expliqués en grande partie par les différences dans les protocoles d'extraction des protéines et/ou des méthodes de techniques électrophorétiques réalisées, ajoutés aux conditions de prélèvements, de manipulations et de stockage [6] [30].



**Figure 21.** SDS PAGE des protéines du liquide séminal.

Co: Normospermie , A : Asthenospermie, B : Polyasthénospermie, C: Oligo-asthénospermie, D: Polyspermie, E: Azoospermie, F: Oligospermie, G: Oligo-asthéo-térato-necrospermie, H: Oligo-asthéo-tératospermie, I: Tératospermie, J: Asthénotératospermie, K: Asthéo-térato-necrospermie, L: Tératospermie, M: Oligoasthénospermie

## Conclusion générale

Nos résultats confirment qu'à Batna les couples avec problèmes de stérilité sont estimés à 12,3%, dans le problème de stérilité reconnaît des causes multifactorielles avec des associations fréquentes.

Les résultats de notre étude permettent de préciser que la stérilité masculine représente 13,8 % des admissions des malades dans le service d'urologie du CHU de Batna et 32,2% de clinique les rosiers. Ce qui indique une importante prévalence de l'infertilité masculine dans les batneens, comme ailleurs dans différentes régions en Algérie où d'autres études similaires qui ont été effectuées. La différence constatée entre nos résultats et les résultats d'autres études rapportées par la littérature, pourrait s'expliquer d'une part, par les critères de diagnostique des anomalies spermatiques qui ne sont pas les mêmes, de plus dans certaines études, les méthodologies employées, les paramètres inclus et les techniques d'analyses, auraient pu être des facteurs déterminants dans les résultats observés. Dans la plupart des études, les populations ne sont pas bien définies. L'homogénéité de groupes d'études, le mode de recrutement et le statut de fertilité ne sont pas détaillés.

En plus les valeurs de normalité établies par l'OMS ont été modifiées entre 2000 et 2011 et elles le seront probablement dans le manuel de l'OMS de 2012. L'oligozoospermie est évoquée lorsqu'il y a une concentration spermatique égale à 20 millions/ml, l'asthénozoospermie pour un taux égale à 25% de formes fléchantes ou égale à 50% de formes mobiles et la tératozoospermie pour un taux égale à 30% de formes normales, selon les normes de l'OMS de 2000. Si on comparait ces valeurs avec celles de 2011, on observait qu'il y ait une diminution dans les valeurs due pour une grande partie, aux travaux obtenus par la FIV montrant l'obtention de grossesse avec des valeurs parfois bien inférieures à celle de l'OMS.

Les troubles de la fertilité masculine restent souvent inexpliqués puisque 20% des patients ont une étiologie étiquetée comme idiopathique dans notre série.

Après les discussions des résultats obtenus, il est important de considérer que notre étude a été réalisée dans les conditions de terrain. C'est une étude importante, sur 140 hommes, et d'une durée de 10 mois. Elle comporte donc certaines insuffisances, en particulier des enregistrements ou des examens incomplets dans certains cas. En outre, il n'a pas été possible d'étudier l'intervention de différents facteurs sur les performances de reproduction car le plan d'expérience était incomplet, certaines conditions n'étant pas représentées

## Références bibliographiques

- [1]-**Auger J, Jouannet P., (2005).** Age and male fertility: biological factors. *Rev Epidemiol Sante Publique*; 53:2S25-2S35.
- [2]-**Auger J, Jouannet P., (1993).** Analyse du sperme et de l'interaction des spermatozoïdes avec le mucus cervical. *Manuel de Laboratoire de l'OMS. Editions INSERM*; Traduction.
- [3] -**Auger, J., J. M. Kunstmann, et al., (1995).** "Decline in semen quality among fertile men in Paris during the past 20 years." *N Engl J Med* 332(5): 281-5.
- [4]-**Auroux M., (1996).** Traitement de la stérilité du couple : y a-t-il un âge limite chez l'homme. *Contracept Fertil Sex*; **24**: 9-10.
- [5]-**Avidan, N., H. Tamary, et al., (2003).** A human autosomal nonsyndromic male infertility gene. *Eur.J.Hum.Genet.* 11(7): 497-502.
- [6]-**Ayagari RR, Fazleabas AT, Dawood MY., (1987).** Seminal plasma proteins of fertile and infertile men analyzed by two-dimensional electrophoresis. *Am J Obstet Gynecol.* 157(6):1528.
- [7]-**Bai J, Sun L, Ma JL, Cong YL., (2006).** Study of two electrophoresis procedures of seminal plasma proteins. *Zhonghua Nan Ke Xue.*12(4):291-4.
- [8]-**Bajos N., (2007).** Enquête Contexte de la Sexualité en France. Premiers résultats. Inserm/Ined,
- [9]-**Baldi, E., M. Luconi, et al., (2000).** Intracellular events and signaling pathways involved in sperm acquisition of fertilizing capacity and acrosome reaction. *Front Biosci* 5: E110- 23.
- [10]-**Barnea ER, Holford TR, Mc Innes DRA., (1985).** Long Term Prognosis of Infertile Couples with normal basic investigations : a life-table analysis. *Obstet Gynecol*; 66 : 24-26.
- [11]-**Bianchi-Demicheli F et al. (2003).** Aspects Sexologiques de la Médecine de la Reproduction. *Médecine&Hygiène*, 2429.
- [12]-**Blanc B. et Porcu G., (2002).** Stérilité. Collection stratégie diagnostique et thérapeutique en gynécologie. Editions : Arnette. 19 p-462p.
- [13]-**Bleil, J. D. and P. M. Wassarman.,(1980).** Mammalian sperm-egg interaction: identification of a glycoprotein in mouse egg zonae pellucidae possessing receptor activity for sperm." *Cell* 20(3): 873-82.
- [14]-**Boudry P., (2000).** Mycoplasmes urogénitaux. Implications en pathologie humaine. *Rev Assoc bel Technol Lab*; **27** : 14-31.
- [15]-**Bourcigaux N. et Christin-Maitre S., (2008).** Dosages hormonaux chez l'homme infertile. *Gynécologie Obstétrique & Fertilité* (36) : 551–556.

## *Références bibliographiques*

---

- [16]-**Bourrit B., (2007).** Consultation de Stérilité: du Technocrate au Médecin de Famille. Mémoire de Gynécologie Psycho- Somatique. Fondation Genevoise pour la Formation et la Recherche Médicales.
- [17]-**Cabau A., (1983).** Conduite à tenir devant un couple stérile et hiérarchie des examens. *Rev Prat*; **33** : 1611-1674.
- [18]-**Carpino A. et Siciliano L., (1998).** Unaltered Protein Pattern/Genital Tract Secretion Marker Levels in Seminal Plasma of Highly Viscous Human Ejaculates .Systems Biology in Reproductive Medicine, Volume 41, Issue 1 July, pages 31 – 35.
- [19]-**Collodel, G. S. Capitani, et al., (2009).**"Semen Quality of Male Idiopathic Infertile Smokers and Nonsmokers: An Ultrastructural Study." *J Androl*.
- [20]-**Cranz C., Mantagnon D., Brun B. et Clavert A., (1981).** Interprétation des asthénospermies en fonction des paramètres du spermogramme. *J. Gyn. Obst. Biol. Repr.* 10, 137 – 140.
- [21]-**Daroui Mokaddem H., (2001).** Exploration cytologique et biochimique dans l'hypoinfertilité masculine. Thèse de magistère en biochimie appliquée. Faculté des sciences de la nature et de la vie. Université d'Annaba .91pp. Algérie.
- [23]-**Darszon, A. P. Labarca, et al., (1999).** Ion channels in sperm physiology. *Physiol Rev* 79(2): 481-510.
- [24]-**De la Calle JFV, Rachou E, le Martelat MT, Ducot B, Multigner L, Thonneau PF., (2001).** Male infertility risk factors in a French military population. *Hum Reprod*; **16**: 481-486.
- [25]-**Deslypere JP, Vermeulen A. (1999)** : Leydig cell function in normal men: effect of age, lifestyle, residence, diet, and activity. *J Clin Endocrinol Metabol*; 59:955-62.
- [26]-**Deutscher M. P., (1990).** Guide to protein purification. Methods in enzymology. N° 182 .Edition: Academic Press. USA
- [27]-**Dor J, Homburg R, Rabau E., (1977).** An evaluation of etiologic factors and therapy in 665 infertile couples. *Fertil Steril*; **28** : 718-722.
- [28]-**E. Blanc, P. Meria, O. Cussenot., (1998).** Anatomie chirurgicale des organes génitaux masculins externes. EMC Techniques chirurgicales – Urologie, 41-390.
- [29]-**Edwards, R. G. and C. E. Bishop., (1997).** "On the origin and frequency of Y chromosome deletions responsible for severe male infertility." *Mol Hum Reprod* 3(7): 549-54.
- [30]-**Emara SH. et Farid M., (1978).** Total proteins and electrophoretic patterns in seminal plasma of normospermic, azoospermic and oligospermic men. *Acta Med Acad Sci Hung.* 35(2):167-71.



## *Références bibliographiques*

---

- [31]-**Empereire JC., (1995).** Le praticien devant un couple stérile. Gynécologie Endocrinienne du Praticien. Bases Thérapeutiques et conduite pratique. 5ème édition refondue corrigée et augmentée. Editions Frison Roche, Paris: 90-104.
- [32]-**Esposito, G., B. S. Jaiswal, et al., (2004).** "Mice deficient for soluble adenylyl cyclase are infertile because of a severe sperm-motility defect." *Proc Natl Acad Sci U S A* 101(9).
- [33]-**Flesch, F. M., E. Wijnand, et al., (2001).** "Capacitation dependent activation of tyrosine phosphorylation generates two sperm head plasma membrane proteins with high primary binding affinity for the zona pellucida." *Mol Reprod Dev* 60(1): 107-15.
- [34]-**Gandini L, Lenzi A, Culasso F, Pacifici R, Zuccaro P, Dondero F., (1997).** The in vitro effects of nicotine and cotinine on sperm mobility. *Human Reprod*; 12:727-33.
- [35]-**Gnoth C., (2005).** Definition and Prevalence of Subfertility and Infertility. *Human Reproduction*,20 (5):1144-1147.
- [36]-**Grimes, D. A. and L. M. Lopez., (2007).** "Oligozoospermia," "azoospermia," and other semen-analysis terminology: the need for better science." *Fertil Steril* 88(6): 1491-4.
- [37]-**Hargreave TB., (1993).** Male accessory gland infection. *Andrology in the Nineties* Review lecture; 4: 21-24.
- [38]-**Hervann A., Gonzales J., Diemert MC. Galli J., (1987).** Determination of total protein in human seminal plasma. *Andrologia*. :19 Spec No:233-7.
- [39]-**Hughes EG, Brennan BG., (1996).** Does cigarette smoking impair natural or assisted fecundity? *Fertil Steril*; 66:679-89.
- [40]-**Imade GE, Towobola OA, Otubu JAM, Sagay AS., (1993).** Medico-social factors associated with male infertility. *Andrology in the Nineties*; 4: 21-24.
- [41]-**J. Schlosser, I. Nakib, F. Carré-Pigeon, F. Staerman., (2006).** EMC Infertilité masculine: définition et physiopathologie. *Urologie*.
- [42]-**Jameson, R. M., (1981).** "Clinical aspects of infections associated with male infertility: a review." *J R Soc Med* 74(5): 371-3.
- [43]-**Jezek D, Knuth UA, Schulze W., (1998).** Successful testicular sperm extraction (TESE) in spite of high serum follicle stimulating hormone and azoospermia: correlation between testicular morphology, TESE results, semen analysis and serum hormone values in 103 infertile men. *Hum Reprod*. May;13(5):1230-4.
- [44]-**Jian Pei Ph., (2005).** Quantitative Evaluation of Spermatozoa Ultrastructure after Acupuncture Treatment for Idiopathic Male Infertility. *Fertility and Sterility*, 84(1):141-147.
- [45]-**JP Bailleul, B. Mauroy., (1991).** Anatomie du testicule, des voies spermatiques et des bourses. EMC Urologie 18-600-A-10.

## *Références bibliographiques*

---

- [46]-**Jung A. et Schuppe H.C., (2007).** Influence of Genital heat stress on semen quality in humans *Andrologia* 39, 203–215.
- [47]-**Kelton Tremellen., (2008).** Oxidative stress and male infertility a clinical perspective. *Human Reproduction Update*, Vol.14, No.3 pp. 243–258.
- [48]-**Kidd SA, Eskenazi B, Wyrobek AJ., (2001).** Effects of male age on semen quality and fertility: a review of the literature. *Fertil Steril*; 75:237-48.
- [49]-**Kolettis P., (2003).** Evaluation of the Subfertile Man. *American Family Physician*, 67:10.
- [50]-**Lemmens G et al., (2004).** Coping with Infertility: a Body-Mind Group Intervention Programme for Infertile Couples. *Human Reproduction*, 19(8):1917-1923.
- [51]-**Leridon H., (2004).** Can Assisted Reproduction Technology Compensate for the Natural Decline in Fertility with Age? A Model Assessment. *Human Reproduction*, 19(7):1548-1553.
- [52]-**Letur-Könirsch H, Olivennes F, Raoul-Duval A, Frydman R., (1993).** Techniques, interrogations et résultats de la procréation médicalement assistée. *Pediatric*; **48** : 872-82.
- [53]-**Lindemann, C. B, et al. and K. S. Kanous., (1989).** "Regulation of mammalian sperm motility." *Arch Androl* 23(1): 1-22.
- [54]-**Mack, S. R., J. Everingham, et al., (1986).** "Isolation and partial characterization of the plasma membrane from human spermatozoa." *J Exp Zool* 240(1): 127-36.
- [55]-**Manjunath, P. And I. Therien., (2002).** "Role of seminal plasma phospholipid-binding proteins in sperm membrane lipid modification that occurs during capacitation" *J Reprod Immunol* 53(1-2): 109-19.
- [56]-**Marcus ZH, Ejanashvilli N, Meidan Y, Lewin L., (1993).** Detection of infection in the genital tract. *Andrology in the Nineties*; 4: 21-24.
- [57]-**Matzuk, M. M. and D. J. Lamb., (2008).** The biology of infertility: research advances and clinical challenges." *Nat Med* 14(11): 1197-213.
- [58]-**Mauvais-Javis P., (1986).** Médecine de la reproduction masculine. 2ème ed. Edition: Flammarion.
- [59]-**Mbadinga-Mupangu KN, Silou M, Binimbi M., (1993).** Considerations on the spermiogram and spermocytogram of Congolese diabetes. *Andrology in the Nineties*; 4 : 21-24.
- [60]-**Merviel P., (2003).** Infertility of Couples. The First Consultation Approach. *Revue Praticien*, 53(4):429-35.
- [61]-**Millet D., (1981).** L'alcalinisation cervico-vaginale dans le traitement de la stérilité du couple. *Gynecologie*; 32 : 355-358.

## *Références bibliographiques*

---

- [62]-**Montagnon D, Valtat B, Vignon F, Koll-Back MH., (1990).** Secretory proteins of human seminal vesicles and their relationship to lipids and sugars. *Andrologia*. 22 Suppl 1:193-205.multiplicity." *Reproduction* 131(6): 977-88.
- [63]-**Navarro, B., Y. Kirichok, et al., (2008).** "Ion channels that control fertility in mammalian spermatozoa." *Int J Dev Biol* 52(5-6): 607-13.
- [64]-**Oates RD., (2008).** The genetic basis of male reproductive failure. *Urol Clin North Am*;35:257-70.
- [65]-**Pambou., (1999).** Facteurs étiologiques de la stérilité conjugale au Congo. *Thèse Méd. Brazzaville*.
- [66]-**Passos EP., (2003).** Follicle stimulating hormone as predictor of mobile spermatozoa in testicular biopsy of azoospermic patients. *Rev Assoc Med Bras*. 2003 Apr-Jun;49(2):167-72.
- [67]-**Phillip E. Patton, MD and David E. Battaglia, Ph., (2005).** Office andrology. Humana Press Inc.309:11-37.
- [68]-**Pinatel M C., (1985).** Spermogramme: technique de réalisation . *Ann.Biol.Clin* (43): 49 – 53.
- [69]-**Poongothai, J. (T. S. Gopenath, et al., (2009).** "Genetics of human male infertility." *Singapore Med J* 50(4): 336-47.
- [70]-**Ren, D. B. Navarro, et al., (2001).** "A sperm ion channel required for sperm motility and male fertility." *Nature* 413(6856): 603-9.
- [71]-**Rives N, Milazzo JP, Vaudreuil L, Macé B., (2005).** Congélation du tissu germinal chez le garçon. *EMC Gynécologie Obstétrique et Fertilité*;33:615-619.
- [72]-**Robin G, et al., (2010).** Bilan d'une azoospermie et evaluation histologique de la spermatogenèse. *Annales de pathologie* (2010), doi: 10.1016/j.annapat..03.015.
- [73]-**Rosenlund B, Kvist U, Ploen L, Rozell BL, Sjoblom P, Hillensjo T., (1998).** Comparison between open and percutaneous needle biopsies in men with azoospermia. *Hum Reprod* 13:1266-71.
- [74]-**Rothe G.M., (1994).** Electrophoresis of enzymes. Laboratory methods. Editions: Springer Verlag .Germany 127p – 139p.
- [75]-**Rougerie G, Vidal R., (1979).** .La stérilité. Problème majeur en consultation gynécologique. Etude à propos de 7412 cas. Premières Journées Médicales du Gabon. *Med Afr Noire*
- [76]-**Schiff JD, Li PS, Goldstein M., (2004).** Correlation of ultrasonographic and orchidometer measurements of testis volume in adults. *BJU Int*;93:1015-7.

## *Références bibliographiques*

---

- [77]-**Schlegel PN, Su LM., (1997).** Physiological consequences of testicular sperm extraction. Hum Reprod; 12:1688-92.
- [78]-**Soufir J-C., (1983).** Exploration biochimique du sperme humain. Rev Prat. (33) 57: 3141 – 3147.
- [79]-**Souza CA, Cunha Filho JS, Santos D, Gratão AA, Filippou L, Tedesco C, Freitas F., (1997).** sperm retrieval by percutaneous fine needle sperm aspiration compared with testicular sperm extraction by open biopsy in men with non-obstructive azoospermia. Hum Reprod;12:1488-93.
- [80]-**Spira A., (1986).** Epidemiology of Human Reproduction. Human Reproduction, 1:11-115.
- [81]-**Tardieu JC, Cribier B, Mezrahi P, Le Faou A ., (1994).** Urétrite masculine et fertilité in Progrès en Andrologie 5. La voie séminale et ses glandes; Chap 11 : 123-130.
- [82]-**Thonneau P, Marchand S, Tallec A, Ferial ML, Ducot B, Lansac J, et al., (1988-1989).** Incidence and main causes of infertility in a resident population (1,850,000) of three French regions Hum Reprod 1991;6:811—6.
- [83]-**Thonneau P. et Bujan L., (1993).** Epidémiologie de l'infécondité masculine. Rev. Prat. (43) 8 : 936 – 940.
- [84]-**Tournaye H, Verheyen G, Nagy P, Ubaldi F, Goossens A, Silber S, et al., (1997).** Are there any predictive factors for successful testicular sperm recovery in azoospermic patients? Hum Reprod;12:80-6.
- [85]-**Vine MF, Margolin BH, Morrison HI, Hulka BS., (1994).** Cigarette smoking and sperm density: a meta-analysis. Fertil Steril;61:35-43.
- [86]-**Wagner L., (2004).** Androgènes, vieillissement masculin et fertilité. Progrès en urologie 14 5 :769 776.
- [87]-**Wassarman, P. M., (1990).** "Profile of a mammalian sperm receptor." Development 108(1): 1-17.
- [88]-**Yanagimachi, R., (1994).** "Fertility of mammalian spermatozoa: its development and relativity." Zygote 2(4): 371-2.
- [89]-**Zavos PM,Correa JR, Antypas S, Zarmakoupis-Zavos P, Zarmakoupis C., (1998).** Effect of seminal plasma from cigarette smokers on sperm viability and longevity. Fertil Steril;3:425-9.
- [90]-**Zegheb, F., (2007).** Les infertilités masculines : étude cytologique et biochimique Thèse de magister en biochimie. Université de Constantine.147 pp. Algérie.
- [91]-**Zitzmann M, Rolf C, Nordhoff V, Schröder G, Rickert-Föhring M, Gassner P et al., (2003).** Male smokers have a decreased success rate for in vitro fertilization and intracytoplasmic sperm injection. Fertil Steril;79 (suppl 3):32-6.

## **Annexe I.**

### **Protocole de coloration papanicolaou (Inter Medico<sup>®</sup>)**

#### **(colorant de Papanicolaou rapide)**

- 1-En mis le frottis dans Alcool à 80% puis 70% puis 50%.
- 2-Rinçage par l'eau distillée.
- 3-Hematoxyline pendant 3 min puis rinçage par l'eau courant.
- 4-Ethanol acide puis rinçage par l'eau courant pendant 3 min.
- 5-Solution de Scott<sup>c</sup> pendant 4 min puis rinçage par l'eau courant.
- 6-Alcool à 50% puis 70% puis 80% puis 90%.
- 7-Orange G6<sup>d</sup> pendant 2 min.
- 8-EA-50<sup>d</sup> pendant 5 min.
- 9-Alcool à 95 % (immerger 5 fois) puis alcool 99.5% pendant 2 min.
- 10-Xylol (3 bains) environ 2 min.

A la fin on sortit de la coloration, on plonge les lames dans un bain d'une solution de type histosol plus, puis sécher les lames a l'air libre pendant 12 heures a plat.

## **Annexe II.**

### **Technique de coloration de Gram (spine react<sup>®</sup>)**

#### ***1-Préparation d'un frottis à partir d'une gélose***

1. Délimiter la zone du frottis à l'endos de la lame en traçant un cercle.
2. Déposer une gouttelette d'eau du robinet dans la zone délimitée.
3. Flamber l'anse de platine jusqu'à ce qu'elle devienne rouge.
4. Trouver une colonie isolée sur la gélose
5. Toucher à cette colonie avec l'anse de repiquage.
6. Émulsionner les bactéries prélevées dans la gouttelette d'eau.
7. Fixer le frottis à la chaleur.
8. Débuter la coloration.

#### ***2-Procédure de la coloration de Gram***

1. Couvrir les lames avec le cristal violet. Laisser agir 60 secondes. Rincer à l'eau courante. Enlever le surplus d'eau.
2. Couvrir les lames avec la solution d'iode pendant 1 minute. Rincer soigneusement avec l'eau du robinet. Enlever le surplus d'eau.
3. Couvrir les lames avec le mélange d'alcool-acétone pendant 10 secondes. Rincer à l'eau du robinet. Enlever le surplus d'eau.
4. Couvrir les lames avec la safranine. Laisser agir 60 secondes. Rincer à l'eau courante. Enlever le surplus d'eau.

## **Annexe III.**

### **Electrophorèse des protéines (BioMerieux®)** **(Les volumes des différents constituants)**

#### ***1-Gel de concentration 5%***

-5ml d'Acrylamide 29/1 (40%)

-5 ml de Tris-HCl 1M pH 6.8

-200µl de SDS 20%

-29,6ml de H<sub>2</sub>O

-200 µl d'APS 10%

-40 µl de TEMED

Volume final = 40 ml

#### ***2-Préparation des solutions stock***

-Solution d'acrylamide

-60g Acrylamide 30%

-1,6g Bis acrylamide 0,8%

-200 ml Eau distillée

#### ***3-Tampon du gel de séparation (resolving gel buffer) : Tris-HCl 3M pH 8,8***

-72,7g Tris 3M

-1,6g SDS 0,8%

-0,8 ml Mercaptoéthanol (MCE)

-200ml Eau distillée QSP

Adjuster à pH 8,8 avec HCl

#### ***4-Préparation du tampon de migration (running buffer)***

-1,06 g Tris 0,025 M

-5,04 g Glycine 0,192

-0,35 g SDS 0,1%

-175 µl MEC 0,05%

-350 ml Eau distillée QSP

## RESUME

Dans la région Batna, la stérilité constitue un drame social. Elle est la première cause de mésentente conjugale ou de divorce.

Nous avons inventorié les étiologies de la stérilité des hommes dans cette région afin d'améliorer sa prise en charge et d'en établir une bonne stratégie thérapeutique.

Sur une période de 10 mois (de décembre 2010 à septembre 2011), nous avons effectué dans les Services d'urologie du CHU de Batna et les services d'urologie et Gynéco-obstétrique de la clinique médico-chirurgicale les rosiers Batna, une étude prospective sur 140 hommes stériles. Pour chaque un a bénéficié a des (spermogrammes, spermocytogramme, dosages hormonaux, dosage biochimique, électrophorèse, spermoculture) pour déterminer les causes exactes de la stérilité.

Nous avons constaté 102 cas de stérilité primaire et 38 cas de stérilité secondaire avec une moyenne de 4 ans de vie commune sans conception. L'âge moyen des hommes est de 39,7 ans (extrêmes 18-65 ans) avec une prédominance de la tranche d'âge (46-50). Parmi les hommes les plus touché par l'infertilité ce qui ne possède aucune profession 22,14 % suivie par les fonctionnaires de la santé 9.29%.

132 hommes (94%) ont présenté des anomalies du spermogramme et du spermocytogramme : 27,27% d'asthénospermie, 9.36% d'astheno-terato-oligo-nicrospermie. Les infections génitales constituent les principales causes d'infertilité (34.29 %) des cas, hormonales (6,20%), et mécaniques à type d'obstruction testiculaires et épидидymites (32,33%).

L'analyse biochimique réalisée à travers le dosage des protéines totales du liquide séminal et leur séparation par électrophorèse mono dimensionnelle en gel polyacrylamide en présence du SDS (SDS-PAGE) montre d'une part, que les teneurs moyennes en protéines totales du liquide séminal de certains cas pathologiques en l'occurrence, l'asthénospermie, Polyspermie et l'Asthénotératospermie sont proches des normospermiques. Dans les autres cas pathologiques recensés les concentrations semblent relativement plus faibles notamment dans le cas des hypospermie et des Oligo-astheno-terato-nicrospermies. D'autre part, le control de distribution des protéines non spécifiques montre que tous les cas pathologiques sont caractérisés par l'absence d'au moins une sinon de plusieurs bandes protéiques.

**Mots clés :** Infertilité – Stérilité – Pathologie -spermogramme- spermocytogramme.

## المخلص

في باتنة، العقم هو دراما الاجتماعية. و يعتبر السبب الرئيسي في الخلاف الزوجي والطلاق. حددنا أسباب العقم لدى الرجال بباتنة لتحسين التكفل بالمرضا ووضع إستراتيجية جيدة للعلاجية.

على مدى فترة 10 شهرا (من ديسمبر 2010 إلى سبتمبر 2011)، قمنا في قسم المسالك البولية في مستشفى الجامعي باتنة و قسم المسالك البولية وأمراض النساء والتوليد بالعيادة الخاصة الزهور باتنة، تم دراسة 140 رجلا يعانون من العقم. لكل رجل، تم إجراء سلسلة من التقييمات (spermogramme, spermocytogramme, معايير الهرمونات، التحليل الكيميائي الحيوي، spermoculture) لتحديد الأسباب الحقيقية للعقم.

لقد تم العثور على 102 حالة من حالات العقم الابتدائية و 38 حالات العقم الثانوية وذلك بمعدل أربع سنوات من الزواج دون الحمل. متوسط العمر بالنسبة للرجال هو 39.7 سنة (المدى 18-65 سنة)، مع غلبة الفئة العمرية (46-50) من بين الرجال الأكثر تضررا من العقم الذين لا يعملون وذلك بنسبة 22.14 % يليه العاملون في الصحة بنسبة 9.29 %.

132 من الرجال أي ما يعادل (94 %) من نتائج تحليل السائل المنوي spermogramme بينت 27.27 % asthénospermie، و 9.36 % من astheno-terato-oligo-nicrospermie. الالتهابات التناسلية هي الأسباب الرئيسية للعقم (34.29 %) من الحالات، الاختلال الهرموني (6.20)، ونوع من العرقلة الميكانيكية والتهاب الخصية (32.33 %).

التحليل الكيميائي الحيوي الذي قمنا به عن طريق معايرة البروتين الكلي من السائل المنوي والفصل الكهربائي باستعمال هلام polyacrylamide أحادية البعد في وجود SDS (SDS - PAGE) ويظهر من جهة، أن نسبة البروتينات في السائل المنوي في بعض الحالات المرضية مثل l'asthénospermie, Polyspermie et l'Asthénotératospermie قريبة من الحالة الطبيعية. واما في الحالات المرضية الأخرى التي تم تحديدها تظهر تراكيز منخفضة نسبيا وخصوصا في حالة hypospermie و Oligo-astheno-terato-nicrospermie. من ناحية أخرى تبين أن، التوزيع غير المحددة للبروتينات في أن جميع الحالات المرضية تتسم بعدم وجود نطاق واحد من البروتينات على الأقل إن لم يكن أكثر.

الكلمات المفتاحية: العقم-نقص الخصوبة مرض



## RESUME

Dans la région Batna, la stérilité constitue un drame social. Elle est la première cause de mésentente conjugale ou de divorce.

Nous avons inventorié les étiologies de la stérilité des hommes dans cette région afin d'améliorer sa prise en charge et d'en établir une bonne stratégie thérapeutique.

Sur une période de 10 mois (de décembre 2010 à septembre 2011), nous avons effectué dans les Services d'urologie du CHU de Batna et les services d'urologie et Gynéco-obstétrique de la clinique médico-chirurgicale les rosiers Batna, une étude prospective sur 140 hommes stériles. Pour chaque' un a bénéficié a des (spermogrammes, spermocytogramme, dosages hormonaux, dosage biochimique, électrophorèse, spermoclture) pour déterminer les causes exactes de la stérilité.

Nous avons constaté 102 cas de stérilité primaire et 38 cas de stérilité secondaire avec une moyenne de 4 ans de vie commune sans conception. L'âge moyen des hommes est de 39,7 ans (extrêmes 18-65 ans) avec une prédominance de la tranche d'âge (46-50). Parmi les hommes les plus touché par l'infertilité ce qui ne possède aucune profession 22,14 % suivie par les fonctionnaires de la santé 9.29%.

132 hommes (94%) ont présenté des anomalies du spermogramme et du spermocytogramme : 27,27% d'asthénospermie, 9.36% d'astheno-terato-oligo-nicrospermie. Les infections génitales constituent les principales causes d'infertilité (34.29 %) des cas, hormonales (6,20%), et mécaniques à type d'obstruction testiculaires et épididymites (32,33%).

L'analyse biochimique réalisée à travers le dosage des protéines totales du liquide séminal et leur séparation par électrophorèse mono dimensionnelle en gel polyacrylamide en présence du SDS (SDS-PAGE) montre d'une part, que les teneurs moyennes en protéines totales du liquide séminal de certains cas pathologiques en l'occurrence, l'asthénospermie, Polyspermie et l'Asthénotératospermie sont proches des normospermiques. Dans les autres cas pathologiques recensés les concentrations semblent relativement plus faibles notamment dans le cas des hypospermie et des Oligo-astheno-terato-nicrospermies. D'autre part, le control de distribution des protéines non spécifiques montre que tous les cas pathologiques sont caractérisés par l'absence d'au moins une sinon de plusieurs bandes protéiques.

**Mots clés :** Infertilité – Stérilité – Pathologie -spermogramme- spermocytogramme.

## ABSTRACT

At Banta, infertility is a social drama. It is the leading cause of marital discord and divorce. We have identified the causes of infertility in men Banta to improve its management and to establish a good therapeutic strategy.

Over a period of 10 months (from December 2010 to September 2011), we conducted in the Department of Urology of the University Hospital of Banta and services of Urology and Obstetrics and Gynecology Clinic medical-surgical roses Banta, a study prospective of 140 infertile men. For every man, a series of assessments was performed to determine the exact causes of infertility.

We found 102 cases of primary infertility and 38 cases of secondary infertility with an average of four years of marriage without conception. The average age for men is 39.7 years (range 18-65 years) with a predominance of the age group (46-50). Among the men most affected by infertility which has no occupation 22.14% followed by health officials 9.29%. 132 men (94%) had abnormal semen analysis and spermocytogramme: 27.27% of asthenospermia, 9.36% of astheno-terato-trace nicrospermie. Genital infections are the main causes of infertility (34.29%) cases, hormonal (6.20%), and type of mechanical obstruction and testicular epididymitis (32.33%). Biochemical analysis performed through the measurement of total protein of seminal fluid and electrophoretic separation mono dimensional polyacrylamide gel in the presence of SDS (SDS-PAGE) shows the one hand, the mean levels of total protein of seminal fluid some pathological cases in this case, the asthenospermia, polyspermy and Asthénotératospermie are close normospermiques. In other cases identified pathological concentrations appear relatively low especially in the case of hypospermia and Oligo-astheno-terato-nicrospermie. On the other hand, control the distribution of non-specific proteins show that all the pathological cases are characterized by the absence of at least one if not several protein bands.

**Keywords:** Infertility - Sterility - Pathology – spermogramme- spermocytogramme.